

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI  
EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)  
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**



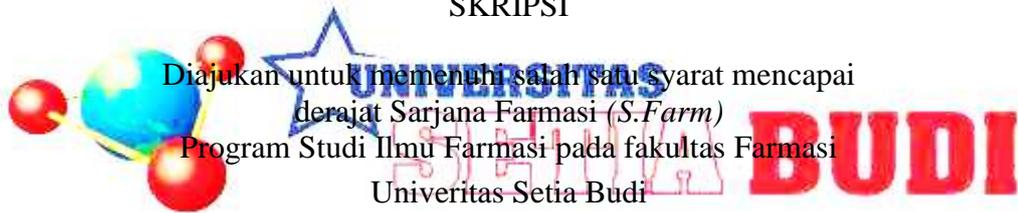
**Oleh:**

**Setianingsih  
19133992A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI  
EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)  
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**

SKRIPSI



Oleh:

**Setianingsih  
19133992A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**PENGESAHAN SKRIPSI**  
**berjudul :**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI ARI  
EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)  
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**

Oleh:

Setianingsih  
19133992 A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada tanggal : 7 April 2017

Mengetahui,  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi



Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.

Pembimbing Pendamping

Dra. Nony Puspawati, M.Si

Penguji :

1. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU
2. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt
3. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt
4. Vivin Nopiyanti, M.Sc., Apt.

1. ....  
2. ....  
3. ....  
4. ....

## PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan disuatu Perguruan Tinggi dan sepanjang sepengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian, karya ilmiah, atau skripsi orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi baik secara akademis maupun ivokum. Demikian pernyataan ini saya buat dengan semestinya.

Surakarta, 5 April 2017



Setianingsih

## PERSEMBAHAN

**“Janganlah hendaknya kamu kuatir tentang apapun juga, tetapi nyatakanlah dalam segala hal keinginanmu kepada Allah dalam doa dan permohonan dengan ucapan syukur (Filipi 4:6)”.**

Skripsi ini saya persembahkan kepada :

1. Tuhan Yesus yang selalu baik dan menyertai setiap langkah dalam kehidupan saya.
2. Hendro Tanodjo dan Purwani, Orang tua tercinta yang merelakan segalanya untuk saya dalam merahi masa depan yang lebih baik.
3. Condro Wicaksono dan Kinasih, Dua adik yang akan lebih sukses dari kakak pertamanya.
4. Dimas Wahyu Wibowo yang selalu memberikan dukungan sekaligus pendengar dalam suka dan duka yang saya alami.
5. Seluruh keluarga yang selalu menyemangati saya untuk menyelesaikan skripsi ini.
6. Seluruh sahabat-sahabat PRKJ dan PPKJ yang selalu mendoakan dan banyak mendukung saya.
7. Teman seperjuangan “*Upak-upuk*” Ipik, Yuli Nihin dan Ica yang sudah membantu dan menyemangati saya dalam melaksanakan penelitian ini.
8. Sahabat terkasih Ryska Cahya dan Sisca Dwi P yang senantiasa memberikan dukungan dari jauh lewat doa.
9. Paduan Suara “*Amarrisa Voice*” yang mengajarkan saya untuk terus belajar dan maju serta pantang menyerah sebelum mencoba.
10. Seluruh teman-teman “Farmasi 5” teman seperjuangan yang saling memberikan dukungan.
11. Seluruh teman-teman “FKK 4” dan S1 farmasi angkatan 2013 yang saling membantu dan berjuang bersama.
12. Almamater, Bangsa, dan Negara yang saya banggakan.

## KATA PENGANTAR

Salam Sejahtera,

Segala puji syukur kehadiran Tuhan Yesus yang telah memberikan penyertaan dan karunia kepada saya, sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**”. Skripsi ini disusun sebagai sebuah proses pembelajaran dan sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan jenjang pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini terdapat hal-hal yang kurang sempurna, sehubungan dengan keterbatasan penulis. Walaupun demikian, penulis telah berusaha semaksimal mungkin agar isi dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Penulis juga menyadari bahwa penulis tidak akan mampu menyelesaikan skripsi ini tanpa bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Dr. Djoni Tarigan, MBA, selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Rina Herowati, S.Si., M.Si., Apt, selaku pembimbing akademik yang senantiasa membimbing dan memberi nasihat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan baik.
4. Vivin Nopiyanti, S.Si., M.Sc., Apt, selaku pembimbing utama yang selalu mendukung, membimbing, menasehati dan memberikan semangat kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dra. Nony Puspawati, M.Si, selaku pembimbing pendamping yang selalu mendukung, membimbing dan mengarahkan penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

6. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU, selaku penguji pertama yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
7. Ismi Rahmawati., M.Si., Apt, selaku penguji dua yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
8. Muhammad Dzakwan, M.Si., Apt, selaku penguji tiga yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
9. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt, selaku penguji proposal dan seminar hasil yang telah bersedia meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan saran serta masukan yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
10. Segenap dosen dan staff laboratorium Universitas Setia Budi yang telah membantu dan membimbing penulis selama melaksanakan penelitian.
11. Teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu, selalu mendukung dan membantu hingga skripsi ini selesai.

Semoga Tuhan memberikan limpahan berkat kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat banyak kekurangan serta kesalahan yang tidak disadari penulis. Penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca, demi kebaikan penulisan selanjutnya dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang kefarmasian.

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI berjudul :.....	ii
PERNYATAAN.....	iii
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xv
ABSTRACT.....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
A. Tanaman Binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis).....	4
1. Klasifikasi.....	4
2. Morfologi Tanaman.....	5
3. Khasiat tanaman .....	5
4. Kandungan kimia .....	6
4.1. Flavonoid.....	6
4.2. Saponin.....	6
4.3. Alkaloid .....	7
4.4. Terpenoid.....	7
B. Simplisia .....	8
1. Pengertian.....	8
2. Pencucian dan pengeringan .....	8
C. Metode Penyarian .....	9
1. Ekstraksi .....	9
2. Maserasi.....	9

3.	Fraksinasi.....	10
4.	Cairan penyari untuk ekstraksi .....	10
4.1.	Etanol.....	11
4.2.	<i>N</i> -heksan .....	11
4.3.	Etil Asetat .....	11
4.4.	Air.....	11
D.	Kromatografi Lapis Tipis .....	12
E.	Sterilisasi .....	13
F.	Kandidiasis .....	13
G.	Jamur .....	14
1.	Definsi jamur .....	14
2.	Morfologi jamur .....	15
3.	Fisiologi jamur .....	16
4.	Sistematika <i>Candida albicans</i> .....	16
5.	Patogenesis .....	18
6.	Identifikasi spesies <i>Candida albicans</i> .....	19
H.	Antijamur.....	20
1.	Pengertian.....	20
2.	Mekanisme kerja antijamur .....	20
2.1.	Kerusakan pada dinding sel.....	20
2.2.	Perubahan permeabilitas sel .....	20
2.3.	Perubahan molekul protein dan asam nukleat.....	21
2.4.	Penghambat kerja enzim .....	21
2.5.	Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.....	21
3.	Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Antijamur .....	21
4.	Cara Penentuan Uji Antijamur .....	22
5.	Uji Aktivitas Antijamur.....	23
5.1.	Metode difusi.....	23
5.2.	Metode dilusi.....	23
I.	Media.....	24
J.	Ketokonazol.....	24
K.	Landasan Teori .....	25
L.	Hipotesis .....	27
BAB III METODE PENELITIAN .....		28
A.	Populasi dan Sampel.....	28
1.	Populasi .....	28
2.	Sampel .....	28
B.	Variabel Penelitian .....	28
1.	Identifikasi variabel utama .....	28
2.	Klasifikasi variabel utama .....	28
3.	Definisi operasional variabel utama .....	29
C.	Bahan dan Alat .....	30
1.	Bahan.....	30
2.	Alat .....	30
D.	Jalannya Penelitian .....	31

1.	Determinasi tanaman.....	31
2.	Pengeringan bahan .....	31
3.	Pembuatan serbuk.....	31
4.	Penetapan kadar air serbuk daun binahong .....	31
5.	Pembuatan ekstrak etanol metode maserasi .....	31
6.	Uji bebas etanol ekstrak daun binahong.....	32
7.	Fraksinasi dari ekstrak etanol daun binahong .....	32
8.	Penetapan persen rendemen .....	32
9.	Identifikasi kandungan kimia pada ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong .....	32
9.1.	Identifikasi flavonoid .....	33
9.2.	Identifikasi alkaloid.....	33
9.3.	Identifikasi saponin .....	33
9.4.	Identifikasi terpenoid.....	33
10.	Sterilisasi .....	33
11.	Identifikasi jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	33
11.1.	Identifikasi makroskopis. ....	33
11.2.	Identifikasi biokimia.....	34
12.	Pembuatan suspensi jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .	34
13.	Identifikasi kandungan senyawa dari fraksi teraktif daun binahong menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).....	35
14.1.	Flavonoid.....	35
14.2.	Alkaloid .....	36
E.	Analisis Data .....	36
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....</b>		<b>41</b>
1.	Hasil determinasi tanaman dan deskripsi tanaman binahong.	41
1.1	Hasil determinasi tanaman binahong .....	41
1.2	Hasil deskripsi tanaman binahong.....	41
2.	Hasil pengumpulan bahan .....	42
2.1	Hasil pemilihan daun binahong. ....	42
2.2	Pembuatan serbuk daun binahong. ....	42
	Hasil perhitungan .....	42
3.	Hasil penetapan kadar air serbuk daun binahong.....	43
4.	Hasil pembuatan ekstrak etanol daun binahong.....	43
5.	Hasil Pengujian bebas alkohol ekstrak etanolik daun binahong .....	44
6.	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong.....	45
7.	Hasil fraksinasi dari ekstrak etanolik daun binahong.....	46
8.	Hasil identifikasi jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	47
9.	Hasil pengujian aktivitas antijamur secara difusi.....	48
10.	Hasil pengujian aktivitas antijamur secara dilusi .....	53
11.	Hasil identifikasi fraksi teraktif secara KLT .....	55
<b>BAB V KESIMPULAN DAN PENUTUP.....</b>		<b>60</b>

A. Kesimpulan.....	60
B. Saran.....	60
DAFTAR PUSTAKA .....	61

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
1. Tanaman binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) .....	4
2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis) .....	37
3. Skema pembuatan suspensi jamur 1:1000 .....	38
4. Skema uji <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 dengan metode difusi .....	39
5. Skema uji <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 dengan metode dilusi.....	40
6. Hasil isolasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 pada media SGA pada suhu 37°C selama 24-48 jam.....	47
7. Identifikasi biokimia terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	47
8. Hasil identifikasi senyawa flavonoid .....	56
9. Hasil identifiaksi senyawa alkaloid.....	57
10. Hasil identifiaksi senyawa saponin .....	58

## DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Pereaksi semprot untuk melihat visualisasi bercak KLT (Sarker <i>et al.</i> 2005). 13	
2. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong..... 42	42
3. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk daun binahong..... 43	43
4. Rendemen ekstrak etanolik daun binahong..... 44	44
5. Hasil pengujian bebas alkohol ekstrak etanolik daun binahong ..... 44	44
6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong ..... 45	45
7. Hasil fraksinasi dari ekstrak etanolik daun binahong ..... 46	46
8. Diameter hambat pada uji antijamur daun binahong terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara difusi..... 49	49
9. Hasil uji dilusi fraksi air dan ketokonazol ..... 54	54

## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Hasil determinasi tanaman binahong .....	66
2. Tanaman dan serbuk daun binahong ( <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis)....	67
3. Serangkaian proses maserasi.....	68
4. Penetapan kadar air serbuk daun binahong dan uji bebas alkohol ekstrak binahong.....	71
5. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong.....	73
6. Fraksinasi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air .....	74
7. Ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air.....	73
8. Hasil identifikasi <i>Candida Albicans</i> ATCC 10231 .....	74
9. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong.....	75
10. Rendemen ekstrak etanolik daun binahong .....	80
11. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi .....	81
12. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, etil asetat, dan air metode difusi .....	82
13. Pembuatan konsentrasi fraksi air metode dilusi.....	83
14. Pembuatan konsentrasi dan dilusi ketokonazol .....	80
15. Hasil uji aktivitas antijamur metode difusi .....	82
16. Hasil uji aktivitas antijamur fraksi air metode dilusi .....	85
17. Hasil uji aktivitas antijamur ketokonazol metode dilusi .....	87
18. Komposisi media.....	89
19. Perhitungan Rf Kromatografi Lapis Tipis .....	91
20. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanolik dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol (+), dan kontrol (-) .....	92

## DAFTAR SINGKATAN

ATCC	American Type Culture Collection
C14A	14 alpha-dementilasi
CO <sub>2</sub>	Karbon dioksida
DNA	Deoxyribo Nucleic Acid
FeCl <sub>3</sub>	Ferri Klorida
FBS	Fetal Bovine Serum
HCl	Asam Hidroklorida
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Asam Sulfat
H <sub>2</sub> O	Dihidrogen oksida
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
KHM	Konsentrasi Hambat Minimum
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
Mg	Magnesium
MIC	Minimum Inhibitory Concentration
NaCl	Natrium Klorida
NaOH	Natrium Hidroksida
RNA	Ribonucleic acid
SGA	Sabouraud Glucose Agar
SGC	Sabouraud Glucose Cair
TLC	Thin Layer Chromatography
UV	Ultraviolet

## INTISARI

**SETIANINGSIH, 2017, UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI N-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) digunakan sebagai obat tradisional diantaranya keputihan. Daun binahong mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanolik daun binahong terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Serbuk daun binahong diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%, kemudian difraksinasi menggunakan pelarut fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang berbeda polaritasnya. Uji aktivitas antijamur dilakukan menggunakan metode difusi dan dilusi. Konsentrasi yang digunakan dalam metode difusi 50%, 25% dan 12,5% bertujuan untuk mengetahui fraksi teraktif. Fraksi teraktif kemudian dilakukan uji dilusi untuk mengetahui KBM menggunakan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,2%, 0,1%. Analisis statistik menggunakan ANOVA *oneway* guna mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa semua fraksi dan ekstrak mempunyai aktivitas antijamur. Fraksi air merupakan fraksi teraktif dengan diameter hambat 19,43 mm pada konsentrasi 50%, 15,37 mm konsentrasi 25% dan 12,47 mm konsentrasi 12,5%. Hasil uji dilusi fraksi air menunjukkan aktivitas antijamur dengan KBM 12,5%. Analisis kandungan golongan senyawa fraksi air secara KLT menunjukkan adanya flavonoid, alkaloid dan saponin.

Kata kunci : Daun binahong, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, *Candida albicans*

## ABSTRACT

**SETIANINGSIH, 2017, ANTIFUNGAL ACTIVITY TEST OF FRACTION N-HEXANE, ETHYL ACETATE AND WATER OF METHANOL EXTRACT FROM BINAHONG (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) LEAVES TO *Candida albicans* ATCC 10231. THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITI, SURAKARTA.**

Binahong leaves (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) is used as a traditional medicine among flour albus. Binahong leaves contains flavonoid, alkaloid, saponin and terpenoid. This study aims to determine the antifungal activity of the fraction of n-hexane, ethyl acetate and water from binahong leaves etanolic extract against *Candida albicans* ATCC 10231.

Binahong leaves powder was extracted by maserasi method by etanolic 70%, and then it was fractionated by solvent *n*-hexane, ethyl acetate and water which have different polarity. Antifungal activity test was performed using diffusion and dilution methods. The concentration used in the diffusion method was 50%, 25% and 12,5% aimed to determine the most active fraction. The most active fraction is continued dilution test to determine the MBC with concentration 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,2%, 0,1%. Statistical analysis using oneway ANOVA to determine whether there is a significant difference between the test preparation.

The results shows that all the fractions and extracts has antifungal activity. Water fraction is most active fraction with 19,43 mm concentration of 50%, 15,37 mm concentration of 25% and 12,47 mm concentration of 12,5%. Dilution test results water fraction showed antifungal activity with MBC 12,5%. Analysis contents of the compounds in the ethyl acetate fraction use TLC showed flavonoid, alkaloid and saponin.

Keywords : Binahong leaves, fraction of n-hexane, ethyl acetate fraction, fraction of water, *Candida albicans*.

# **BAB I**

## **PENDAHULUAN**

### **A. Latar Belakang**

*Candida albicans* merupakan jamur flora normal yang terdapat dalam saluran pencernaan, selaput mukosa, saluran pernafasan, vagina, uretra, kulit, dibawah jari-jari kuku, tangan, dan kaki (Simatupang 2009). *Candida albicans* adalah salah satu penyebab infeksi jamur uniseluler. Kondisi tertentu *Candida albicans* dapat tumbuh berlebih dan melakukan invasi sehingga menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalan tubuh menurun (Pratiwi 2008). Infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans* disebut kandidiasis, salah satunya adalah kandidiasis vulvovaginitis. Prevalensi terjadinya kandidiasis vulvovaginitis sebesar 70-90%, pada wanita normal infeksi ini juga sering dijumpai yaitu 50-75% (Suyoso 2015). Angka kejadian kandidiasis vulvovaginitis pada wanita meningkat secara signifikan pada usia setelah 20 tahun dan mencapai puncaknya pada usia 30-40 tahun (Anindita 2012). Tingginya angka kejadian kandidiasis ini akan menjadi permasalahan baru dalam dunia kesehatan, sehingga mendorong para ilmuwan melakukan penelitian dan pengembangan agen anti-infeksi baru untuk menghasilkan obat-obat baru.

Indonesia dikenal lebih dari 20.000 spesies tanaman obat, sementara 1.000 spesies tanaman obat saja yang sudah didata dan baru sekitar 300 spesies yang sudah dimanfaatkan untuk pengobatan (Hariana 2008). Penelitian yang telah dilakukan terhadap tanaman obat sangat membantu dalam pemilihan bahan baku obat tradisional. Pengalaman empiris ditunjang dengan penelitian semakin memberikan keyakinan akan khasiat dan keamanan obat tradisional (Lusia 2006). Obat tradisional dipercaya memiliki efek samping yang lebih ringan dibandingkan obat sintetik (Hambali *et al.* 2005).

Tanaman obat tradisional yang digunakan secara empiris oleh masyarakat adalah tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Penelitian sebelumnya disebutkan bahwa ekstrak *n*-heksan dan etil asetat mengandung terpenoid sedangkan ekstrak etanol 70% daun binahong mengandung saponin,

flavonoid dan alkaloid (Aini 2012). Hasil penelitian sebelumnya disebutkan bahwa ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol dari daun binahong dapat membunuh *Candida albicans* sampai konsentrasi 8%. Hasil uji tabung dan uji kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa daun binahong mengandung saponin, flavonoid, alkaloid dan terpenoid (Nita 2009). Dyah (2012) mengemukakan bahwa ekstrak etanol 70% daun binahong tidak memiliki daya hambat terhadap jamur *Fusarium Oxysporum*, hal ini dikarenakan jumlah kandungan saponinnya tidak terlalu besar.

Latar belakang tersebut menjadi dasar perlu dilakukan penelitian lebih lanjut ke tahap fraksinasi. Fraksinasi bertujuan untuk memisahkan golongan utama yang lain berdasarkan sifat kepolarannya. Metode penyarian yang digunakan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70%. Etanol 70% digunakan sebagai pelarut karena tidak menyebabkan pembengkakan membran sel dan memperbaiki stabilitas bahan obat terlarut. Metode maserasi dipilih karena tidak memakai pemanasan serta merupakan ekstraksi yang sederhana. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut dengan polaritas yang berbeda-beda, pelarut yang digunakan *n*-heksan, etil asetat dan air.

Penetapan hasil aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dilakukan dengan menggunakan cakram, sumuran atau silinder tak beralas. Metode dilusi berguna untuk mengetahui mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Berdasarkan uraian di atas maka dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong terhadap bakteri *Candida albicans* ATCC 10231.

## **B. Rumusan Masalah**

Permasalahan dalam penelitian ini adalah:

Pertama, apakah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Kedua, diantara fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) manakah yang paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

Ketiga, berapa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan yang diharapkan dari penelitian ini adalah pertama, untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, untuk mengetahui fraksi yang paling aktif terhadap aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, untuk mengetahui berapa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi dan wawasan, kepada seluruh lapisan masyarakat tentang aktivitas daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) sebagai alternatif pengobatan antijamur dan memberikan sumbangan informasi pada pengembangan dan penelitian obat khususnya obat tradisional untuk pengobatan berbagai penyakit terutama sebagai antijamur *Candida albicans* ATCC 10231.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### A. Tanaman Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)

#### 1. Klasifikasi

Berdasarkan penggolongan dan tata nama tanaman binahong termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Subkingdom	: Tracheobionta
Superdivisi	: Spermatophyta
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Subkelas	: Hamamelidae
Ordo	: Caryophyllales
Famili	: <i>Basellaceae</i>
Genus	: <i>Anredera</i>
Spesies	: <i>Anredera cordifolia</i> (Ten.) Steenis (Mus 2009).



**Gambar 1. Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)**

Tanaman binahong memiliki nama lain: gendola (Indonesia), *dheng san chi* (Tiongkok), *heartleaf madeiravine* atau *madeira vine* (Inggris), *oussingaultia gracilis*, *miers boussingaultia cordifolia*, dan *boussingaultia basselloides* (Manoi 2009).

## **2. Morfologi Tanaman**

Tanaman binahong merupakan tumbuhan menjalar, berumur panjang perennial, panjang dari tanaman ini mencapai lima meter. Akar tanaman ini berbentuk rimpang, berdaging lunak. Batang lunak, silindris, saling membelit, berwarna merah, bagian dalam solid, permukaan halus, kadang membentuk semacam umbi yang melekat diketiak daun dengan bentuk tak beraturan dan bertekstur kasar. Tanaman binahong berupa daun tunggal, bertangkai sangat pendek (sessile), tersusun berseling, berwarna hijau, panjang lima sampai sepuluh centimeter, lebar tiga sampai tujuh centimeter, helaian daun tipis lemas, ujung runcing, pangkal bertengkuk (emarginatus), tepi rata, dan permukaan licin.

Bunga dari tanaman binahong berupa bunga majemuk berbentuk tandan, bertangkai banyak, muncul di ketiak daun, mahkota berwarna krem keputihan berjumlah lima helai tidak berlekatan, panjang helai mahkota satu centimeter, berbau harum. Binahong merupakan perbanyak generatif (biji), namun lebih sering berkembang atau dikembangbiakan secara vegetatif melalui akar rimpangnya (Mus 2009).

## **3. Khasiat tanaman**

Manfaat tanaman ini sangat besar dalam dunia pengobatan, secara empiris binahong dapat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dalam pengobatan, bagian tanaman yang digunakan dapat berasal dari akar, batang, daun, dan bunga maupun umbi yang menempel pada ketiak daun. Tanaman ini dikenal dengan sebutan *Madeira Vine* dipercaya memiliki kandungan antioksidan tinggi dan antivirus. Tanaman ini masih diteliti meski dalam lingkup terbatas. Percobaan pada tikus yang disuntik dengan bahan ekstrak dari binahong dapat meningkatkan daya tahan tubuh, peningkatan agresivitas tikus dan tidak mudah sakit. Beberapa penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke, wasir, rematik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka kulit, sembelit, sesak nafas, sariawan berat, keputihan, sakit perut, menurunkan panas, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas, dan daya tahan tubuh (Manoi 2009).

Menurut Tshikalange *et al.* (2005) bahwa ekstrak air daun binahong dengan dosis 50 mg/ml memiliki daya hambat terhadap bakteri Gram positif (*B.pumilis*, *B.subtilis*, *S.aureus*) serta pada bakteri Gram negatif (*Enterobacter Cloacea*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Serratia marcescens*, dan *Enterobacter aerogenes*) pada dosis 60 mg/ml, tetapi tidak pada bakteri *B.sereus*.

#### **4. Kandungan kimia**

Skrining fitokimia terhadap daun binahong telah dilaporkan oleh Astuti (2012) bahwa pada tanaman binahong memiliki senyawa fenol, flavonoid, alkaloid dan terpenoid. Jurnal penelitian sebelumnya disebutkan bahwa ekstrak *n*-heksan, etil asetat mengandung terpenoid sedangkan ekstrak etanol 70% daun binahong mengandung saponin, flavonoid, dan alkaloid (Aini 2012). Ekstrak petroleum eter, etil asetat, dan etanol 70% rhizoma batang binahong mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin (Setiaji 2009).

**4.1. Flavonoid.** Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon. Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>. Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub> (fenil propana) yang bersumber dari asam sikimat (via fenilalanin) unit C<sub>6</sub> yang diturunkan dari jalur poliketida. Flavonoid pada tumbuhan terikat pada gula sebagai glikosida dan aglikon flavonoid (Harborne 2007). Senyawa flavonoid merupakan golongan fenol, diduga mekanisme kerjanya dengan mendenaturasikan protein sel dan merusak membran sel mikroorganisme. Flavonoid akan mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga melisiskan dinding sel jamur karena flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran sel. Pembentukan kompleks menyebabkan rusaknya membran sel karena terjadi perubahan permeabilitas sel dan hilangnya kandungan isi sel di dalam sitoplasma yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Anggara *et al.* 2014).

**4.2. Saponin.** Saponin dibedakan sebagai saponin terpenoid dan saponin steroid. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat, menimbulkan busa jika dikocok dalam air. Saponin dikenal sebagai senyawa *non-volatile* dan sangat larut air dingin maupun panas (Chapagain 2005 & L. Heng 2005). Beberapa

saponin bekerja sebagai antimikroba dan saponin tertentu menjadi penting karena dapat diperoleh dari beberapa tumbuhan dengan hasil yang baik dan digunakan dalam bidang kesehatan. Saponin merupakan glikosida yang larut dalam air dan etanol, tetapi tidak larut dalam eter (Robinson 1995). Saponin memiliki aktivitas antijamur dengan cara mengganggu permeabilitas membran terluar jamur (Kim S & Sudbery P 2011).

**4.3. Alkaloid.** Alkaloid adalah zat yang mengandung nitrogen biasanya dalam bentuk heterosiklik dalam ikatan primer, sekunder, tersier atau kuarterner bersifat basa, mempunyai khasiat fisiologi tertentu yang jelas, umumnya berasa pahit. Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel mikroorganisme, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino, sehingga akan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga mendorong terjadinya lisis sel mikroba yang akan menyebabkan kematian sel pada mikroba (Nimah *et al.* 2012).

**4.4. Terpenoid.** Terpenoid adalah semua senyawa yang terbentuk dari satuan isoterpen. Senyawa terpenoid merupakan senyawa hidrokarbon yang dibedakan berdasarkan jumlah satuan isoprena penyusunnya, group metil, dan atom oksigen yang diikatnya (Robinson 1995). Terpenoid tumbuhan mempunyai manfaat penting sebagai obat tradisional, antibakteri, antijamur, dan gangguan kesehatan (Thomson 2008). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel dan menyebabkan membran atau dinding sel tidak terbentuk sempurna (Ajizah 2004). Adanya sifat hidrofobik atau lipofilik pada senyawa terpenoid kemungkinan menyebabkan kerusakan sitoplasmik membran, koagulasi sel, dan terjadinya gangguan proton pada sel jamur (Natta *et al.* 2008).

## **B. Simplisia**

### **1. Pengertian**

Simplisia adalah bahan alamiah yang digunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga, kecuali dinyatakan lain simplisia berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia dapat dibagi menjadi tiga golongan yaitu simplisia nabati, hewani, dan pelikan atau mineral. Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tumbuhan utuh, bagian tumbuhan atau eksudat tumbuhan. Eksudat tumbuhan ialah isi sel yang secara spontan keluar dari tumbuhan atau isi sel yang dengan cara tertentu dikeluarkan selnya, atau senyawa nabati lainnya yang dengan cara tertentu dipisahkan dari tumbuhannya dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral adalah simplisia yang belum berupa zat kimia murni (Depkes 2000).

### **2. Pencucian dan pengeringan**

Pencucian dilakukan untuk memisahkan kotoran atau bahan asing lainnya dari bahan simplisia. Pencucian dilakukan dengan air bersih. Bahan simplisia yang mengandung zat yang mudah larut air, pencucian agar dilakukan dalam waktu yang secepat mungkin (Prastowo 2013).

Proses pengeringan simplisia terutama bertujuan untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Proses pengeringan ini juga menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan & Mulyani 2004). Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan menggunakan suatu alat pengering dan juga dapat dengan pengeringan teduh atau pengeringan di bawah sinar matahari. Pengeringan ditempat teduh pada umumnya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang bersifat termolabil. Pengeringan di bawah sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena mudah dan murah (Depkes 2008).

## **C. Metode Penyarian**

### **1. Ekstraksi**

Ekstraksi merupakan pemisahan secara kimia dan fisika suatu bahan padat atau bahan cair dari suatu padatan tanaman obat (Depkes 2000). Pemilihan pelarut sangat penting dalam proses ekstraksi sehingga bahan berkhasiat yang akan ditarik secara sempurna (Farouq 2003). Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi dua macam yaitu cara dingin dan panas. Cara dingin terdiri dari maserasi dan perkolasi sedangkan cara panas terdiri dari refluks, soxhletasi, digesti, dan infus (Depkes 2000).

Ekstrak tumbuhan obat yang dibuat dari simplisia nabati dapat dipandang sebagai bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Ekstrak sebagai bahan awal dianalogkan dengan komoditi bahan baku obat yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi. Ekstrak sebagai bahan antara berarti masih menjadi bahan yang dapat diproses lagi menjadi fraksi-fraksi, isolat senyawa tunggal dan sebagai campuran dengan ekstrak lain. Ekstrak sebagai produk jadi berarti ekstrak yang berada dalam sediaan obat jadi siap digunakan oleh penderita (Depkes 2000).

### **2. Maserasi**

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Proses maserasi diawali dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari sampai meresap dan pelunakan susunan sel sehingga zat-zat akan terlarut, selanjutnya rendaman tersebut disimpan agar terlindungi dari cahaya matahari langsung (mencegah terjadinya reaksi katalis akibat cahaya dan terjadinya perubahan warna) kemudian dikocok kembali (Voight 1994). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif, dimana zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam dan diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan yang diluar dan didalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Maserasi merupakan proses paling tepat dimana serbuk simplisia yang

sudah halus memungkinkan untuk direndam dari cairan penyari sampai meresap dan melunakkan susunan sel, sehingga zat-zat yang mudah larut akan melarut. Maserasi serbuk simplisia yang akan diekstraksi biasanya ditempatkan pada wadah atau bejana yang bermulut lebar, bersama dengan cairan penyari yang telah ditetapkan, bejana ditutup rapat dan isinya dikocok berulang-ulang. Pengocokan memungkinkan pelarut segera mengalir berulang-ulang, masuk keseluruhan permukaan dari serbuk simplisia yang sudah halus (Ansel 1989).

Maserasi dilakukan dengan cara sepuluh bagian simplisia dengan derajat halus yang cocok dimasukkan ke dalam bejana. Simplisia ditambahkan dengan 75 bagian penyari. Maserasi dilakukan selama lima hari, terlindung dari cahaya dan sesekali dikocok. Setelah lima hari disaring, ampas diperas. Ampas ditambah cairan penyari secukupnya diaduk dan disaring, sehingga diperoleh seluruh sari sebanyak 100 bagian (Depkes 1986).

### **3. Fraksinasi**

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama lainnya berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda-beda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar dan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harborne 2007).

### **4. Cairan penyari untuk ekstraksi**

Pemilihan larutan penyari juga harus memenuhi kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara kimia dan fisika, beraksi netral, selektif yaitu menarik zat berkhasiat, tidak mempengaruhi zat berkhasiat. Cairan penyari atau pelarut ada tiga macam yaitu pelarut polar, semi polar dan nonpolar, contoh cairan penyari adalah etanol, *n*-heksan, etil asetat dan air (Depkes 2005).

Penyarian ekstrak daun binahong dalam penelitian ini menggunakan metode ekstraksi dengan pelarut etanol 70% dan difraksinasi dengan *n*-heksan, etil asetat dan air. Penggunaan pelarut yang berbeda polaritasnya disebabkan kandungan kimia senyawa daun binahong sehingga dilakukan fraksinasi akan diketahui fraksi yang paling efektif terhadap jamur *Candida albicans*.

**4.1. Etanol.** Etanol adalah pelarut serbaguna untuk ekstraksi pendahuluan. Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, pelarut ini tidak menyebabkan pembengkakan membran sel, memperbaiki stabilitas bahan obat pelarut. Keuntungan lainnya adalah sifat untuk mengendapkan bahan dan menghambat kerja enzim. Etanol 70% biasanya menghasilkan suatu bagan aktif yang optimal, dimana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil larut dalam cairan pengestraksinya (Voight 1994). Etanol dapat melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kumarin, flavonoid, antrakuinon, steroid, dan klorofil. Etanol dipertimbangkan sebagai larutan penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman kulit tidak dapat tumbuh dalam etanol 20% ke atas, tidak beracun, netral, absorbsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada skala perbandingan, panas diperlukan lebih sedikit (Depkes 2005).

**4.2. *N*-heksan.** Pelarut *n*-heksan adalah pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar, dan mempunyai bau seperti eter atau petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksan yaitu senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid, triterpenoid, sterol, lemak, asam lemak, alkaloid, karotenoid, klorofil, dan resin (Depkes 2005).

**4.3. Etil Asetat.** Pelarut etil asetat adalah pelarut yang bersifat semi polar, mudah terbakar dan mudah menguap sehingga penyimpanannya di dalam wadah tertutup rapat, dan terhindar dari panas (Depkes 1979). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah golongan alkaloid, flavonoid dan polifenol (Harborne 2007).

**4.4. Air.** Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Pemekatan yang dapat dilakukan dengan diuapkan dengan tangas air menggunakan penangas air. Pelarut air dipilih karena air dapat melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lender, enzim, lilin, lemak, pektin, dan zat warna asam organik. Kekurangan menggunakan air adalah zat aktif yang tersari juga zat lain yang tidak diperlukan. Air juga merupakan tempat tumbuh bagi kuman, kapang dan khamir (Depkes 2005).

#### **D. Kromatografi Lapis Tipis**

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan untuk pemisahan senyawa secara cepat dengan menggunakan zat penjerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca (Depkes 1979). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan cara pemisahan senyawa dari campuran senyawa lain, agar menjadi senyawa murninya. Kelebihan KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Keserbagunaan KLT dikarenakan bahwa selain selulosa, sejumlah penyerap lain dapat disaputkan dengan pelat kaca atau penyangga lain. Meskipun silika gel yang paling banyak digunakan, kecepatan KLT dipengaruhi oleh sifat penyerap yang lebih padat bila disaputkan pada pelat. Kekurangan KLT adalah kerja penyaputan pelat kaca dengan penyerap, bubuk silika gel yang harus dikocok kuat-kuat tiap jangka waktu tertentu, pengeringan pada suhu kamar dan pengaktifan dengan pemanasan pada suhu 100-110°C selama 30 menit (Harborne 2007).

Fase diam disebut juga lapisan penjerap dibuat salah satu penjerap yang khusus digunakan untuk KLT. Panjang fase diam tersebut 200 mm dengan lebar 200 mm atau 100 mm, untuk analisis tebalnya biasanya 0,2 mm. Penjerap dan silika gel mempunyai kadar air yang berpengaruh terhadap daya pemisahannya, untuk pemisahan harus digunakan fase diam yang aktif dan fase gerak yang kurang polar. Fase gerak terdiri satu atau beberapa pelarut yang bergerak di dalam fase diam. Semakin polar suatu pelarut maka efek elusinya semakin kuat (Boyer 2009). Pemilihan sistem pelarut yang dipakai didasarkan atas prinsip *like dissolves like*, yang artinya untuk memisahkan sampel yang bersifat nonpolar digunakan sistem pelarut yang bersifat nonpolar juga. Fase gerak merupakan medium yang terdiri dari satu atau lebih pelarut. Fase gerak yang paling sederhana adalah campuran 2 pelarut organik karena daya elusi campuran kedua pelarut ini dapat mudah diatur sedemikian rupa sehingga pemisahan dapat terjadi secara optimal (Rohman 2007).

**Tabel 1. Pereaksi semprot untuk melihat visualisasi bercak KLT (Sarker *et al.* 2005)**

Pereaksi semprot	Senyawa
<i>Vanilin</i> atau <i>Sulfuric Phosphomolybdic acid</i> (PMA)	Terpen memberi warna merah dan biru Terpen memberi spot warna biru pada latar belakang kuning
<i>Ammonium molybdate</i> (VI) <i>Antimony</i> (III) <i>chloride</i>	Diterpen memberi warna biru Diterpen dan triterpen memberi warna merah kebiruan
<i>Tin</i> (IV) <i>chloride</i> reagen <i>Dragendorffs</i>	Flavonoid dan terpen Alkaloid memberi warna <i>orange</i> gelap kemerahan
2,4 Dinitro- <i>phenyl-hydrazine</i>	Aldehid dan keton dengan warna kuning kemerahan
<i>Perchloric acid</i> reagen <i>Borntrager</i> <i>Ninhydrin</i>	Steroid dan triterpen Kumarin dan antrakuinon Asam amino, amina, dan alkaloid

### E. Sterilisasi

Sterilisasi adalah tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Alat dan bahan dikatakan steril apabila terbebas dari mikroba. Metode yang digunakan untuk mendapatkan sterilitas pada sediaan farmasi sangat ditentukan oleh sifat sediaan dan zat aktif kandungannya. Metode sterilisasi ada tiga macam yaitu sterilisasi secara fisik, sterilisasi mekanik dan sterilisasi kimiawi. Cara sterilisasi yang umum dilakukan antara lain sterilitas secara fisik yaitu pemanasan, penggunaan sinar X dan penggunaan sinar UV. Sterilitas pada kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin, dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter. Mensterilkan alat-alat praktikum sangat diperlukan pada penelitian ini, untuk menghindari adanya kontaminan oleh mikroba yang lain, selain steril aseptis praktikan juga berpengaruh. Cara sterilisasi yang dipilih disesuaikan dengan bahan dan sifat dari alat-alat yang akan digunakan, sehingga tidak mengakibatkan kerusakan (Suriawiria 2005).

### F. Kandidiasis

Kandidiasis ialah penyakit jamur yang mengenai kulit, kuku, selaput lendir dan alat dalam dan disebabkan oleh banyak spesies *Candida*. Penyebab penyakit ini ialah *Candida* yaitu khamir yang sering ditemukan pada manusia dan binatang

sebagai saprofit. Pada manusia, *Candida* sering ditemukan dalam mulut orang sehat, tinja, kulit dan di bawah kuku. Pada wanita *Candida* sering menimbulkan vaginitis dengan gejala utama fluor albus yang sering disertai rasa gatal (Srisasi *et al.* 2000).

Kandidiasis vagina atau vulvovaginitis dapat juga tanpa gatal, tetapi keluhan yang dikemukakan berupa bertambahnya keputihan bila lelah atau sebelum datang haid. Infeksi ini terjadi sebagai akibat tercemar setelah defekasi, tercemar dari kuku atau dari yang digunakan untuk membersihkan diri. Vulvovaginitis juga merupakan salah satu penyakit akibat hubungan seksual (*sexually transmitted disease*) (Srisasi *et al.* 2000). Kelainan khas pada vulvovaginitis yaitu bercak-bercak putih kekuningan. Fluor albus pada kandidiasis vagina berwarna kekuningan. Tanda yang khas ialah disertai gumpalan-gumpalan sebagai kepala susu berwarna putih kekuningan. Gumpalan tersebut berasal dari massa yang terlepas dari dinding vulva atau vagina (Kuswadji *et al.* 1999).

## G. Jamur

### 1. Definsi jamur

Jamur adalah suatu organisme eukariotik yang mempunyai ciri-ciri yang spesifik yaitu mempunyai inti, tidak berklorofil dan beberapa jamur mempunyai bagian-bagian tubuh berbentuk filamen-filamen dan sebagian lagi bersifat uniseluler. Jamur mendekomposisi sisa-sisa tumbuhan dan hewan yang kompleks dan menguraikannya menjadi zat yang lebih sederhana. Beberapa jamur juga bersifat menguntungkan karena merupakan bahan makanan, misalnya cendawan (*mushroom*), dan beberapa jamur dapat bersimbiosis dengan akar. Simbosis ini dikenal dengan nama mikoriza. Beberapa jamur dapat bersifat parasit dengan memperoleh senyawa organik dari organisme hidup (Pratiwi 2008).

Menurut Fardiaz (1992) jamur mempunyai ciri-ciri spesifik yaitu mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil sehingga tidak dapat melakukan fotosintesis, dapat berkembang biak secara seksual maupun aseksual, beberapa mempunyai bagian-bagian tubuh berbentuk filamen dengan dinding sel yang mengandung selulosa atau khitin atau keduanya.

Penyakit yang disebabkan oleh jamur disebut mikosis. Mikosis yang mengenai permukaan badan yaitu kulit, rambut, dan kuku disebut mikosis superfisialis. Mikosis yang mengenai alat dalam disebut mikosis profunda atau mikosis sistemik (Srisasi *et al* 2000).

## **2. Morfologi jamur**

Jamur terdiri atas kapang dan khamir. Kapang adalah jamur yang mempunyai filamen. Talus suatu kapang pada dasarnya terdiri atas miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan beberapa filamen yang dinamakan hifa. Setiap hifa lebarnya 5 sampai 10  $\mu\text{m}$ , dibandingkan dengan sel bakteri yang biasanya berdiameter 1  $\mu\text{m}$ . Khamir merupakan jamur sel tunggal tanpa filamen. Khamir sangat beragam ukurannya berkisar antara 1  $\mu\text{m}$  lebarnya dan panjangnya dari 5 sampai 30  $\mu\text{m}$  atau lebih. Biasanya berbentuk telur, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk khas, namun sekalipun dalam biakan murni terdapat variasi yang luas dalam hal ukuran dan bentuk sel-sel individu, tergantung kepada umur dan lingkungannya (Koes 2014).

Khamir yang membentuk tunas memanjang yang bertunas lagi pada ujungnya secara terus-menerus, sehingga terbentuk seperti hifa dengan penyempitan pada sekat-sekat disebut hifa semu. Hifa dapat bersifat sebagai hifa vegetatif yaitu berfungsi mengambil makanan untuk pertumbuhan, hifa reproduktif yaitu yang membentuk spora, dan hifa udara yang berfungsi mengambil oksigen. Hifa dapat berwarna atau tidak berwarna dan jernih. Spora dapat dibentuk secara aseksual atau seksual (Srisasi *et al.* 2000).

Spora aseksual disebut talospora (*thallospora*), yang termasuk talospora adalah blastospora yaitu spora yang berbentuk tunas pada permukaan sel, ujung hifa atau pada sekat atau septum hifa semu. Artospora yaitu spora yang dibentuk langsung dari hifa dengan banyak septum yang kemudian mengadakan fragmentasi sehingga hifa tersebut menjadi banyak artrospora yang ber dinding tebal. Klamidospora adalah spora yang dibentuk pada hifa di ujung, di tengah atau yang menonjol ke lateral, dan disebut klamidospora terminal, interkaler dan lateral. Aleuriospora ini uniseluler dan kecil disebut mikrokonidia, sementara

makrokonidia berukuran besar atau panjang. Sporangiospora yaitu spora yang dibentuk di dalam ujung hifa yang menggelembung disebut sporangium. Spora seksual dibentuk oleh dua sel atau hifa, yang termasuk golongan spora seksual ialah zigospora, oospora, askospora, dan basidiospora (Srisasi *et al.* 2000).

### 3. Fisiologi jamur

Jamur memerlukan kondisi kelembaban yang tinggi, persediaan bahan organik, dan oksigen untuk pertumbuhan. Lingkungan yang hangat dan lembab mempercepat pertumbuhan jamur. Jamur tumbuh dengan baik pada kondisi lingkungan yang mengandung banyak gula dengan tekanan osmotik tinggi dan kondisi asam yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhan bakteri. Khamir bersifat fakultatif artinya khamir dapat hidup dalam keadaan aerob ataupun anaerob sedangkan kapang merupakan organisme aerob sejati. Beberapa jamur terutama jamur patogen memiliki dua bentuk pertumbuhan sebagai kapang ataupun khamir, sifat dimorfisme ini tergantung pada temperatur. Temperatur 37°C merupakan fase khamir dan temperatur 24-28°C merupakan fase kapang (Pratiwi 2008).

### 4. Sistematika *Candida albicans*

Menurut Jawetz *et al* (2007) *Candida albicans* diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Pyhlum	: Ascomycota
Class	: Ascomycetes
Bangsa	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Cryptococcaeca
Genus	: Candida
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

*Candida albicans* adalah anggota flora normal selaput lendir saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan genetalia wanita. *Candida albicans* menyebabkan penyakit sistemik pada penderita yang lemah atau kekebalan tertekan. *Candida albicans* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah,

endokardiatis atau infeksi pada mata dan organ-organ lain bila masuk ke dalam intravena (Jawetz 2012).

Biakan atau jaringan spesies *Candida* tumbuh sebagai sel ragi tunas, berbentuk oval, berukuran 3-6  $\mu\text{m}$  dan membentuk pseudohifa ketika tunas terus tumbuh tetapi gagal lepas. *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat lonjong di sekitar septum. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah 8-12  $\mu$ . Medium SGA pada 37°C dan diinkubasi selama 24-48 jam spesies *Candida* menghasilkan koloni krem dengan bau seperti ragi. Uji morfologi sederhana yang dapat membedakan *Candida albicans* dari spesies *Candida* lain adalah setelah inkubasi dalam serum selama sekitar 90 menit pada suhu 37°C selama 24-48 jam sel ragi *Candida albicans* akan mulai membentuk hifa sejati atau tubulus germinal dan pada medium yang kurang nutrisinya, *Candida albicans* menghasilkan klamidospora sferis yang besar (Jawetz 2007).

*Candida albicans* dapat mudah tumbuh di dalam media SGA pada 37°C dan diinkubasi selama 24-48 jam dengan membentuk koloni ragi dengan sifat-sifat yaitu: menonjol dari permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, berwarna putih kekuning-kuningan dan berbau ragi (Sudewo 2005).

Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O dalam suasana aerob sedangkan dalam suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat dan etanol dan CO<sub>2</sub>. Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Proses asimilasi, karbohidrat dipakai oleh *Candida albicans* sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel. *Candida albicans* dapat dibedakan dari spesies lain berdasarkan kemampuannya melakukan proses fermentasi dan asimilasi. Proses asimilasi dan fermentasi

mempunyai kemampuan untuk menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon. Proses fermentasi, jamur ini menunjukkan hasil terbentuknya gas dan asam pada glukosa dan maltosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak terbentuknya asam dan gas pada laktosa. Proses asimilasi menunjukkan adanya pertumbuhan pada glukosa, maltosa dan sukrosa namun tidak menunjukkan pertumbuhan pada laktosa (Tjampakasari 2006).

## 5. Patogenesis

*Candida albicans* secara normal hidup pada manusia sehat namun dapat bersifat patogen jika keseimbangannya terganggu. Infeksi oleh jamur ini disebut kandidiasis. Penyakit ini terdapat di seluruh dunia, menyerang semua umur baik laki-laki maupun perempuan. Jamur ini tidak dapat tumbuh di alam bebas, tetapi dapat tumbuh pada berbagai alat tubuh manusia, misalnya rongga usus, vaginal, kulit, kuku, bronkus, dan paru (Wanenoer 2010). Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel hospes menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Interaksi antara mikroorganisme dan sel hospes diperantarai oleh komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Manna dan manoprotein merupakan molekul-molekul *Candida albicans* yang mempunyai aktivitas adhesif. Khitin merupakan komponen kecil yang terdapat pada dinding sel *Candida albicans* juga berperan dalam aktivitas adhesi. Setelah terjadi proses penempelan, *Candida albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa dalam hal ini enzim yang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase.

*Candida albicans* berada dalam tubuh manusia sebagai saproba dan infeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi baik endogen maupun eksogen. Faktor endogen meliputi perubahan fisiologi, umur, dan imunologi. Perubahan fisiologi seperti kehamilan (karena perubahan pH dalam vagina), kegemukan (kebanyakan keringat), diabetes melitus dan penggunaan obat tertentu (antibiotik, kortikosteroid dan sitostatik). Umur contohnya orang tua dan bayi lebih mudah terkena infeksi karena status imunologinya tidak sempurna. Imunologi contohnya adalah penyakit genetik. Penyakit kronik seperti tuberculosis, lupus eritematosus dengan keadaan umum yang buruk. Faktor eksogen meliputi pengaruh iklim yang panas dan kelembaban yang

menyebabkan respirasi meningkat, kebersihan kulit dan kontak dengan penderita misalnya pada trush, balanopostitis (Simatupang 2009; Tjampakasari 2006).

Faktor predisposisi berperan meningkatkan pertumbuhan *Candida albicans* serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan sistem pertahanan tubuh. Virulensi ditentukan oleh kemampuan jamur merusak jaringan. Enzim-enzim yang berperan sebagai faktor virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase dan fosfolipase (Tjampakasari 2006).

## 6. Identifikasi spesies *Candida albicans*

*Candida albicans* bersifat Gram positif yang tidak berkapsul, dapat membentuk pseudohifa, meragikan glukosa dan maltosa yang disertai pembentukan asam dan gas, meragikan sukrosa yang disertai asam tanpa gas, tidak bereaksi dengan laktosa dan tidak memecah urea. Media-media yang biasa digunakan untuk jamur seperti: SGA (*Sabouraud Glukose Agar*), Corn Meal Agar, maupun EMB agar. Media Corn Meal Agar pada suhu kurang dari 26°C akan terbentuk klamidospora terminal berdinding tebal dalam waktu 24-36 jam. Bila ditanam pada serum mamalia akan membentuk germinating tube setelah diinkubasi selama 2-3 jam. Apabila ditanam pada SGA akan membentuk koloni dengan penampang 0,5-1,5 mm dengan permukaan halus, licin, berwarna putih kekuningan dan berbau ragi. Pada medium Eosin Metilen Biru Agar dengan suasana CO<sub>2</sub> tinggi, dalam waktu 24-48 jam terbentuk pertumbuhan khas menyerupai kaki laba-laba atau pohon cemara (Tjampakasari 2006).

Identifikasi spesies *Candida albicans* salah satunya adalah metode uji Serum. *Germ tube* adalah perpanjangan filamen sel ragi yang berukuran lebarnya kira-kira setengah lebar sel *Candida albicans* dan panjangnya 3 sampai 4 kali panjang sel tersebut. Serum merupakan suatu medium yang terdiri dari protein, lemak, dan molekul-molekul kecil. Salah satu serum yang paling luas digunakan *Fetal Bovine Serum* (FBS). Penyimpanan FBS harus selalu disimpan dalam keadaan beku dan sebelum digunakan FBS dicairkan pada suhu kamar. *Germ tube* pada *Candida albicans* tidak mengalami konstiksi pada titik asalnya, berbeda dengan *germ tube* pada *Candida tropicalis*, yang mengalami konstiksi. Apabila

*germ tube* mengalami konstiksi, hal ini menunjukkan formasi hifa semu berasal dari proses penguncupan (*budding*) blastokonidia. Pada test *germ tube*, bisa didapat kedua tipe tersebut, baik yang mengalami konstiksi maupun yang tidak. Apabila didapat *germ tube* yang terkonstiksi, maka dapat diperkirakan jamur tersebut sebagai *Candida tropicalis*, dan sebaliknya dilakukan tes asimilasi karbohidrat sebagai prosedur (Maria 2009).

## H. Antijamur

### 1. Pengertian

Antijamur adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur. Antijamur mempunyai dua pengertian yaitu fungisidal dan fungistatik. Fungisidal didefinisikan sebagai suatu senyawa yang dapat membunuh fungi sedangkan fungistatik dapat menghambat fungi tanpa mematikannya (Siswandono & Soekardjo 2000).

### 2. Mekanisme kerja antijamur

Zat antijamur bekerja menurut salah satu dari berbagai cara, antara lain menyebabkan kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein, asam nukleat, penghambat kerja enzim atau penghambatan sintesis asam nukleat, dan protein. Kerusakan pada salah satu situs ini dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju pada matinya sel tersebut (Pelczar & Chan 2005).

**2.1. Kerusakan pada dinding sel.** Dinding sel merupakan penutup lindung bagi sel juga berpartisipasi di dalam proses-proses fisiologi tertentu. Strukturnya dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah setelah selesai terbentuk.

**2.2. Perubahan permeabilitas sel.** Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta secara selektif mengatur aliran keluar masuknya zat antara sel dengan lingkungan luarnya. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Membran ini juga merupakan situs beberapa reaksi enzim. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel.

**2.3. Perubahan molekul protein dan asam nukleat.** Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul protein dan asam nukleat pada membran alamiahnya. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) irreversibel (tidak dapat diperbaiki) komponen-komponen seluler yang vital.

**2.4. Penghambat kerja enzim.** Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

**2.5. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.** DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

### **3. Faktor-faktor yang Mempengaruhi Kerja Antijamur**

Faktor yang mempengaruhi kerja antijamur menurut Pelzcar dan Chan (2005) antara lain :

**3.1. Konsentrasi senyawa antijamur.** Semakin tinggi konsentrasi senyawa antijamur, semakin tinggi daya antifunginya.

**3.2. Jumlah mikroorganisme.** Perusakan mikroorganisme oleh suatu antijamur merupakan suatu proses yang teratur tidak mungkin semua jamur akan mati dalam waktu yang bersamaan. Semakin lama suatu jamur berada dibawah pengaruh senyawa antijamur, semakin besar kemungkinannya matinya jamur.

**3.3. Adanya bahan organik.** Adanya bahan organik asing dapat menurunkan efektifitas suatu antijamur. Hal tersebut disebabkan adanya penggabungan antijamur dengan bahan organik membentuk produk yang tidak bersifat antijamur dengan bahan organik pada permukaan jamur menjadi suatu pelindung yang dapat mengganggu kontak antara jamur dengan sel.

#### 4. Cara Penentuan Uji Antijamur

Penentuan daya kerja suatu senyawa antifungi dapat dilakukan dengan beberapa metode. Pengujian suatu antijamur terhadap mikroba dapat dilakukan secara *in vitro*. Menurut Recio *et al* (1998) ada tiga metode yang dapat digunakan untuk menguji antifungi.

Pertama, Metode Penyebaran (*Difusion Method*) yang meliputi Metode Cakram Kertas (*Paper Disk Method*), Metode Cairan dalam Cincin (*Ring Difusion Method*), Metode Lubang (*Hole Plate Method*). Kedua Metode Pengenceran Tabung (*Tube Dilution Method*). Ketiga, Metode Bioautografi (*Bioautography Method*) yang meliputi Metode Bioautografi Langsung (*Direct Bioautography Method*) dan Metode Bioautografi Pencelupan (*Immersion Bioautography Method*).

**4.1. Metode lubang (*Difusion Method*).** Metode ini dilakukan dengan cara menanam jamur pada lempeng agar yang sesuai kemudian dibuat sumuran dalam media yang telah ditanam bahan uji. Selanjutnya diinkubasi selama 1-2 hari dalam suhu kamar dan dilihat zona hambat di sekitar sumuran. Keuntungan metode difusi adalah jumlah sampel kecil dan bisa dikerjakan dalam satu petri dish berjumlah 5-6 sampel sekaligus untuk satu jenis mikroorganisme.

**4.2. Metode pengenceran (*Dilution Method*).** Metode pengenceran dapat dilakukan dengan pengenceran dalam tabung maupun pengenceran agar. Cara pengenceran dalam tabung dapat dilakukan dengan mengencerkan bahan uji dengan media cair menjadi kelipatan dua secara bertahap sehingga didapatkan beberapa konsentrasi dengan kelipatan setengahnya, sedangkan pada pengenceran agar menggunakan satu seri lempeng agar dengan konsentrasi bahan uji yang berbeda. Selanjutnya diinkubasikan dengan suspensi selama 24-48 jam pada suhu 36-37°C kemudian diamati hambatan pertumbuhan kuman dengan membandingkan kekeruhan atau pertumbuhan dengan media kontrol, media yang mengandung kadar konsentrasi. Penghambatan minimal didapatkan dari tabung yang jernih pada pengenceran tertinggi. Metode ini digunakan untuk mengetahui kadar hambat minimal antijamur, tetapi metode ini hanya sesuai untuk senyawa larut dalam air.

**4.3. Metode bioautografi.** Metode ini sangat berguna untuk mengetahui senyawa baru atau yang belum diketahui aktivitas antijamurnya. Bahan uji dipindahkan ke dalam cawan petri yang berisi agar dan inokulum jamur melalui proses dilusi. Bioautografi kontak menggunakan prinsip difusi senyawa yang terpisah dengan kromatografi lapis tipis. Lempeng kromat diletakkan pada permukaan agar yang telah diinokulasi jamur. Setelah kurang lebih 30 menit lempeng dipindahkan, diinkubasi, dan diamati. Senyawa antijamur akan berdifusi pada lapisan agar dan menghambat pertumbuhan jamur. Pada bioautografi langsung, zona hambatan diamati secara langsung pada lempeng kromatografi yang sudah disemprot suspensi fungi dalam media cair kemudian diinkubasikan pada suhu dan waktu tertentu. Adapun metode bioautografi pencelupan dapat dilakukan dengan pencelupan lempeng kromat ke dalam media yang sudah diinokulasi jamur, setelah media yang menempel pada lempeng kromat mengeras lalu diinkubasi dan dilakukan pengamatan daerah hambatan.

## **5. Uji Aktivitas Antijamur**

**5.1. Metode difusi.** Metode difusi dengan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode dengan sumuran atau silinder, dilakukan dengan memasukkan larutan uji dengan konsentrasi tertentu ke dalam sumuran. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum diolesi bakteri uji. Diameter zona hambat sekitar cakram yang digunakan untuk mengukur kekuatan hambat obat. Metode difusi agar dipengaruhi oleh faktor kimia, faktor antar obat dan organisme (Jawetz *et al.* 2012).

**4.2. Metode dilusi.** Metode dilusi ini berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan, dengan metode dilusi dapat ditentukan secara kuantitatif KHM dan KBM. Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap mikroba uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2012).

## I. Media

Media adalah substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangkan mikroba. Media harus steril sebelum dipergunakan untuk penelitian artinya tidak ditumbuhi oleh mikroba lain. Mikroba dapat tumbuh dan berkembang dengan baik dengan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media juga harus mempunyai tekanan osmosi, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba (Suriawiria 2005). Ada tiga bentuk media antara lain media cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar dan fermentasi. Media padat digunakan untuk mengamati bentuk dan morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media setengah padat biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas pergerakan mikroba maupun kemampuan fermentasi (Pratiwi 2008).

## J. Ketokonazol

Antijamur sintetik azol menghambat jamur dengan menghambat biosintesis lipid jamur, terutama ergosterol pada membran sel. Efek ini diakibatkan oleh penghambat pada 14 $\alpha$ -dementilasi yang membutuhkan P450 dari lanosterol jamur. Interaksi azol dengan dementilase C14A dalam sel jamur juga menyokong efek toksis utama azol pada sel mamalia, misalnya secara klinis ketokonazole menyebabkan kelainan endokrin pada manusia karena inhibisi enzim sitokrom P450 yang dibutuhkan untuk sintesis hormon steroid adrenal dan gonad akan tetapi efek tidak diharapkan ini malah dimanfaatkan untuk mengurangi produksi hormon steroid pada sindroma *Cushing* (Gunawan 2007).

Ketokonazol suatu imidazol merupakan obat pertama dari kelompok yang diberikan peroral dan efektif untuk beberapa mikosis sistemik. Dosis tunggal harian 200-400 mg diberikan bersama makanan. Obat ini diabsorpsi dengan baik dan didistribusikan secara luas, tetapi konsentrasi di susunan saraf pusat rendah. Penyerapan pada saluran cerna akan berkurang pada pasien dengan pH lambung yang tinggi. Dosis harian menekan infeksi *Candida* mulut dan vagina dalam satu

sampai dua minggu dan dermatofitosis dalam tiga sampai delapan minggu (Katzung 2010).

### **K. Landasan Teori**

*Candida albicans* dianggap spesies terpatogen dan menjadi penyebab utama kandidiasis. Kandidiasis merupakan penyakit sebagai akibat infeksi *Candida albicans* baik primer maupun sekunder terhadap penyakit lain yang telah ada. Kandidiasis menyerang manusia tidak mengenal umur maupun jenis kelamin. Kandidiasis bila dibiarkan dapat berakibat fatal (Suprihatin 1995). Salah satu tanaman yang digunakan untuk obat antijamur adalah binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Bagian yang digunakan adalah daun. Tanaman binahong adalah salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan untuk mengobati banyak penyakit diantaranya pengobatan luka bakar, penyakit tifus, radang usus, sariawan, keputihan, pembengkakan hati, pembengkakan jantung, meningkatkan vitalitas, dan daya tahan tubuh (Manoi 2009).

Penelitian sebelumnya disebutkan bahwa ekstrak *n*-heksan dan etil asetat mengandung terpenoid sedangkan ekstrak etanol 70% daun binahong mengandung saponin, flavonoid dan alkaloid (Aini 2012). Hasil penelitian sebelumnya disebutkan bahwa ekstrak *n*-heksan, etil asetat, dan etanol dari daun binahong dapat membunuh *Candida albicans* sampai konsentrasi 8%. Hasil uji tabung dan uji kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa daun binahong mengandung saponin, flavonoid, alkaloid dan terpenoid (Nita 2009). Dyah (2012) mengemukakan bahwa ekstrak etanol 70% daun binahong tidak memiliki daya hambat terhadap jamur *Fusarium Oxysporum*, hal ini dikarenakan jumlah kandungan saponinnya tidak terlalu besar.

Pelarut *n*-heksan sebagai pelarut nonpolar dapat menyari senyawa yang bersifat nonpolar seperti terpenoid, minyak atsiri, steroid dan karotenoid. Pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar dapat menyari senyawa yang bersifat semi polar seperti flavonoid dan alkaloid, dan air sebagai pelarut polar dapat menyari senyawa seperti saponin, tanin, gula, glikosida, dan garam alkaloid (Depkes 2003).

Sehingga pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air dapat melarutkan senyawa yang ada pada daun binahong.

Flavonoid dalam bentuk glikosida mudah larut dalam pelarut polar karena adanya gula yang terikat pada flavonoid. Flavonoid akan mendenaturasi protein sel dan mengerutkan dinding sel sehingga melisiskan dinding sel jamur karena flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran sel (Anggara *et al.* 2014). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel mikroorganisme, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Nimah *et al.* 2012). Saponin memiliki aktivitas antijamur dengan cara mengganggu permeabilitas membran terluar jamur (Kim S & Sudbery P 2011). Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa terpenoid dapat menghambat pertumbuhan dengan mengganggu proses terbentuknya membran atau dinding sel dan menyebabkan membran atau dinding sel tidak terbentuk sempurna (Ajizah 2004).

Maserasi digunakan untuk mengambil ekstrak daun binahong. Maserasi merupakan metode penyarian yang paling sederhana, waktu yang digunakan lebih cepat dibandingkan cara penyarian yang lain. Setelah dilakukan maserasi dilanjutkan ke tahap fraksinasi. Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama lainnya berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda-beda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa yang bersifat non polar akan masuk ke pelarut non polar dan senyawa semi polar akan masuk ke pelarut semi polar (Harborne 2007).

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan tiga pelarut dengan polaritas yang berbeda-beda, pelarut yang digunakan *n*-heksan, etil asetat dan air. Pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar dapat menyari senyawa yang bersifat semi polar seperti flavonoid dan alkaloid yang termasuk dalam metabolit sekunder. Golongan senyawa alkaloid dan flavonoid yang memiliki aktivitas antijamur akan larut dalam pelarut semi polar yaitu etil asetat, sehingga dapat diperkirakan bahwa

dari ketiga fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air yang paling efektif adalah fraksi etil asetat

Hasil dari fraksinasi dan ekstrak etanol daun binahong kemudian dilakukan uji antijamur. Pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dilakukan dengan menggunakan cakram (*disk*) kertas saring, sumuran atau silinder tidak beralas. Metode cakram kertas saring berisi sejumlah obat yang ditempatkan pada permukaan medium padat, medium sebelum diinokulasi jamur uji. Metode dilusi ini berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan, dengan metode dilusi dapat ditentukan secara kuantitatif KHM dan KBM dari daun binahong terhadap *Candida albicans*. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kualitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2012).

#### **L. Hipotesis**

Berdasarkan landasan teori yang ada dapat disusun suatu hipotesis dalam penelitian ini adalah:

Pertama, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun binahong mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun binahong paling efektif membunuh *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, dapat ditentukan KHM dan KBM dari fraksi teraktif daun binahong terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Populasi dan Sampel**

##### **1. Populasi**

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) di daerah Palur, Karanganyar, Jawa Tengah.

##### **2. Sampel**

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang berwarna hijau segar, daun muda, permukaan daun licin, tepi lurus, pengambilan pada pagi hari, dan diambil secara acak pada bulan Januari 2017.

#### **B. Variabel Penelitian**

##### **1. Identifikasi variabel utama**

Variabel utama adalah serbuk daun binahong yang dimaserasi dengan etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan *n*-heksan, etil asetat dan air.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antijamur dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun binahong terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

##### **2. Klasifikasi variabel utama**

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Pengertian dari variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Pengertian variabel tergantung adalah titik pusat persoalan yang merupakan kriteria penelitian ini. Variabel terkontrol pada penelitian ini merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung sehingga perlu ditetapkan kualifikasinya agar hasil yang diperoleh tidak tersebar dan dapat diulang oleh peneliti lain secara tepat.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong dengan berbagai konsentrasi atau fraksi ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) diuji antijamurnya dengan berbagai konsentrasi. Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antijamur fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanol daun binahong yang dapat dilihat dari diameter zona hambat. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian jamur *Candida albicans* ATCC 10231, kondisi laboratorium (meliputi kondisi enkas, alat dan bahan yang digunakan harus steril) dan media yang digunakan dalam penelitian harus steril.

### **3. Definisi operasional variabel utama**

Pertama, daun binahong adalah daun yang diambil pada pagi hari, berwarna hijau segar dan diambil secara acak.

Kedua, serbuk daun binahong adalah daun binahong yang sudah dipetik kemudian dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan kotoran, setelah itu daun yang sudah dicuci bersih dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C, kemudian diserbuk dan diayak dengan ayakan nomer 40.

Ketiga, ekstrak etanol daun binahong adalah hasil ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai bebas etanol.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksinasi dari ekstrak etanol 70% daun binahong dengan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut non polar, yang kemudian dipekatkan sehingga didapat fraksi *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi *n*-heksan dengan menggunakan etil asetat sebagai pelarut semi polar, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapat fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah hasil fraksinasi dari residu fraksi etil asetat dengan menggunakan air sebagai pelarut polar, kemudian dipekatkan dengan *waterbath* sehingga didapat fraksi air.

Ketujuh, jamur uji dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231 yang diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Kedelapan, metode difusi adalah uji aktivitas antijamur dengan konsentrasi 50%; 25% dan 12,5%. Metode difusi menggunakan media SGA dalam cawan petri dan ketebalan media tertentu. SGA diratakan permukaannya dengan menggunakan suspensi jamur uji yang kemudian dioleskan pada permukaan media SGA sampai rata kemudian meletakkan cakram diatas media yang berisi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air serta kontrol negatif DMSO 1% dan kontrol positif ketokonazol, lalu mengamati diameter zona hambat.

Kesembilan, fraksi teraktif adalah fraksi yang memiliki daya hambat terbesar terhadap jamur uji.

Kesepuluh, metode dilusi adalah untuk menentukan KBM berupa satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,2%; 0,1%. KBM ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231.

### **C. Bahan dan Alat**

#### **1. Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun binahong yang diambil di Palur, etanol 70%, *n*-heksan, etil asetat, aquadest, larutan standart Mc Farland 0,5, reagen Mayer, dan reagen Dragendrof, sitoborat, Liberman Burchart, kloroform, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, serbuk Mg, anhidrida asetat, amil alkohol, NaOH, HCl 0,1N, HCl 2N, DMSO 1% Merck, cat lactofenol cotton blue, *Candida ablicans* ATCC 1023, *Sabouraud Glucose Agar* (SGA) Merck, *Sabouraud Dextrose Cair* (SDC) Merck, ketokonazol produksi Hexpharmjaya, kloramfenikol dengan derajat halus 60%, glukosa broth Merck, laktosa broth Merck, maltosa broth Merck, sukrosa broth Merck, metanol, kloroform.

#### **2. Alat**

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa oven dengan suhu 45°C, alat-alat gelas dengan spesifikasi tertentu, *moisture balance* Ohaus, rotary evaporator Ohaus, autoklaf, inkubator, vortex Stuart.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian ini adalah determinasi daun yang digunakan dalam penelitian yaitu daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Determinasi ini dilakukan di Universitas Sebelas Maret. Determinasi dan deskripsi ini bertujuan untuk menetapkan keberadaan yang berkaitan dengan ciri-ciri morfologi baik secara makroskopi maupun mikroskopi tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap kepustakaan yang dibuktikan di laboratorium.

### **2. Pengeringan bahan**

Daun binahong sebanyak 4000 gram dicuci bersih di bawah air mengalir, ditiriskan. Daun binahong yang sudah bersih, kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 45°C sampai didapatkan daun dengan kadar air tertentu.

### **3. Pembuatan serbuk**

Daun binahong yang kering dihaluskan dengan diblender lalu diayak dengan ayakan nomer 40, serbuk sebanyak 400 gram.

### **4. Penetapan kadar air serbuk daun binahong**

Penetapan kadar air serbuk daun binahong dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Caranya alat yang akan digunakan ditara terlebih dahulu dengan akurasi dan temperatur sesuai dengan jumlah simplisia yang diujikan. Timbang serbuk daun binahong 2 gram lalu dimasukkan ke dalam alat tersebut kemudian dicatat hasilnya berupa angka dalam persen yang terdapat pada layar *Moisture balance*, untuk meminimalisir kesalahan penetapan kadar air dilakukan sebanyak tiga kali. Konsentrasi air akan memenuhi syarat apabila konsentrasi air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10% (Kemenkes RI 2001).

### **5. Pembuatan ekstrak etanol metode maserasi**

Pembuatan ekstrak maserasi daun binahong: menimbang serbuk simplisia sebanyak 400 gram dimasukkan ke dalam botol, menggunakan pelarut etanol 70% 3000 ml. Maserasi dilakukan selama 5 hari kemudian digojog 3 kali sehari. Hasil maserasi di saring dengan kain flanel steril, setelah itu ampas dipisahkan dengan filtrat, kemudian ekstrak yang di dapatkan dipisahkan dengan penyaringnya, yakni

larutan etanol 70% dengan menggunakan *rotary evaporator* untuk menguapkan pelarut. Ekstrak binahong yang pelarutnya sudah diuapkan lalu dipekatkan diatas waterbath sampai didapatkan ekstrak yang kental.

#### **6. Uji bebas etanol ekstrak daun binahong**

Uji bebas etanol ekstrak etanol daun binahong untuk mengetahui bahwa ekstrak yang akan digunakan untuk penelitian benar-benar bebas dari etanol, karena etanol diketahui mempunyai aktivitas antiseptik yang dapat membunuh bakteri. Uji ini dilakukan dengan cara ekstrak diteteskan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan reagen H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat dan CH<sub>3</sub>COOH lalu dipanaskan. Hasil uji bebas etanol dari ekstrak tersebut ditandai dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol.

#### **7. Fraksinasi dari ekstrak etanol daun binahong**

Fraksinasi dari ekstrak etanol daun binahong yang telah dikentalkan dengan cara menimbang sepuluh gram ekstrak etanol kental dari hasil maserasi di dalam beaker glass kemudian dilarutkan dengan pelarut air 75 ml, difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan sebanyak tiga kali dengan masing-masing 75 ml, fraksi *n*-heksan yang didapat dipekatkan. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksan dilanjutkan fraksinasi tiga kali dengan pelarut etil asetat masing-masing 75 ml. Hasil yang didapat adalah fraksi etil asetat yang didapat dipekatkan dengan *rotary evaporator*, dan fraksi air kemudian dipekatkan dengan waterbath sampai pekat lalu ditimbang.

#### **8. Penetapan persen rendemen**

Penetapan % rendemen diperoleh dengan menimbang hasil ekstrak pekat, kemudian hasil dari ekstrak pekat dibagi dengan berat serbuk lalu dikalikan 100.

$$\text{Rendemen \%} = \frac{\text{Bobot ekstrak pekat}}{\text{Bobot serbuk}} \times 100\%$$

#### **9. Identifikasi kandungan kimia pada ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong**

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong. Identifikasi dilakukan dengan uji tabung. Identifikasi kandungan

senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.

**9.1. Identifikasi flavonoid.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 gram ditambah 10 ml aquadest dipanaskan selama satu menit, diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,1 gram larutan Mg, ditambahkan 1 ml pelarut amil alkohol. Campuran dikocok kuat-kuat, kemudian dibiarkan memisah. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978).

**9.2. Identifikasi alkaloid.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 g ditambahkan sedikit larutan HCl 2 N, dipanaskan kemudian tambahkan reagen Dragendrof terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam (Depkes 1987).

**9.3. Identifikasi saponin.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 gram ditambah air panas lalu dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Saponin positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih selama tidak kurang dari 10 menit setinggi 1-10 cm, pada penambahan 1 tetes HCl 2 N buih tidak hilang (Depkes 1978).

**9.4. Identifikasi terpenoid.** Ekstrak, fraksi teraktif sebanyak 0,5 gram dilarutkan 0,5 ml kloroform, kemudian ditambah 0,5 ml anhidrida asetat dan ditambah dua ml H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat tetes demi tetes melalui dinding tabung. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk warna coklat kemerahan (Depkes 1978).

## 10. Sterilisasi

Media agar yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit tekanan dua atm. Alat dan bahan yang perlu disterilkan dengan autoklaf adalah media uji dan aquadest steril. Beaker glass, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri, kapas lidi disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama dua jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose dan penjepit disterilkan dengan pemanasan api langsung dan inkas dengan menggunakan formalin (Jawetz *et al.* 2012).

## 11. Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

**11.1. Identifikasi makroskopis.** *Candida albicans* ATCC 10231 dikembangbiakan pada media SGA selama 2-4 hari pada suhu 37°C atau suhu ruang akan tampak koloni berbentuk bulat, warna krem, diameter 1-2 mm,

konsisten smooth, mengkilat, bau seperti ragi. Besar koloni tergantung pada umur biakan, tapi koloni terlihat hifa semu sebagai benang-benang halus yang termasuk kedalam media, pada media cair biasanya tumbuh pada dasar tabung.

**11.2. Identifikasi biokimia.** Media yang digunakan adalah Glukosa Broth, Laktosa Broth, Maltosa Broth dan Sukrosa Broth. Jamur uji diinokulasikan ke media Glukosa Broth, Laktosa Broth, Maltosa Broth dan Sukrosa Broth diamati terbentuknya gas dan kemampuan memfermentasi. Media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif jika media Glukosa Broth, Sukrosa Broth dan Maltosa Broth terbentuk gas pada tabung durham dan media Laktosa Broth tidak berbentuk gas (Jawetz *et al.* 2007)

## **12. Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231**

*Candida albicans* ATCC 10231 diambil dari biakan murni sebanyak 2 ose, kemudian digoreskan pada media SGA miring pada suatu tabung yang kemudian diinkubasi selama 2-4 hari pada suhu 37°C. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231. Beberapa ose biakan *Candida albicans* ATCC 10231 dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml SDC, dicampur sehingga homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart Mc Farland 0,5 yang dianggap setara dengan  $1,5 \times 10^8$  juta per ml. Pada uji dilusi pembuatan suspensi yang didapat, diencerkan dengan perbandingan 1:1000 yaitu dengan mengambil 0,1 ml suspensi jamur dimasukkan pada media SDC sebanyak 100 ml.

## **13. Pengujian aktivitas antijamur**

Pengujian antijamur dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Pada metode difusi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dibuat masing-masing tiga konsentrasi yaitu 50%, 25% dan 12,5% menggunakan DMSO 1%. Jamur uji yang sudah disiapkan, kemudian di inokulasi merata pada media SGA 30 ml dengan menggunakan kapas lidi steril kemudian didiamkan selama 10 menit agar suspensi biakan terdifusi ke media. Di ambil 30 µl ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air kemudian di teteskan dalam cakram kosong yang telah disterilkan. Cakram dari semua konsentrasi kemudian diletakkan diatas media, sebagai kontrol positif diletakkan pula cakram ketokonazole dan sebagai kontrol

negatif diletakkan pula cakram yang telah ditetaskan DMSO 1%, lalu di inkubasi suhu 37°C selama 24-48 jam kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk. Diameter daya hambat terbesar dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air, dilanjutkan pengujian antijamur metode dilusi untuk fraksi teraktif yang memiliki diameter hambat paling besar.

Pengujian antijamur untuk fraksi teraktif dilakukan dengan metode dilusi. Metode dilusi ini digunakan untuk menentukan KBM. Pengujian antijamur ini dilakukan dengan cara menyiapkan 12 tabung steril. Pembuatan larutan stock fraksi teraktif menggunakan DMSO 1%. Konsentrasi pengenceran masing-masing tabung yaitu 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,12%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,2%; 0,1%, kontrol positif dan kontrol negatif. Metode ini dilakukan secara aseptis dengan cara menyiapkan 12 tabung steril kemudian diberi media SDC sebanyak 0,5 ml kecuali tabung pertama. Secara aseptik dalam tabung 1 ditambahkan 1,0 ml fraksi teraktif sebagai kontrol negatif, dari tabung pertama diambil 0,5 ml dimasukkan tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukkan tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung ke sebelas. Ambil 0,5 ml dari tabung sebelas kemudian dibuang. Suspensi jamur uji yang telah disiapkan dan diencerkan 1:1000 dari biakan murni dari tabung dimasukkan pada masing-masing tabung 0,5 ml kecuali tabung 1 sebagai kontrol negatif. Semua tabung di inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C, di amati adanya kekeruhan pada seri pengenceran sejumlah tabung yang telah diinkubasi, dimana tabung dengan larutan jernih setelah tabung keruh terakhir merupakan KHM. Menginokulasi dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada media SGA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. KBM ditentukan dengan mengamati tidak ada pertumbuhan jamur pada konsentrasi terkecil.

### **13. Identifikasi kandungan senyawa dari fraksi teraktif daun binahong menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT)**

**14.1. Flavonoid.** Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan KLT dengan fase gerak yang digunakan kloroform : metanol (9:1) dengan pereaksi semprot sitoborat. Pada UV 254 nm memberi peredaman, UV 366 nm berflourosensi biru, kuning, ungu gelap, dan berwarna kuning setelah diuapi

amonia, yang cepat dan pereaksi semprot yang digunakan adalah sitoborat (Harborne 2007).

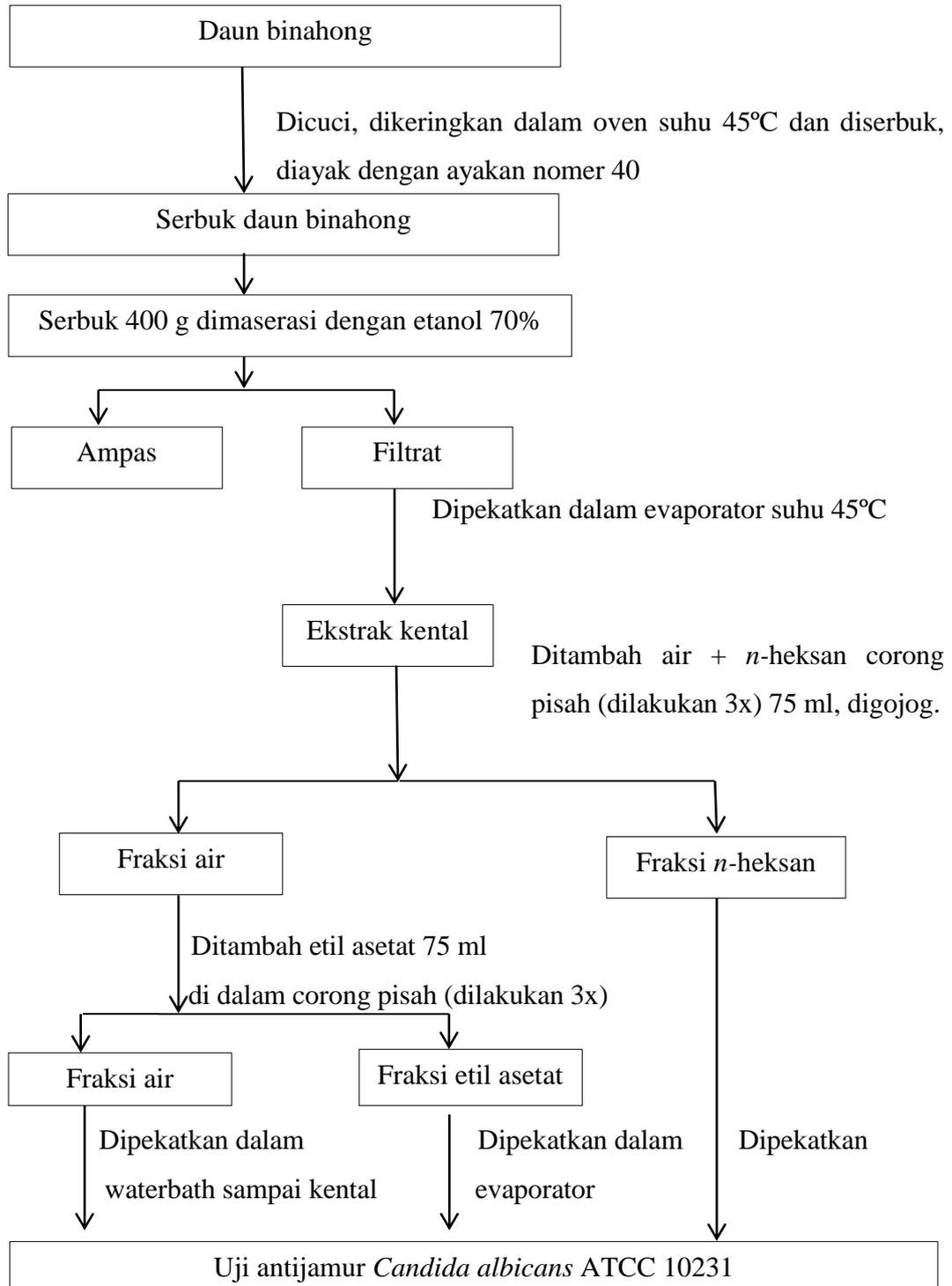
**14.2. Alkaloid.** Identifikasi senyawa alkaloid menggunakan KLT yaitu fase diam silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak etanol : etil asetat : *n*-heksan (30:2:1) dideteksi pada sinar UV 366 berwarna hijau, pereaksi semprot yang digunakan dragendorf dengan hasil berwarna ungu (Harborne 2007).

**14.3. Saponin.** Identifikasi senyawa saponin dilakukan menggunakan KLT fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya fase gerak kloroform : metanol : air (13:7:2) dengan pereaksi semprot Liberman Bourchardat (LB). Senyawa saponin akan terlihat ungu atau noda gelap pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Pada sinar tampak bercak berwarna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau atau kuning coklat (Pratama *et al.* 2012).

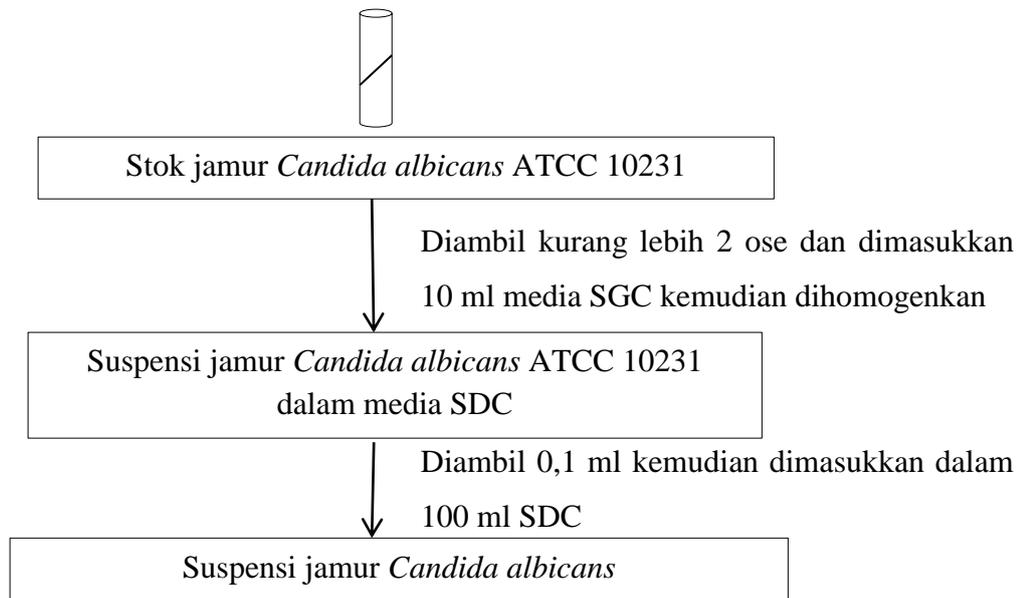
## **E. Analisis Data**

Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan metode difusi yang dinyatakan dengan nilai zona hambat yang terbentuk. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan statistik metode Anova Satu Jalan.

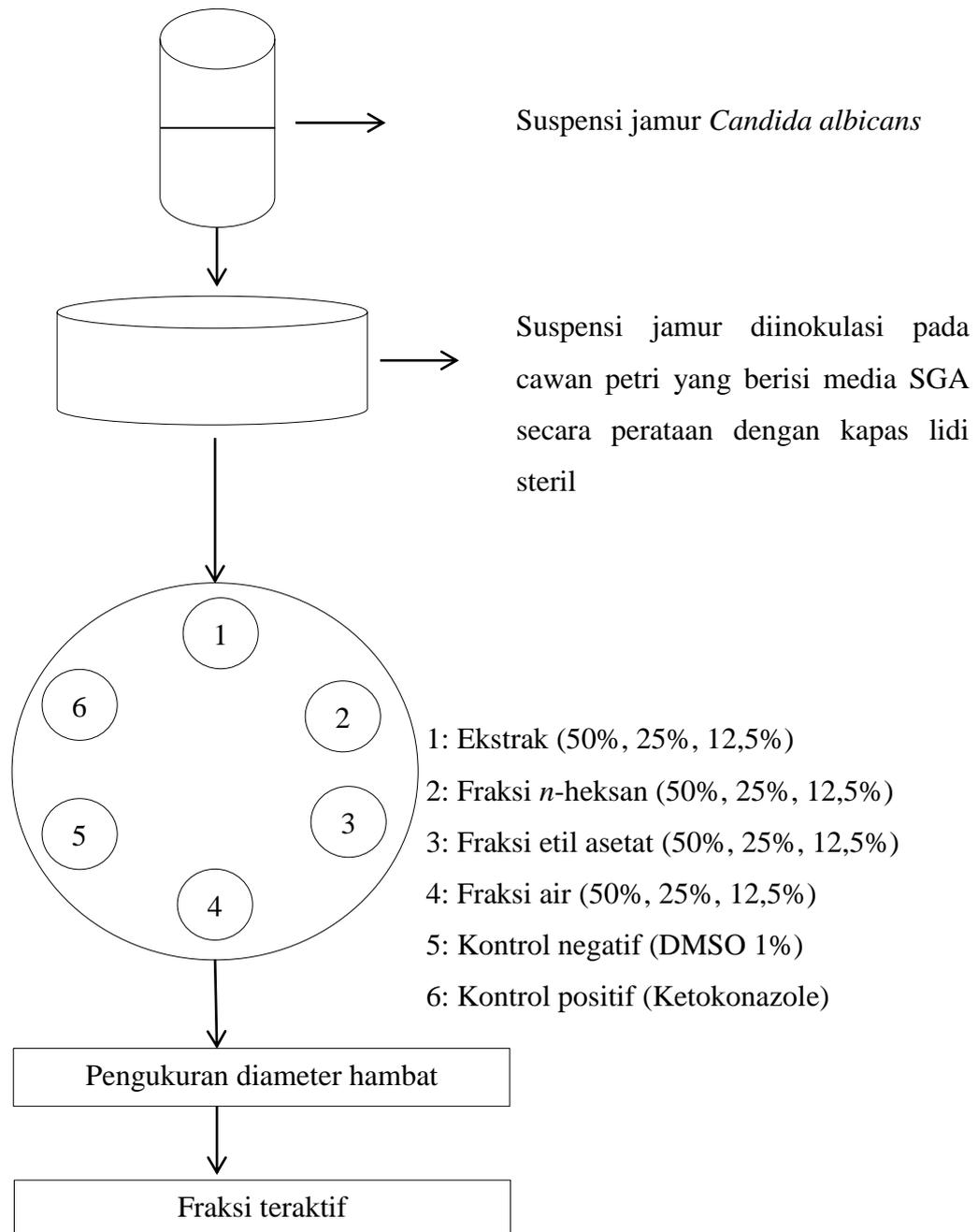
### F. Skema Jalannya Penelitian



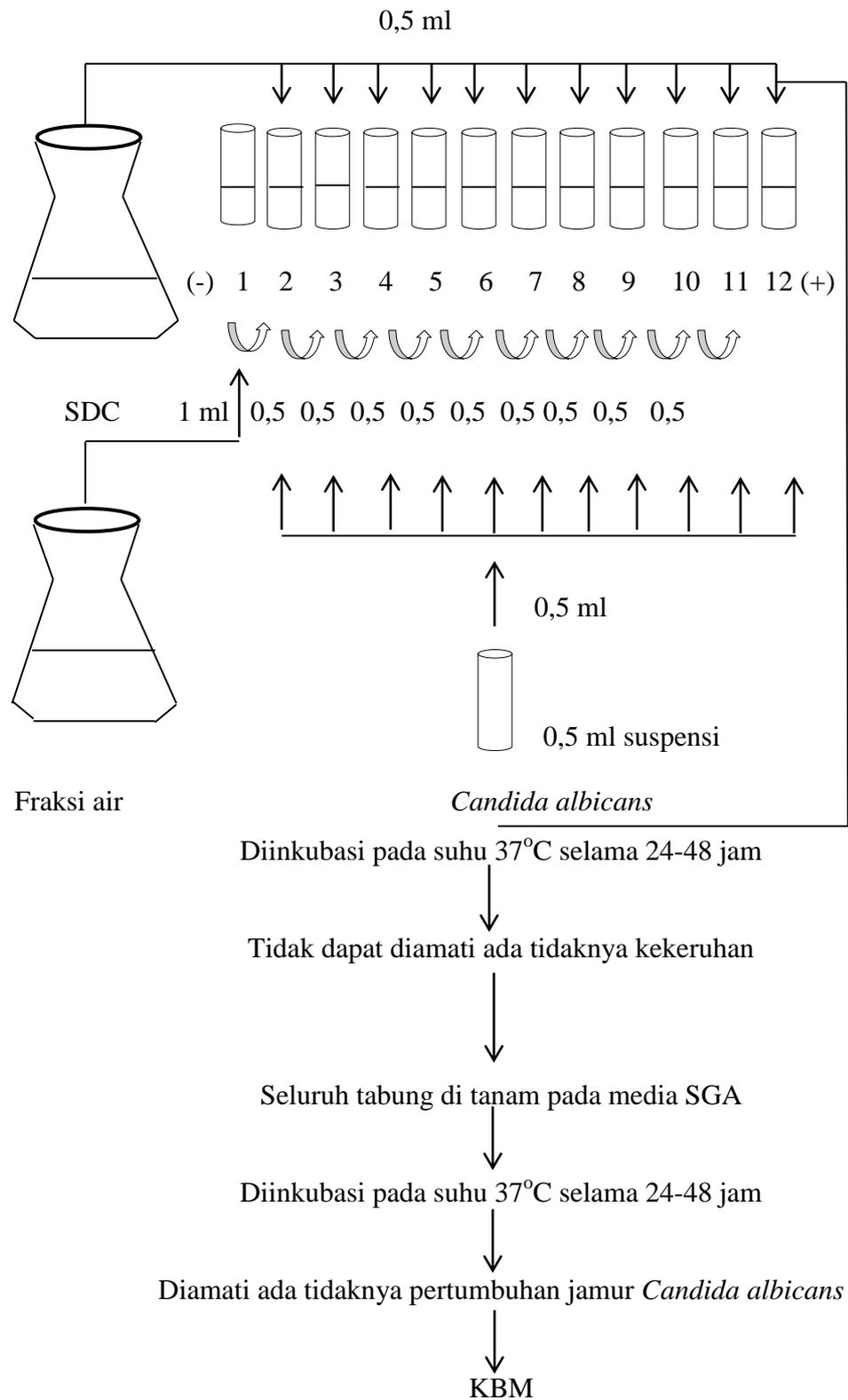
Gambar 2. Skema pembuatan ekstrak etanol dan fraksinasi daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis)



**Gambar 3. Skema pembuatan suspensi jamur 1:1000**



Gambar 4. Skema uji *Candida albicans* ATCC 10231 dengan metode difusi



**Gambar 5. Skema uji *Candida albicans* ATCC 10231 dengan metode dilusi**

## BAB IV

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 1. Hasil determinasi tanaman dan deskripsi tanaman binahong

**1.1 Hasil determinasi tanaman binahong.** Determinasi merupakan langkah awal yang harus dilakukan sebelum menggunakan bahan tanaman untuk penelitian. Determinasi tanaman dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menyesuaikan morfologi tanaman dan bertujuan untuk menghindari kesalahan pengumpulan tanaman yang akan digunakan untuk penelitian. Determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Sebelas Maret Surakarta. Hasil kunci determinasi tanaman menurut C.A. Backer & R.C Bkhuizen van den Brink, Jr. (1963) sebagai berikut :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-  
27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415b-466b-467b-468b-469b-470e-  
541a \_\_\_\_\_ 49. Basellaceae  
1b \_\_\_\_\_ 2. Anredera  
1 \_\_\_\_\_ *Anredera cordifolia*  
(Ten.) Steenis.

**1.2 Hasil deskripsi tanaman binahong.** Tanaman binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan tanaman menahun dan merambat yang tumbuh tegak dengan tinggi yang bisa mencapai 1-3 m. Bentuk akar tanaman binahong yakni akar tunggang, bercabang, berdaging lunak, berwarna putih kotor atau putih kekuningan atau cokelat muda. Batang tanaman binahong berbentuk bulat, lunak berair, membelit, kulit batang berwarna merah, permukaan licin dan gundul, panjangnya bisa mencapai 20-30 m, diameter 3,5 cm. Umbi tanaman binahong muncul di ketiak daun, berbentuk bulat, permukaan kasar, kulit umbi berwarna hijau kecokelatan sementara daging umbi berwarna putih, panjang 5-7 cm, diameter 1-4 cm. Daun tanaman binahong berbentuk tunggal letak berseling, helaian anak daun bulat telur atau jantung dengan panjang 1-11 cm, lebar 0,75-8 cm, pangkal berlekuk, tepi daun rata, ujung daun runcing atau tumpul, permukaan

licin dan gundul, tulang daun menyirip, tangkai daun bulat, licin dan gundul dengan panjang 1-3 cm. Bunga tanaman binahong majemuk berbentuk tandan yang bercabang atau tidak ada ketiak daun yang terdiri atas banyak kuntum bunga, bunga kecil-kecil berbau harum, panjang tangkai bunga 1,5-2 mm. Perhiasan bunga dalam bentuk tepala (tidak bisa dibedakan antara kelopak bunga dan mahkota bunga) berjumlah 5 berbentuk bulat telur dengan diameter 5,5-8 mm berwarna krem keputih-putihan, tangkai sari putih, tangkai putik putih.

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

## 2. Hasil pengumpulan bahan

**2.1 Hasil pemilihan daun binahong.** Daun binahong yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Palur, Karanganyar dalam keadaan masih segar pada bulan Januari 2017 secara acak. Daun binahong diambil yang berwarna hijau dan masih segar, kemudian di cuci dengan menggunakan air mengalir untuk membersihkan kotoran atau zat lain yang tidak di butuhkan.

**2.2 Pembuatan serbuk daun binahong.** Pembuatan serbuk daun binahong diperoleh dari daun binahong segar yang berwarna hijau yang telah dikeringkan dalam oven pada suhu 45°C selama 2 hari, segera diserbuk dengan mesin penggiling dan blender. Selanjutnya diayak dengan ayakan nomer 40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang homogen. Penyerbukan ini bertujuan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung efektif.

Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong dapat dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong**

Berat basah (gram)	Berat kering (gram)	Rendemen (%)
4000	900	22,5

Berdasarkan tabel 9 dapat dilihat bahwa persentase rendemen daun binahong yang didapat 27,5 %. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 9.

### 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun binahong

Kadar kelembab serbuk daun binahong diukur dengan menggunakan alat *moisture balance*. Pemeriksaan ini ditujukan agar mengetahui kandungan lembab daun binahong yang berpengaruh terhadap kualitas serbuk. Jika kadar lembab tinggi dapat memudahkan tumbuhnya jamur dan organisme aerob lainnya. Kadar lembab serbuk yang baik adalah tidak lebih dari 10%.

**Tabel 3. Hasil penetapan kadar air dalam serbuk daun binahong**

Serbuk	Berat (gram)	Kandungan lembab serbuk (%)
Daun binahong	2,0	7,3
	2,0	7,2
	2,0	7,3
Rata-rata		7,26

Hasil penentuan kadar lembab serbuk daun binahong didapatkan rata-rata sebesar 7,26%. Kadar air dalam serbuk simplisia dipersyaratkan kurang dari atau sama dengan 10%, karena dengan kadar air kurang dari atau sama dengan 10% sel dalam keadaan mati, enzim tidak aktif dan jamur tidak tumbuh (Depkes 1986). Penetapan kadar air dari simplisia perlu dilakukan mengingat air merupakan media tumbuhnya jamur, kapang, dan mikroorganisme yang lain yang dapat merusak simplisia. Reaksi enzimatik dengan adanya air menurunkan mutu serbuk.

### 4. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun binahong

Pembuatan ekstrak etanol daun binahong ini menggunakan bahan serbuk daun binahong yang sudah halus dan telah diuji kadar airnya. Pembuatan ekstrak etanol ini menggunakan metode ekstraksi yakni maserasi. Maserasi dipilih sebagai metode ekstraksi karena metodenya cukup sederhana, peralatan yang digunakan juga sederhana, mudah dilakukan dan metode ini cocok untuk senyawa yang mudah rusak dengan pemanasan. Pada penelitian ini pelarut yang digunakan adalah etanol 70% karena etanol merupakan pelarut universal, etanol juga lebih murah dibandingkan dengan pelarut lainnya, mudah didapatkan dan selektifitasnya tinggi. Pemilihan konsentrasi pelarut etanol 70% dikarenakan etanol 70% lebih bersifat polar dibandingkan pelarut etanol 96% atau etanol 95%, untuk mengekstraksi senyawa seperti flavonoid dan alkaloid yang bersifat polar maka digunakan pelarut yang bersifat polar juga yakni etanol 70%.

Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk halus daun binahong dengan menggunakan etanol 70% dalam botol maserasi berwarna gelap untuk

menghindari terjadinya oksidasi oleh cahaya matahari. Botol maserasi kemudian digojog 3 kali dalam sehari agar tidak terjadi pengendapan dan partikel serbuk dapat bersentuhan langsung dengan pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 5 hari, setelah 5 hari maserat kemudian disaring lalu diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Ekstrak yang didapatkan dari hasil penguapan dengan *rotary evaporator* belum terlalu pekat, sehingga pemekatan ekstrak dilakukan diatas waterbath. Data rendemen ekstrak dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Rendemen ekstrak etanolik daun binahong**

Serbuk daun binahong (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen(%)
400	82,96	20,74

Hasil pembuatan ekstrak etanolik daun binahong pada tabel 4 menggunakan cara maserasi, proses maserasi dilakukan dua kali kerja, tiap botol maserat berisi 400 gram serbuk dilarutkan dalam pelarut etanol 70% sebanyak 3000 ml, didapatkan ekstrak kental adalah 82,96 gram sehingga di peroleh rendemen 20,74%. Ekstrak kental etanolik yang didapat kemudiaan difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air dimaksudkan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 10.

##### 5. Hasil Pengujian bebas alkohol ekstrak etanolik daun binahong

Hasil pengujian bebas alkohol ekstrak etanolik daun binahong dapat dilihat pada tabel 5.

**Tabel 5. Hasil pengujian bebas alkohol ekstrak etanolik daun binahong**

Senyawa	Esterifikasi	Pustaka	Hasil Uji
Alkohol	Ekstrak + CH <sub>3</sub> COOH + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> Pekat kemudian dipanaskan	Tidak berbau ester yang khas pada alkohol (Depkes 1986)	Tidak berbau ester yang khas pada alkohol

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun binahong sudah bebas dari pelarutnya, yaitu etanol 70% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Uji bebas etanol dilakukan pada ekstrak hasil maserasi dengan tujuan mengetahui ekstrak yang sudah peroleh benar-benar terbebas dari etanol, sehingga saat digunakan sebagai uji antijamur bukan etanol yang membunuh jamur melainkan ekstrak binahongnya.

## 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong

Ekstrak daun binahong sebelum digunakan dalam penelitian dilakukan identifikasi kandungan ekstrak dan fraksi untuk memastikan adanya senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid. Hasil identifikasi kandungan kimia ekstrak etanolik daun binahong dapat dilihat pada tabel 6.

**Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong**

Senyawa	Identifikasi	Hasil		Keterangan	
		Pengamatan	Pustaka	Ekstrak	Fraksi teraktif
Flavonoid	Ekstrak, fraksi teraktif 0,5 gram + 10 mL air panas, didihkan 5 menit disaring. Filtrat + 0,5 g serbuk Mg + 1 mL HCl 2N + amil alkohol	Larutan berwarna merah pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif bila timbul warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1978)	(+)	(+)
	Ekstrak, fraksi teraktif 0,5 gram + 1 ml asam klorida 2N dan 9 ml air, dipanaskan 2 menit, saring, masukan ke dalam 1 ml tabung reaksi + dragendorf terjadi endapan coklat sampai hitam	Terbentuk kekeruhan atau endapan warna coklat hitam dan ada endapan kuning	Kekeruhan atau endapan warna coklat (Depkes 1978)	(+)	(+)
Saponin	Ekstrak, fraksi teraktif 0,5 gram dilarutkan kedalam 20 mL air panas, kocok dengan kuat + 1 tetes HCl 2N	Terdapat busa yang mantap + HCl, busa tidak hilang selama 30 menit setinggi 2,5 cm	Terdapat busa yang mantap setinggi 1-5cm + HCl, busa tidak hilang selama 30 menit (Depkes 1978)	(+)	(+)
Terpenoid	Ekstrak, fraksi teraktif 0,5 gram + 0,5 ml kloroform + 0,5 ml anhidrida asetat + 2 ml H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> pekat tetes	Terbentuk warna coklat kemerahan	Terbentuk warna cokelat kemerahan	(+)	(-)

Keterangan : (+) = Terbentuk perubahan

(-) = Tidak terbentuk perubahan

Berdasarkan tabel di atas, terbukti bahwa ekstrak etanolik 70% daun binahong mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan terpenoid. Sementara, fraksi teraktif daun binahong mengandung flavonoid, alkaloid dan saponin.

## 7. Hasil fraksinasi dari ekstrak etanolik daun binahong

Ekstrak daun binahong yang diperoleh dari hasil maserasi, kemudian ditimbang sebanyak 10 gram untuk dilakukan fraksinasi. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali replikasi. Tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan golongan senyawa dari golongan yang lain berdasarkan polaritasnya. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat dan air. *n*-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar, dan air bersifat polar. Ekstrak ditimbang 10 gram kemudian dilarutkan dengan etanol:air (1:1), setelah larut sempurna ditambahkan *n*-heksan 75 ml dan dilakukan penggojogan selama 10 menit, sesekali corong pisah dibuka untuk mengeluarkan gas. Residu dari *n*-heksan kemudian dilanjutkan kembali menggunakan etil asetat dengan cara yang sama. Fraksinasi dilakukan replikasi sebanyak 3 kali agar senyawa yang terkandung dalam ekstrak dapat benar-benar tertarik dalam pelarut. Hasil fraksi *n*-heksan dan etil asetat terletak diatas sedangkan fraksi air terletak dibawah, hal ini dikarenakan air memiliki berat jenis yang lebih besar dibandingkan *n*-heksan dan etil asetat. Hasil fraksinasi daun binahong dapat dilihat pada tabel 7. Perhitungan rendemen fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 11.

**Tabel 7. Hasil fraksinasi dari ekstrak etanolik daun binahong**

Nama Pelarut	Bobot ekstrak (gram)	Bobot Fraksi (gram)	Persen rendemen (%)
<i>N</i> - heksan	30	2,19	7,3
Etil asetat	30	2,58	8,6
Air	30	6,84	22,8

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa perhitungan rendemen yang didapat pada setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanolik daun binahong. Rendemen fraksi air lebih besar dibandingkan fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat, sedangkan fraksi etil asetat lebih besar dari pada *n*-heksan. Air telah diketahui bersifat polar sehingga dapat diketahui bahwa senyawa yang terkandung dalam daun binahong lebih banyak mengandung senyawa yang bersifat polar. Organoleptis fraksi *n*-heksan berwarna kehijauan, fraksi etil asetat berwarna hijau tua dan fraksi air berwarna cokelat.

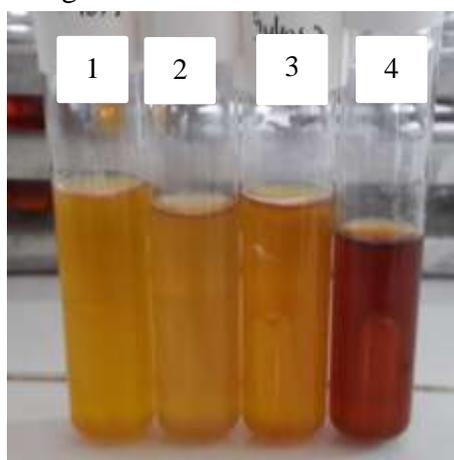
### 8. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan 3 cara, yaitu pertama identifikasi pada media selektif, kedua identifikasi mikroskopis, dan yang ketiga identifikasi biokimia. Tujuan dilakukannya identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 untuk memastikan bahwa jamur yang akan digunakan dalam penelitian benar jamur *Candida albicans* ATCC 10231.



**Gambar 6.** Hasil isolasi *Candida albicans* ATCC 10231 pada media SGA pada suhu 37°C selama 24-48 jam

Identifikasi pada media SGA yang telah ditambahkan kloramfenikol yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam umumnya secara makroskopis menunjukkan terbentuknya koloni-koloni lunak putih kekuningan, yang mempunyai bau seperti ragi dan berbentuk bulat.



Keterangan :

1 = Maltosa

2 = Sukrosa

3 = Glukosa

4 = Laktosa

**Gambar 7.** Identifikasi biokimia terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi *Candida albicans* dengan uji biokimia menunjukkan adanya perubahan warna merah menjadi kuning pada reaksi asimilasi dan fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung Durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi, jamur ini menunjukkan reaksi asam dan gas pada glukosa dan maltosa, terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada sukrosa dan tidak terjadi proses fermentasi dan asimilasi pada medium laktosa. Pada gambar gas yang terbentuk tidak begitu jelas dikarenakan gas berada diatas tabung durham dan ukuran gas tidak terlalu besar. Proses fermentasi jamur ini juga dapat dilakukan dalam suasana anaerob dan aerob. Karbohidrat yang berada dalam larutan gula dapat digunakan untuk metabolisme sel dengan cara mengubahnya menjadi CO<sub>2</sub> dan H<sub>2</sub>O dalam suasana aerob. Pada suasana anerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO<sub>2</sub>. Proses akhir fermentasi jamur ini menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan dalam proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, *Candida albicans* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon maupun energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Tjampaksari 2006).

Berdasarkan dari hasil pengujian identifikasi yang telah dilakukan kemudian dibandingkan dengan pustaka menunjukkan bahwa jamur yang diamati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

## **9. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara difusi**

Pengujian aktivitas antijamur menggunakan metode difusi bertujuan untuk mengetahui hambatan pertumbuhan dari biakan jamur uji. Hasil dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun binahong dilakukan pengujian aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 untuk mengetahui fraksi paling aktif.

Pengujian aktivitas antijamur dari fraksi daun binahong dilakukan terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan pembanding kontrol positif ketokonazol, kontrol negatif DMSO 1%. Pembuatan suspensi jamur uji disesuaikan dengan kekeruhan standart MC Farland 0,5. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan disk cakram, sebelumnya larutan uji diteteskan sebanyak 30 µl kedalam disk

tersebut. Masa inkubasi selama 23-48 jam pada suhu 37°C, ada tidaknya daya hambat diamati dalam ukuran milimeter (mm). Daerah yang tidak ditumbuhi jamur di sekitar disk yang menandakan bahwa kandungan kimia daun binahong memiliki daya hambat terhadap jamur uji.

Konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi menyebabkan terbentuknya zona jernih atau zona hambatan yang semakin besar. Semakin pekat konsentrasi suatu ekstrak, maka senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut semakin banyak, sehingga memberikan pengaruh terhadap diameter zona jernih atau zona hambat yang terbentuk (Ajizah 2004). Pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 menunjukkan daya hambat, hal tersebut dibuktikan dengan adanya daerah jernih di sekitar disk yang tidak ditumbuhi jamur. Hasil diameter hambat dapat dilihat pada tabel 8. Gambar hasil metode difusi dapat dilihat pada lampiran 15.

**Tabel 8. Diameter hambat pada uji antijamur daun binahong terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 secara difusi**

Sampel	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Fraksi <i>N</i> -heksan	50%	13	13,2	13	13,07 ± 0,11
Fraksi Etil asetat	50%	15	14,3	14	14,43 ± 0,51
Fraksi Air	50%	19,8	19,5	19	19,43 ± 0,40
Ekstrak	50%	12,5	12	12,7	12,4 ± 0,36
Fraksi <i>N</i> -heksan	25%	11,2	11	11,6	11,27 ± 0,31
Fraksi Etil asetat	25%	12	12,7	12,3	12,33 ± 0,35
Fraksi Air	25%	15,8	15,3	15	15,37 ± 0,40
Ekstrak	25%	10	10,2	10,2	10,13 ± 0,12
Fraksi <i>N</i> -heksan	12,5%	0	0	0	0 ± 0
Fraksi Etil asetat	12,5%	0	0	0	0 ± 0
Fraksi Air	12,5%	12,4	12,6	12,4	12,47
Ekstrak	12,5%	0	0	0	0 ± 0
Kontrol (+)	2%	38,5	38,2	38	38,23 ± 0,25
Kontrol (-)	1%	0	0	0	0 ± 0

Keterangan :  
 Kontrol (-) : DMSO 1%  
 Kontrol (+) : Ketokonazol 2%

Hasil uji pada tabel 8 menunjukkan hasil penelitian bahwa fraksi air memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan ekstrak etanol. Pada tabel 8 dapat dilihat bahwa fraksi air dan kontrol positif (ketokonazol) lebih efektif dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231. Hasil rata-rata diameter hambat fraksi air dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5% berturut-turut adalah 19,43 mm, 15,37 mm, dan 12,47 mm, sedangkan kontrol positif (ketokonazole) konsentrasi 2% adalah 38,23 mm. Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi ini menggunakan kontrol negatif DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231.

Menurut Suriawiria (2005) dalam Pradana (2013), berdasarkan zona hambat yang terbentuk maka aktivitas antimikroba dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu lemah (zona hambat < 5 mm), sedang (zona hambat antara 5-10 mm), kuat (zona hambat > 20 mm). Daya hambat antijamur fraksi *n*-heksan pada konsentrasi 50% (13,07 mm), 25% (11,27 mm) termasuk sedang, sementara pada konsentrasi 12,5% (0 mm). Daya hambat antijamur fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% (14,45 mm), 25% (12,33 mm) termasuk sedang, sementara pada konsentrasi 12,5% (0 mm). Daya hambat antijamur fraksi air pada konsentrasi 50% (19,17 mm), 25% (15 mm), dan 12,5% (12,13 mm) termasuk sedang, sehingga diketahui bahwa konsentrasi 50% pada fraksi air merupakan konsentrasi efektif untuk menghambat jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Konsentrasi tersebut daya antijamurnya dikategorikan sedang dengan diameter hambat yang lebih besar dibandingkan dengan ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan dan fraksi etil asetat, untuk memastikan fraksi air adalah fraksi paling aktif maka dilanjutkan ke uji analisis data.

Perhitungan standar deviasi berfungsi untuk mengetahui besar perbedaan dari nilai sampel terhadap rata-rata dari jumlah keseluruhan obyek yang diamati. Standar deviasi juga menyatakan besarnya keragaman sampel. Suatu nilai deviasi yang lebih besar, maka akan memberikan arti bahwa titik data individu jauh dari nilai rata-rata. Pada tabel 8 nilai standar deviasi termasuk baik, karena nilainya kecil.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi diuji secara statistik Analisis of Varian (ANOVA) *oneway*. ANOVA *oneway* digunakan untuk membandingkan fraksi pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis ANOVA *oneway* adalah 50%, 25%, dan 12,5% ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun binahong. Kontrol positif dan kontrol negatif juga diikut sertakan dalam analisis ANOVA *oneway*. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan hubungan antara ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air serta kontrol positif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan.

Hasil uji *One-Sample Kolmogorove-Sminov* diperoleh signifikasi  $0,116 > 0,05$  maka  $H_0$  diterima, data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji *oneway* ANOVA tabel diameter hambat diperoleh  $F = 4152,567$  dengan probabilitas  $0,000 < 0,05$  yang berarti dari tiap sampel uji terdapat perbedaan nyata dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231. Berdasarkan tabel Tukey HSD terdapat tanda \* pada *Mean Difference*, tanda tersebut menunjukkan bahwa perbedaan diameter hambat aktivitas antijamur tersebut signifikan. Apabila tidak terdapat tanda \* maka diameter hambat aktivitas antijamur tidak signifikan yang berarti tidak memiliki perbedaan. Hasil analisis Tukey test dan Bonferroni test dapat dilihat pada lampiran 20.

Hasil *Homogeneous Subsets* terbagi dalam 8 subset, tabel ini bertujuan untuk mencari kelompok mana saja yang memiliki perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan. Subset 1 terdapat *n*-heksan 12,5%, etil asetat 12,5%, ekstrak 12,5%, dan DMSO 1%. Subset 2 terdapat ekstrak 25%. Subset 3 terdapat *n*-heksan 25%. Subset 4 terdapat etil asetat 25%, ekstrak 50%, air 12,5%, dan *n*-heksan 50%. Subset 5 terdapat etil asetat 50%. Subset 6 terdapat air 25%. Subset 7 terdapat air 50%. Subset 8 terdapat kontrol positif yaitu ketokonazol, dari berbagai subset diketahui bahwa subset 1-8 mempunyai beda nyata dalam penghambatan aktivitas antijamur, sehingga diketahui bahwa fraksi air 50% merupakan fraksi paling aktif. Hal ini berbeda dengan sediaan uji yang termasuk dalam satu subset tidak mempunyai beda secara signifikan dalam penghambatan aktivitas antijamur. Tabel *Homogeneous Subsets* dapat dilihat pada lampiran 22.

Fraksi air dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 mempunyai aktivitas antijamur terbesar dibandingkan dengan fraksi etil asetat, air dan ekstrak etanol daun binahong. Ekstrak etanol memiliki aktivitas penghambatan paling rendah, walaupun ekstrak etanol mampu menarik semua senyawa yang terkandung dalam daun binahong, akan tetapi senyawa-senyawa tersebut ternyata tidak mampu bekerja secara sinergis sehingga daya hambat yang terbentuk lebih kecil. Fraksi *n*-heksan mampu menarik senyawa terpenoid yang memiliki aktivitas antijamur yang belum bisa bekerja secara optimum sehingga aktivitas antijamurnya masih rendah. Fraksi air memiliki daya hambat paling besar terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, adanya kemungkinan fraksi air mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antijamur dibandingkan dengan fraksi yang lain. Senyawa aktif dalam fraksi air yaitu saponin, alkaloid, dan flavonoid. Hal ini diduga adanya kandungan senyawa kimia yang bersifat polar di dalam fraksi air yang lebih optimum untuk menghambat pertumbuhan jamur.

Flavonoid dalam bentuk glikosida mudah larut dalam air karena adanya gula yang terikat pada flavonoid, dengan demikian fraksi air merupakan pelarut yang baik untuk menarik glikosidanya. Rahmawati *et al.* (2012) berhasil mengisolasi senyawa 3,5,3',4'- tetrahidroksi flavanol yang diduga mempunyai aktivitas antimikroba, mekanisme kerjanya belum diketahui secara pasti. Hal ini juga diperkuat oleh Tian *et al.* (2009) menyatakan bahwa flavonoid dalam bentuk glikosida memiliki sifat yang efektif sebagai antijamur. Flavonoid berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel jamur. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis. Saponin yang terdapat dalam fraksi air diduga adalah saponin steroid dalam bentuk aglikon yaitu sapogenin. Sapogenin bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel yang memiliki aktivitas antijamur (Arif *et al.* 2009). Titis *et al.* (2013) berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak daun binahong. Isolat alkaloidnya adalah betanidin ( $C_{18}H_{16}N_2O_8$ ) yang bersifat membunuh mikroorganisme. Alkaloid merupakan

senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Rahayu *et al.* (2009) menambahkan bahwa alkaloid memiliki sifat basa pH > 7 dan pahit. Sifat basa ini kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur *Candida albicans*, karena jamur tersebut tumbuh pada pH 4,5 - 6,5 (Rosiska *et al* 2012). Mekanisme yang diduga pada alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel mikroorganisme, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Nimah *et al.* 2012).

*Candida albicans* mempunyai membran yang terdiri dari lipid dan protein, sehingga kemungkinan terjadi ikatan kompleks antara antimikroba dengan ergosterol yang terdapat dalam membran sel jamur tersebut. Lewat pori-pori inilah komponen dari isi sel jamur keluar seperti asam nukleat dan protein lainnya. Kemungkinan hal inilah yang menyebabkan fraksi air menjadi fraksi paling aktif. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 1%, dimana pelarut ini merupakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air. Berdasarkan hasil penelitian Diah *et al.* (2012) mengemukakan penggunaan DMSO diatas 5%-20% dapat menghambat aktivitas pertumbuhan jamur atau mikroorganisme lain. Maka dari itu DMSO 1% perlu diikuti sertakan dalam pengujian aktivitas antijamur. Hasil dari pengujian DMSO 1% tidak memiliki aktivitas sehingga daya hambat yang terbentuk benar-benar merupakan aktivitas dari masing-masing fraksi dan ekstrak etanol dari daun binahong.

#### **10. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara dilusi**

Pengujian antijamur kemudian dilanjutkan menggunakan metode dilusi, sediaan uji yang digunakan dalam metode ini adalah fraksi paling aktif dalam menghambat pertumbuhan jamur yang diperoleh dari metode difusi. Metode difusi berguna untuk mencari Konsentrasi hambat minimum dan Konsentrasi bunuh minimum menggunakan sediaan fraksi paling aktif yaitu fraksi air daun binahong. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,2%, 0,1%, kontrol positif dan kontrol negatif. Ketokonazol yang digunakan sebagai pembanding dalam metode difusi juga dilakukan pengujian aktivitas antijamur secara dilusi. Konsentrasi yang digunakan

dalam pengujian ketokonazol dimulai dari 2%, 1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,031%, 0,015%, 0,007%, 0,03%, kontrol positif dan kontrol negatif (Nanik *et al.* 2011).

Aktivitas antijamur diketahui dari kekeruhan masing-masing tabung uji yang kemudian digoreskan dalam media SGA. Konsentrasi hambat minimum dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih, akan tetapi hal ini sulit diamati karena warna dari larutan uji sendiri berwarna cokelat tua. Hal tersebut menyebabkan Konsentrasi hambat minimum tidak dapat ditentukan, sehingga untuk menentukan Konsentrasi bunuh minimum masing-masing tabung larutan uji dilakukan penggoresan pada media SGA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 9. Gambar hasil uji dilusi fraksi air dapat dilihat pada lampiran 18 dan uji dilusi ketokonazol pada lampiran 19.

**Tabel 9. Hasil uji dilusi fraksi air dan ketokonazol**

No	Konsentrasi (%)	Fraksi air Replikasi			Konsentrasi (%)	Ketokonazol Replikasi		
		I	II	III		I	II	III
1	50	-	-	-	2	-	-	-
2	25	-	-	-	1	-	-	-
3	12,5	-	-	-	0,5	-	-	-
4	6,25	+	+	+	0,25	-	-	-
5	3,125	+	+	+	0,125	-	-	-
6	1,56	+	+	+	0,0625	-	-	-
7	0,78	+	+	+	0,031	+	+	+
8	0,39	+	+	+	0,015	+	+	+
9	0,19	+	+	+	0,007	+	+	+
10	0,09	+	+	+	0,03	+	+	+
11	K (+)	+	+	+	K (+)	+	+	+
12	K (-)	-	-	-	K (-)	-	-	-

Keterangan:

(+) = terdapat pertumbuhan jamur

(-) = tidak terdapat pertumbuhan jamur

Hasil dari pengujian aktivitas antijamur yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa fraksi air mampu membunuh *Candida albicans* ATCC 1023 pada konsentrasi 0,125%, sedangkan ketokonazol mampu membunuh pada konsentrasi 0,0625%. Semakin tinggi konsentrasi sediaan uji maka semakin tinggi pula kandungan zat aktif di dalamnya sehingga aktivitas antijamur akan semakin bertambah. Sediaan uji yang memiliki konsentrasi bunuh minimum semakin kecil,

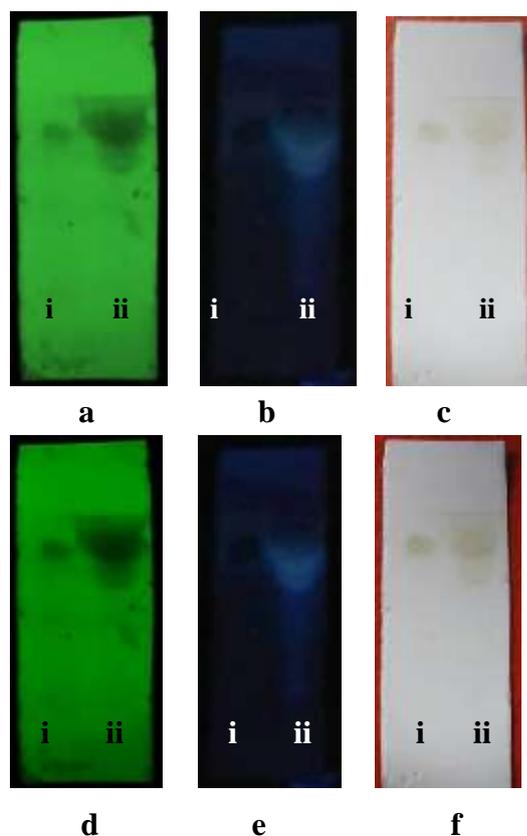
menandakan semakin potensialnya sediaan tersebut sebagai antijamur karena dengan konsentrasi kecil sediaan uji sudah dapat membunuh jamur.

Berdasarkan hasil tersebut dapat diketahui bahwa fraksi etil asetat dari daun binahong belum mampu mengalahkan obat sintetik yaitu ketokonazol. Mekanisme kerja ketokonazol yaitu menghambat jamur dengan biosintesis lipid jamur, terutama ergosterol pada membran sel. Konsentrasi bunuh minimum ditentukan dengan konsentrasi paling rendah yang tidak ditumbuhi koloni jamur berwarna putih kekuningan pada media SGA.

### **11. Hasil identifikasi fraksi teraktif secara KLT**

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji KLT hanya dilakukan pada fraksi air karena fraksi ini mempunyai aktivitas antijamur paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, fraksi air memiliki zona hambat paling besar diantara fraksi n-heksan, etil asetat dan ekstrak etanol. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi air. Sebelum dilakukan identifikasi senyawa menggunakan KLT terlebih dahulu identifikasi secara kualitatif. Hasil identifikasi kualitatif menunjukkan bahwa fraksi air memberikan hasil positif terhadap flavonoid, alkaloid, dan saponin.

Hasil identifikasi senyawa flavonoid menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform : metanol (9:1) dengan pereaksi semprot sitoborat. Standar baku yang dipakai untuk identifikasi senyawa flavonoid yaitu standart baku senyawa quercetin. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid berdasarkan gambar 10 menghasilkan bercak setelah dideteksi pada sinar UV 254 nm terlihat peredaman flouresensi diatas latar belakang hijau dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan flouresensi warna kuning dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning kecokelatan. Nilai Rf sampel fraksi air senyawa flavonoid sebesar 0,73 dan nilai Rf standar baku senyawa quercetin sebesar 0,8. Nilai Rf antara sampel fraksi air senyawa flavonoid dan Rf standar baku senyawa quercetin menunjukkan nilai yang hampir sama dan bercak yang ditunjukkan juga berwarna sama.

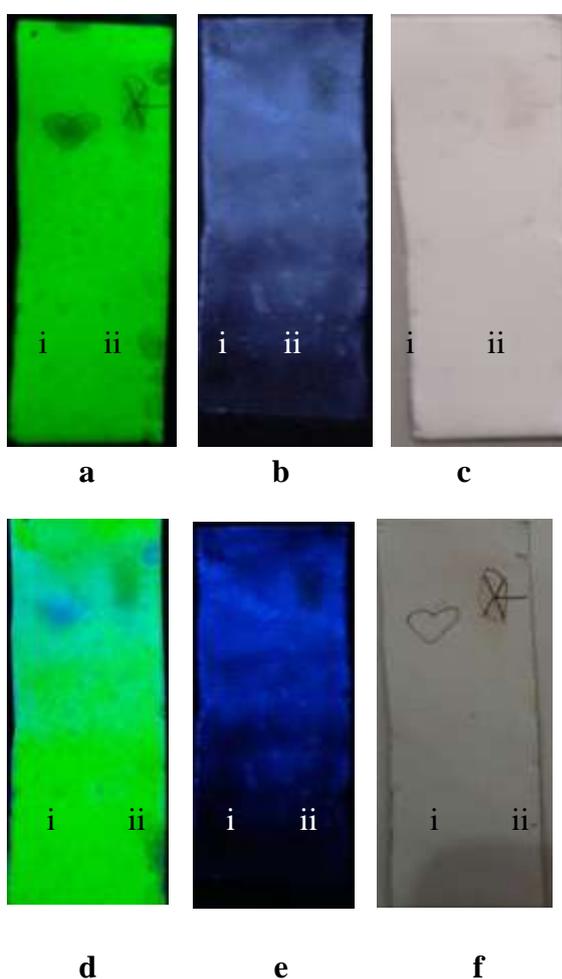


**Gambar 8. Hasil identifikasi senyawa flavonoid**

Keterangan : a. Hasil KLT pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot sitoborat  
 b. Hasil KLT pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot sitoborat  
 c. Hasil KLT pada sinar tampak sebelum disemprot sitoborat  
 d. Hasil KLT pada sinar UV 254 nm setelah disemprot sitoborat  
 e. Hasil KLT pada sinar UV 366 nm setelah disemprot sitoborat  
 f. Hasil KLT pada sinar tampak setelah disemprot sitoborat  
 i. Standart baku senyawa quercetin  
 ii. Sampel fraksi air

Hasil identifikasi senyawa alkaloid menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak etanol : etil asetat : *n*-heksan (30:2:1) dengan pereaksi semprot dragendorff. Standar baku yang dipakai untuk identifikasi senyawa flavonoid yaitu standart baku senyawa kofein. Hasil identifikasi golongan senyawa alkaloid berdasarkan gambar 8 menghasilkan bercak setelah dideteksi pada sinar UV 254 nm terlihat peredaman fluoresensi diatas latar belakang hijau dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna hijau dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna jingga. Bercak berwarna jingga ini menandakan adanya senyawa golongan alkaloid (Harborne 2007). Nilai Rf sampel

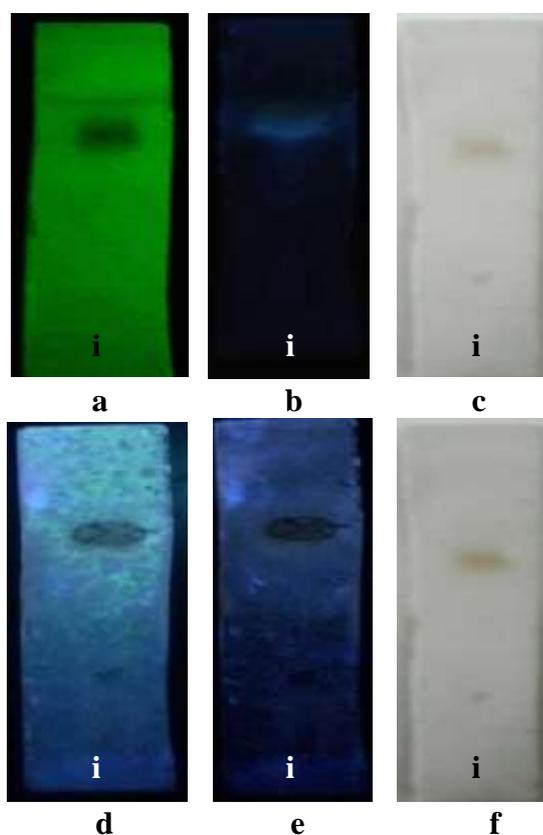
fraksi air senyawa alkaloid sebesar 0,76 dan nilai Rf standar baku senyawa kafein sebesar 0,73. Nilai Rf antara sampel fraksi air senyawa alkaloid dan Rf standar baku senyawa kafein menunjukkan nilai yang hampir sama dan bercak yang ditunjukkan juga berwarna sama. Pemanding quercetin yang digunakan dalam analisis belum tentu senyawa spesifik dari daun binahong, quercetin digunakan untuk menunjukkan bahwa kandungan flavonoid dari daun binahong tidak jauh dari jenis flavonoid.



**Gambar 9. Hasil identifikasi senyawa alkaloid**

- Keterangan :
- a. Hasil KLT pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot dragendorf
  - b. Hasil KLT pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot dragendorf
  - c. Hasil KLT pada sinar tampak sebelum disemprot dragendorf
  - d. Hasil KLT pada sinar UV 254 nm setelah disemprot dragendorf
  - e. Hasil KLT pada sinar UV 366 nm setelah disemprot dragendorf
  - f. Hasil KLT pada sinar tampak setelah disemprot dragendorf
  - i. Standart baku senyawa kafein
  - ii. Sampel fraksi air

Hasil identifikasi senyawa saponin menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform : metanol : air (13:7:2) dengan pereaksi semprot Liberman Bourchardat (LB). Hasil identifikasi golongan senyawa saponin berdasarkan gambar 9 menghasilkan bercak setelah dideteksi pada sinar UV 254 nm terlihat peredaman fluoresensi diatas latar belakang hijau dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan bercak noda gelap atau ungu dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak kuning kecoklatan. Senyawa saponin akan terlihat bercak berwarna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau, kuning coklat atau noda gelap pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Pada sinar tampak bercak berwarna merah, kuning, biru tua, ungu, hijau atau kuning coklat (Pratama *et al* 2012). Nilai Rf sampel fraksi air senyawa saponin sebesar 0,79. Pembanding kafein yang digunakan dalam analisis belum tentu senyawa spesifik dari daun binahong, kafein digunakan untuk menunjukkan bahwa kandungan alkaloid dari daun binahong tidak jauh dari jenis alkaloid lain.



Gambar 10. Hasil identifikasi senyawa saponin

- Keterangan :
- a. Hasil KLT pada sinar UV 254 nm sebelum disemprot LB
  - b. Hasil KLT pada sinar UV 366 nm sebelum disemprot LB
  - c. Hasil KLT pada sinar tampak sebelum disemprot LB
  - d. Hasil KLT pada sinar UV 254 nm setelah disemprot LB
  - e. Hasil KLT pada sinar UV 366 nm setelah disemprot LB
  - f. Hasil KLT pada sinar tampak setelah disemprot LB
  - i. Sampel fraksi air

Flavonoid dalam bentuk glikosida mudah larut dalam air karena adanya gula yang terikat pada flavonoid, dengan demikian fraksi air merupakan pelarut yang baik untuk menarik glikosidanya. Rahmawati *et al.* (2012) berhasil mengisolasi senyawa 3,5,3',4'- tetrahidroksi flavanol yang diduga mempunyai aktivitas antimikroba, mekanisme kerjanya belum diketahui secara pasti. Hal ini juga diperkuat oleh Tian *et al.* (2009) menyatakan bahwa flavonoid dalam bentuk glikosida memiliki sifat yang efektif sebagai antijamur. Flavonoid berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel jamur. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis. Saponin yang terdapat dalam fraksi air diduga adalah saponin steroid dalam bentuk aglikon yaitu sapogenin. Sapogenin berifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik maka saponin dapat membentuk busa dan merusak membran sel karena bisa membentuk ikatan dengan lipida dari membran sel yang memiliki aktivitas antijamur (Arif *et al.* 2009). Titis *et al.* (2013) berhasil mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa alkaloid pada ekstrak daun binahong. Isolat alkaloidnya adalah betanidin ( $C_{18}H_{16}N_2O_8$ ) yang bersifat membunuh mikroorganisme. Alkaloid merupakan senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen. Rahayu *et al.* (2009) menambahkan bahwa alkaloid memiliki sifat basa pH > 7 dan pahit. Sifat basa ini kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur *Candida albicans*, karena jamur tersebut tumbuh pada pH 4,5 - 6,5 (Rosiska *et al.* 2012). Mekanisme yang diduga pada alkaloid dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel mikroorganisme, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut (Nimah *et al.* 2012).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN PENUTUP**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, fraksi air dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) merupakan fraksi paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, fraksi air mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM) 12,5%.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji aktivitas antimikroba daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap mikroorganisme lainnya.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa aktif dari fraksi air ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, pengambilan sampel daun binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) untuk penelitian selanjutnya, sebaiknya dilakukan pada sore hari dan musim kemarau untuk menghindari proses *leaching*.

## DAFTAR PUSTAKA

- Aini. 2012. Aktivitas Antibakteri Ekstrak n-Heksan, Etil Asetat, dan Etanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa* Secara *In Vitro* [Skripsi]. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember.
- Ajizah A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* Terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* *Jurnal Biologi Pertanian* 1:31-8.
- Anggara, ED., dkk. 2014. *Uji Aktivitas Antifungi Fraksi Etanol Infusa Daun Kepel (Stelechocarpus Burahol, Hook F&Th.) terhadap Candida albicans.* Yogyakarta: Univesitas Muhammadiyah Semarang.
- Anindita, W. 2006. Faktor Risiko Kejadian Kandidiasis Vaginalis pada Akseptor KB. *The Indonesian Journal of Public Health.* Vol. 3. No.1. Juli. 2006. 24-28.
- Ansel, HC. 1989. *Bentuk Sediaan Farmasi.* Diterjemahkan oleh Ibrahim F., Edisi IV. UI Press. Jakarta. 605, 607-608.
- Arif R, Sri W, Ike Yulia W. 2009. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponi Ekstrak Metanol Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Bogor: Program Studi Farmasi, Universitas Pakuan.
- Astuti SM. 2012. *Skrining Fitokimia dan Uji Aktifitas Antibiotika Ekstrak Etanol Daun, Batang, Bunga dan Umbi Tanaman (Anredera cordifolia (Ten.) Steenis).* Universitas Malaysia Pahang (UMP).
- Boyer Rodney. 2009. *Biochemistry Laboratory: Modern Theory adn Techniques.* San Fransisco: *Benjamin Cummings.* hlm 124, 128.
- Chapagain BP & Wiesman Z. 2005. Larvicidal Activity of the Friut Mesocarp Extract of *Balanites aegyptiaca* and its Saponin Fractions against *Aedes aegypti.* *Dengue Bulletin* 29:85-88.
- Departemen Kesehatan. 1978. *Materia Medika Indonesia.* Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 1979. *Materia Medika Indonesia.* Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Departemen Kesehatan. 1986. *Sediaan Galenik.* Ed ke-3. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. Hlm 4-11, 25-26.
- Departemen Kesehatan. 1987. *Sediaan Galenik.* Jilid I. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.

- Departemen Kesehatan. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hlm 3-11.
- Departemen Kesehatan. 2003. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid VI. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hlm 76-77.
- Departemen Kesehatan. 2005. *Materia Medika Indonesia*. Jilid III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta. hlm 301-304.
- Departemen Kesehatan. 2008. *Pengelolaan Pasca Panen Tanaman Obat*. Balai Penelitian Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Diah H, Maipa D, Marlina, Meilan. 2012. Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut dari Perairan Pantai Painan Sumatera Barat. Sumatera Barat: Fakultas Farmasi Universitas Andalas Madang.
- Dyah Palupi D. 2012. Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum* [Skripsi]. Jember: Fakultas Biologi Universitas Jember.
- Fardiaz. 1992. *Mikrobiologi Pangan I*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Farouq. 2003. *Ekstrak sebagai Salah Satu Pengembangan Bentuk Obat Tradisional*. Seminar POKJANAS TOI XXIII. Jakarta: Universitas Pancasila. hlm 12.
- Gunawan D & Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid 1. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan SG. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. Ed ke-5. Jakarta: UI Press.
- Harborne JB. 2007. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Ed ke-4. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah; Bandung: ITB Press.
- Hariana A. 2008. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya*. Ed ke-2. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Hambali, Erliza, dan Ariyanti. 2005. *Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe bardadensis* Miller) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922*. *Jurnal Biologi* 1:1-4.
- Jawetz E, Melnickm JL, Adelberg EA. 2007. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Aryandhito WN, Dian R, penerjemah. Ed ke-26. Jakarta: ECG.
- Jawetz E, Melnickm JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Aryandhito WN, Dian R, penerjemah. Ed ke-25. Jakarta: ECG.

- Katno, Dyah S, Rohmat M, Harto W. 2006. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Ed ke-6. Jakarta: Departemen Kesehatan Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Balai Penelitian Tanaman Obat. hlm 16-17.
- Katzung BG. 2010. Ed ke-10. Dr. Widhi Aryandhito N penerjemah; Jakarta: EGC.
- Kemenkes RI. (2011). *Suplemen II Farmakope Herbal Indonesia*. Edisi I. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim S & Sudbery P. 2011. *Candida albican*, a Major Human Fungal Pathogen. *The Journal of Microbiology* 49(2):171-177.
- Koes I. 2014. *Bakteriologi medis, Mikrobiologi medis dan Virologi medis*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Pradana, dkk.,. 2013. Uji Daya Hambat Ekstrak Kulit Batang *Rhizophora mucronata* Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Aeromonas hydrophila*, *Streptococcus agalactiae* dan Jamur *Saprolegnia sp* Secara In Vitro. Medan: Departemen Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Sumatera Utara.
- Lusia O. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Kefarmasian*. Fakultas Farmasi Universitas Jember 1:1-7.
- Maria Magdalena S. *Candida albicans*. USU Repository; 2009.
- Markham KR. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Koasasih Padmawinata penerjemah; Bandung: Penerbit ITB.
- Manoi F & Balitro. 2009. *Binahong (Anredera Cordifolia) Sebagai Obat*. Bogor: Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan.
- Mus. 2009. Informasi Spesies Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). [www.plantamor.com/spcdtail.php?recid=1387](http://www.plantamor.com/spcdtail.php?recid=1387). [18 Juli 2016].
- Nanik Sulistyani *et al.* 2012. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) Terhadap *Shigella flexneri* berserta Profil Kromatografi Lapis Tipis. *Jurnal Ilmiah Kefarmasian* 2(1):1-16.
- Natta L, Opapin, Kartika dan Pantip. 2008. Essensial Oil from Zingiberaceae for Anti FoodBorne Bacteria. *International Food Research Journal* 15(3):337-346
- Nimah S, WF Ma'ruf, A Trianto. 2012. Uji aktivitas ekstrak teripang pasir (*Holothuria scabra*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Perikanan* 1(2):1-9.
- Nita Rochani. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen.) terhadap *Candida albicans* serta Skrining

- Fitokimianya [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Peleczar MI & Chan ECS. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Ratna Siri hadioetomo, dkk penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Prastowo EA. 2013. *Standarisasi Simplisia*. Surabaya: Universitas Airlangga.
- Pratama MA, Hosea JE dan Jovie MD. 2012. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Saponin dari Ekstrak Metanol Batang Pisang Ambon (*Musa paradisiaca* var. *Sapientum* L.). *Pharmacon* 1(2):86-92.
- Pratiwi SI. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Rahayu T & Rahayu. 2009. Uji Antijamur Kombucha Coffee Terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi*. 10 (1) : 10 – 17.
- Rahmawati, Lina., Enny, F. Dewi, K. 2012. Isolasi, Identifikasi dan Uji Antioksidan Senyawa Flavonoid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). Semarang : Universitas Diponegoro. E-journal UNDIP. <http://www.ejournal-s1.undip.ac.id>. [3 April 2017].
- Recio M. Et al. 1998. *Journal of Echomopharmacology*. Madrid. Departement to de Farmacia Universidad Chomphetense.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Ed ke-5. Padmawinata K penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituents Of Higher Plants*.
- Rohman A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar. Yogyakarta. hlm 164, 378.
- Rosiska L, Widodo FM, Eko ND. 2012. Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak *Gelidium latifolium* terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Pengolahan dan Bioteknik Hasil Perikanan*. 1 (1) : 1-8.
- Sarker SD, Zahid L, Alexander IG. 2005. *Natural Products Isolation Second Edition*. *Humana Press*.
- Setyowati WA, Sri RDA, Ashadi, Bakti Mulyani, Cici PR. 2014. *Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian (Durio zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. *Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan VI*. ISBN : 9779373174-0 : 271-280.
- Siswandono & Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Ed ke-2. Surabaya: Airlangga University Press.

- Simatupang MM. *Candida albicans*. USU Repository; 2009.
- Srisasi G, H Herry DI, Wita P. 2000. *Parasitologi Kedokteran*. Ed ke-3. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Sodin, Bandung Penerbit ITB. hlm 3-18.
- Sudewo B. 2010. *Basmi Penyakit dengan Sirih Merah*. Cetakan 2. Argo Media Pustaka. Jakarta.
- Suprihatin S. 1995. *Candida dan Kandidiasis Pada Manusia*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI Press. hlm 4-28.
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta: Papas Sinar Sinanti.
- Suyoso, Sunarso. 2015. *Kandidiasis Mukosa*. Surabaya: Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan RSUD Dr. Soetomo.
- Thomson RH. 2008. *The Chemistri Of Natural Product. 2 Edition. Chapman and hall ltd.glasgow, UK*. hlm 209-211.
- Tian F *et al.* 2009. Antioxidant and Antimicrobial Activities of Consecutive Extracts from *Galla chinensis* The Polarity Effect The Bioactivities. *Food Chemistry* 113: 173-179.
- Titis M, Eny F, Dewi K. 2013. Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis). *Chem info*. 1(1): 196-120.
- Tjampakasari CR. 2006. *Karakteristik Candida albicans*. Jakarta: Universitas Indonesia.
- Tshikalange TE, Meyer JJM and Hussein AA. 2005. Antimicrobial Activity, Toxicity and the Isolation of Bioactive Compound from Plants Used to Treat Sexually Transmitted Disease. *J Ethnopharmacol* 96: 515-519.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. S. Noerono penerjemah; Yogyakarta: Gadjah Mada Univesity Press.
- Wanenoer. 2010. *Patogenesis*. Jakarta.

## Lampiran 1. Hasil determinasi tanaman binahong



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI DAN PENDIDIKAN TINGGI  
UNIVERSITAS SEBELAS MARET  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
**LAB. PROGRAM STUDI BIOLOGI**  
Jl. Ir. Sutami 36A Kentingan Surakarta 57126 Telp. (0271) 663375 Fax (0271) 663375  
http://www.biology.mipa.uns.ac.id, E-mail biologi @ mipa.uns.ac.id

Nomor : 016/UN27.9.6.4/Lab/2017  
Hal : Hasil Determinasi Tumbuhan  
Lampiran : -

Nama Pemesan : Setianingsih  
NIM : 19133992A  
Alamat : Program Studi S1 Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta

### HASIL DETERMINASI TUMBUHAN

Nama Sampel : *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis  
Familia : Basellaceae

Hasil Determinasi menurut C.A. Backer & R.C. Bakhuizen van den Brink, Jr.(1963) :

1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31b-403b-404b-405b-414a-415b-451b-466b-467b-468b-469b-470e-541a \_\_\_\_\_ 49. Basellaceae  
1b \_\_\_\_\_ 2. *Anredera*  
1 \_\_\_\_\_ *Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis

#### Deskripsi Tumbuhan :

Habitus : terna, menahun, merambat, tinggi 1-3 m. Akar : tunggang, bercabang, berdaging lunak, putih kotor atau putih kekuningan atau coklat muda. Batang : bentuk bulat, lunak berair, membelit, kulit batang berwarna merah, permukaan licin dan gundul, panjang bisa mencapai 20-30 m, diameter 3.5 cm. Umbi : muncul di ketiak daun, berbentuk bulat, permukaan kasar, kulit umbi berwarna hijau kecoklatan, daging umbi berwarna putih, panjang 5-7 cm, diameter 1-4 cm. Daun : tunggal, letak berseling, bentuk bulat telur atau jantung, panjang 1-11 cm, lebar 0.75-8 cm, pangkal berlekuk, tepi daun rata, ujung runcing atau tumpul, permukaan licin dan gundul, tulang daun menyirip, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda; tangkai daun bulat, licin dan gundul, panjang tangkai daun 1-3 cm. Bunga : majemuk tipe tandan yang, bercabang atau tidak di ketiak daun, terdiri atas banyak kuntum bunga, bunga kecil-kecil, berbau harum, berkelamin benci (biseksual) atau berkelamin satu (uniseksual), bagian-bagian bunga berbilangan 5; panjang tangkai bunga 1.5-2 mm; brakteola paling bawah bulat telur segitiga, kemerah-merahan; brakteola paling atas putih kehijauan, lebih pendek daripada perhiasan bunga; perhiasan bunga dalam bentuk tepala (tidak bisa dibedakan kelopak bunga dan mahkota bunga), berjumlah 5, bulat telur, diameter 5.5-8 mm, ujungnya tumpul, berlepasan, berwarna krem keputih-putihan; tangkai sari putih, tangkai putik putih.

Surakarta, 4 Januari 2017

Penanggungjawab  
Determinasi Tumbuhan

Suratman, S.Si., M.Si.  
NIP. 19800705 200212 1 002



Mengetahui,  
Kepala Program Studi Biologi FMIPA UNS

Dr. Ratna Setyaningsih, M.Si.  
NIP. 19660714 199903 2 001

**Lampiran 2. Tanaman dan serbuk daun binahong (*Anredera cordifolia*  
(Ten.) Steenis)**



**Lampiran 3. Serangkaian proses maserasi**

Daun binahong basah



Oven



Simplisia daun binahong



Mesin penggiling



Ayakan 40



Botol gelap



Penyaringan ekstrak



*Rotary Evaporator*

**Lampiran 4. Penetapan kadar air serbuk daun binahong dan uji bebas alkohol ekstrak binahong**



Penetapan kadar air serbuk daun binahong



Uji bebas alkohol ekstrak binahong

**Lampiran 5. Identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak dan fraksi teraktif daun binahong**

**Ekstrak**



Flavonoid



Alkaloid



Saponin



Terpenoid

**Fraksi teraktif (Fraksi air)**



Flavonoid



Alkaloid



Saponin

**Lampiran 6. Fraksinasi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air**



N-heksan

Air



Etil asetat

Air

**Lampiran 7. Ekstrak, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air**



Ekstrak



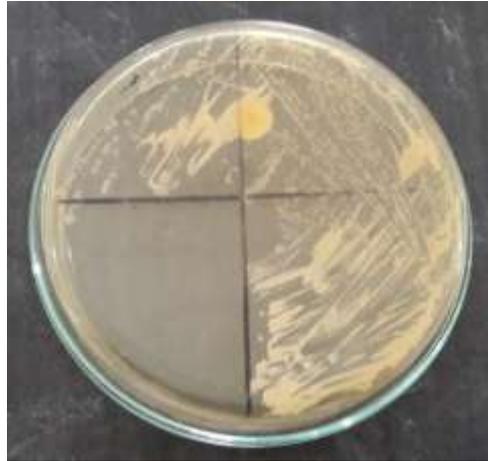
Fraksi *n*-heksan



Fraksi etil asetat



Fraksi air

**Lampiran 8. Hasil identifikasi *Candida Albicans* ATCC 10231**

Koloni pada media SGA



Uji biokimia

*Candida albicans* ATCC 10231

**Lampiran 9. Hasil perhitungan persentase bobot kering terhadap bobot basah daun binahong**

No.	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Persentase (%)
1.	4000	900	22,5

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan prosentase bobot kering} &= \frac{\text{bobot kering (kg)}}{\text{bobot basah (kg)}} \times 100\% \\ &= \frac{900}{4000} \times 100 \% \\ &= 22,5 \%\end{aligned}$$

**Lampiran 10. Rendemen ekstrak etanolik daun binahong**

Serbuk daun binahong (gram)	Ekstrak kental (gram)	Rendemen(%)
400	82,96	20,74

$$\begin{aligned}\% \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{83,71}{400} \times 100\% \\ &= 20,74\%\end{aligned}$$

### Lampiran 11. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi

Nama Pelarut	Bobot ekstrak (gram)	Bobot Fraksi (gram)	Persen rendemen (%)
<i>N</i> - heksan	30	2,19	7,3
Etil asetat	30	2,58	8,6
Air	30	6,84	22,8

$$\text{Perhitungan rendemen fraksi} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak (g)}} \times 100\%$$

#### 1. Fraksi *n*-heksan

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi} &= \frac{2,19}{30} \times 100\% \\ &= 7,3\% \end{aligned}$$

#### 2. Fraksi etil asetat

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi} &= \frac{2,58}{30} \times 100\% \\ &= 8,6\% \end{aligned}$$

#### 3. Fraksi air

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi} &= \frac{6,84}{30} \times 100\% \\ &= 22,8\% \end{aligned}$$

**Lampiran 12. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air metode difusi**

1. Konsentrasi 50 %

Menimbang 1 gram ekstrak dilarutkan dengan DMSO 1 % sampai 2 ml

2. Konsentrasi 25 %

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 50\% = 1 \text{ ml} \cdot 25\%$$

$$V_1 \cdot 50\% = 25\%$$

$$V_1 = \frac{25\%}{50\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (50%) kemudian ditambah DMSO 1% sampai 1 ml

3. Konsentrasi 12,5 %

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \cdot 12,5\%$$

$$V_1 \cdot 25\% = 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Dipipet 0,5 ml dari sediaan awal (25%) kemudian ditambah DMSO 1% sampai 1 ml

### Lampiran 13. Pembuatan konsentrasi fraksi air metode dilusi

Fraksi air daun binahong

Menimbang 3 gram fraksi etil aset dalam vial dilarutkan dengan 6 ml DMSO 1%

No	Konsentrasi (%)	V1	C1	V2	C2	Keterangan
1	50	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	50	0,5	-	-	-	1 ml larutan stok
3	25	0,5	50	1	25	0,5 ml tab.2 + SGC ad 1 ml
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 ml tab.3 + SGC ad 1 ml
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 ml tab.4 + SGC ad 1 ml
6	3,125	0,5	6,25	1	3,125	0,5 ml tab.5 + SGC ad 1 ml
7	1,56	0,5	3,125	1	1,56	0,5 ml tab.6 + SGC ad 1 ml
8	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 ml tab.7 + SGC ad 1 ml
9	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 ml tab.8 + SGC ad 1 ml
10	0,19	0,5	0,39	1	0,19	0,5 ml tab.9 + SGC ad 1 ml
11	0,09	0,5	0,19	1	0,09	0,5 ml tab.10 + SGC ad 1 ml
12	-	-	-	-	-	1 ml suspensi jamur

Keterangan :

Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 3 = konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot C_1 = V_2 \cdot C_2$$

$$V_1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \cdot 12,5\%$$

$$V_1 \cdot 25\% = 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{12,5\%}{25\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

Tabung 11 diperoleh dari 0,5 ml tabung 10 ditambah SGC 0,5 ml kemudian di homogenkan dan dibuang 0,5 ml.

Tabung 12 = kontrol positif suspensi jamur 1 ml

Tabung 2 – 11 ditambah 0,5 ml suspensi jamur

#### Lampiran 14. Pembuatan konsentrasi dan dilusi ketokonazol

Pembuatan kontrol positif (ketokonazol) 2 %

Perhitungan :

Berat tablet ketokonazol = 330 mg (mengandung 200 mg ketokonazol)

$$\text{Tablet yang diperlukan} = \frac{x}{y} \times z$$

X = berat ketokonazol yang diperlukan

Y = ketokonazol tiap tablet

Z = berat rata-rata ketokonazol

$$\frac{200 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 330 \text{ mg} = 330 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} 2 \% &= 2000 \text{ g} / 100 \text{ ml} \\ &= 2000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 200 \text{ mg} / 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Satu tablet ketokonazol digerus halus kemudian tambahkan aquadest steril 10 ml.

No	Konsentrasi (%)	V1	C1	V2	C2	Keterangan
1	2	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	2	0,5	-	-	-	1 ml larutan stok
3	1	0,5	2	1	1	0,5 ml tab.2 + SGC ad 1 ml
4	0,5	0,5	1	1	0,5	0,5 ml tab.3 + SGC ad 1 ml
5	0,25	0,5	0,5	1	0,25	0,5 ml tab.4 + SGC ad 1 ml
6	0,125	0,5	0,25	1	0,125	0,5 ml tab.5 + SGC ad 1 ml
7	0,0625	0,5	0,125	1	0,0625	0,5 ml tab.6 + SGC ad 1 ml
8	0,031	0,5	0,0625	1	0,031	0,5 ml tab.7 + SGC ad 1 ml
9	0,015	0,5	0,031	1	0,015	0,5 ml tab.8 + SGC ad 1 ml
10	0,007	0,5	0,015	1	0,007	0,5 ml tab.9 + SGC ad 1 ml
11	0,003	0,5	0,007	1	0,003	0,5 ml tab.10 + SGC ad 1 ml
12	-	-	-	-	-	1 ml suspensi jamur

Keterangan :

Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 3 = konsentrasi 1%

V<sub>1</sub>. C<sub>1</sub> = V<sub>2</sub>. C<sub>2</sub>

V<sub>1</sub>. 2 % = 1 ml. 1%

$$V_1 \cdot 2\% = 1\%$$

$$V_1 = \frac{1\%}{2\%}$$

$$V_1 = 0,5 \text{ ml}$$

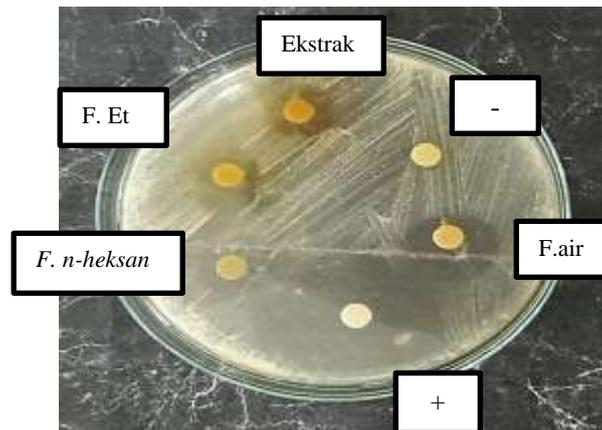
Tabung 11 diperoleh dari 0,5 ml tabung 10 ditambah SGC 0,5 ml kemudian di homogenkan dan dibuang 0,5 ml.

Tabung 12 = kontrol positif suspensi jamur 1 ml

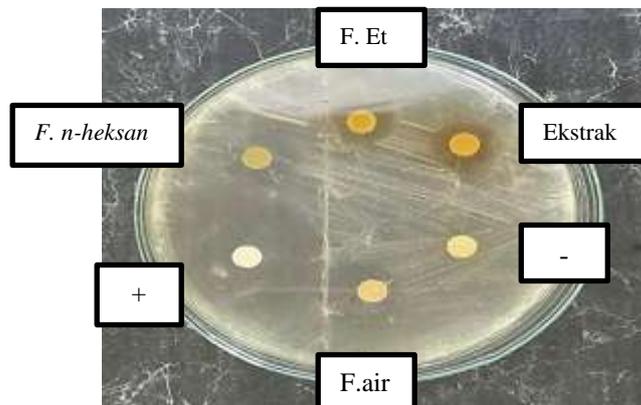
Tabung 2 – 11 ditambah 0,5 ml suspensi jamur

**Lampiran 5. Hasil uji aktivitas antijamur metode difusi****Uji difusi konsentrasi 50%**

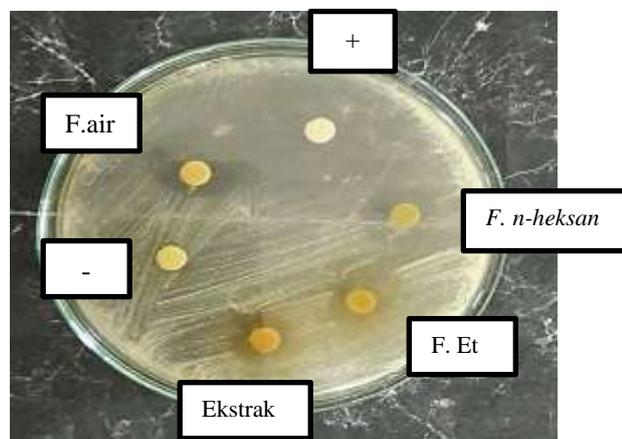
## Replikasi I



## Replikasi II

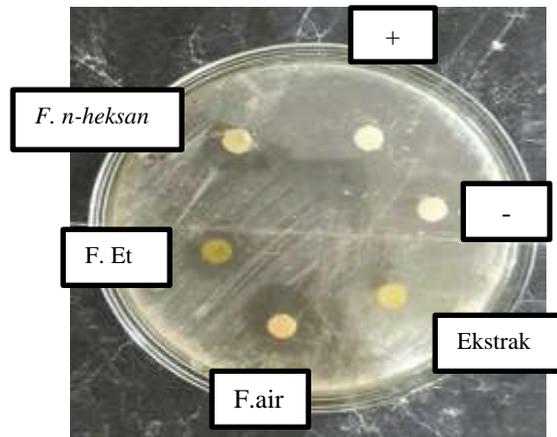


## Replikasi III

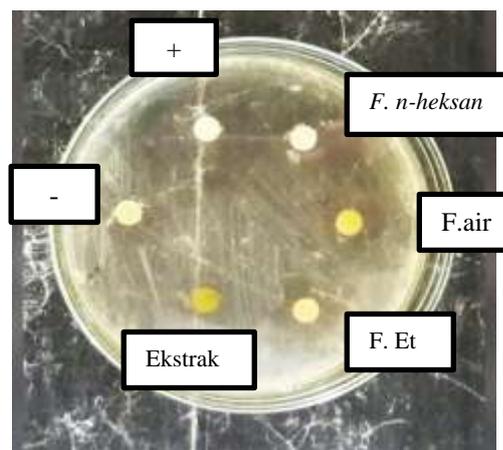


## Uji difusi konsentrasi 25%

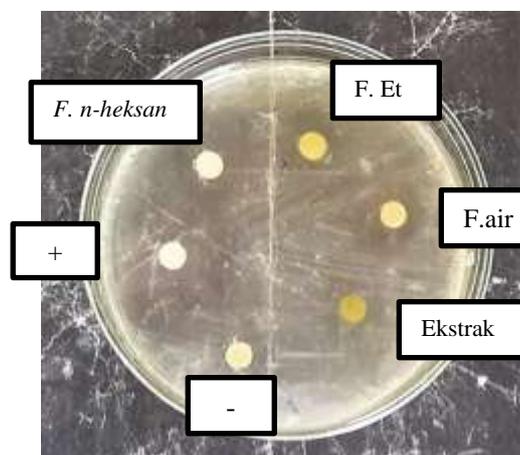
### Replikasi I



### Replikasi II

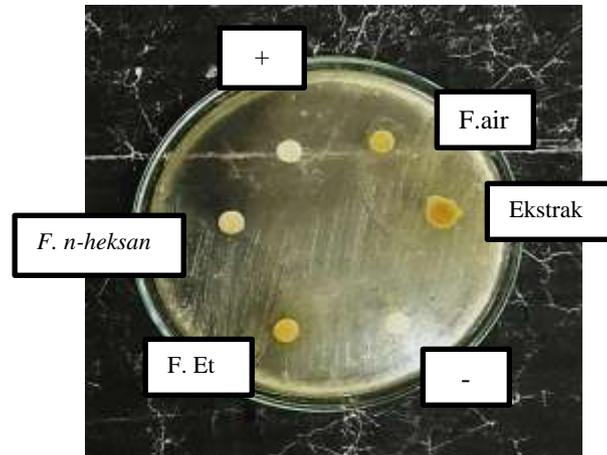


### Replikasi III

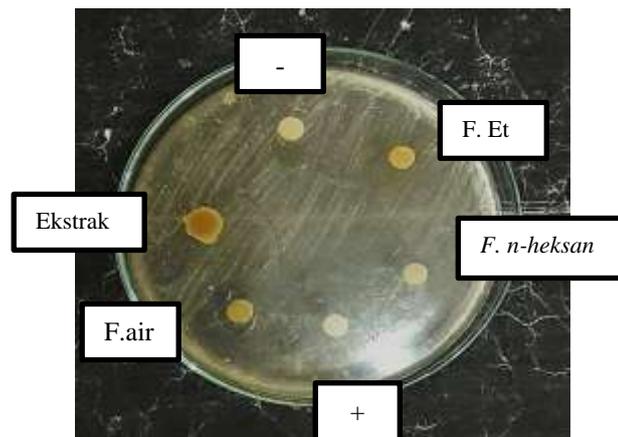


**Uji difusi konsentrasi 12,5%**

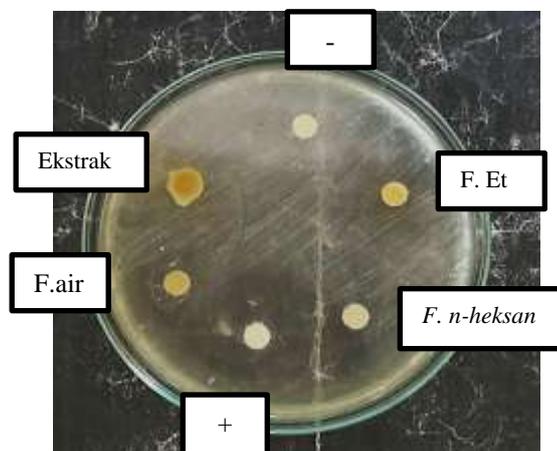
## Replikasi I



## Replikasi II



## Replikasi III

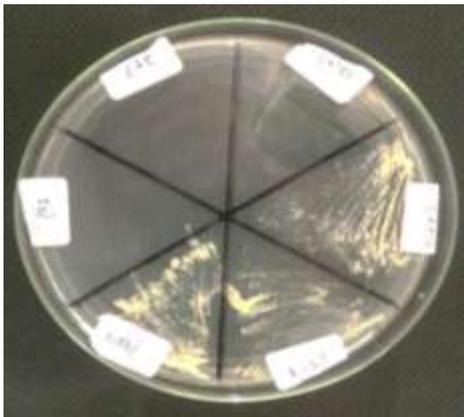


**Lampiran 6. Hasil uji aktivitas antijamur fraksi air metode dilusi**

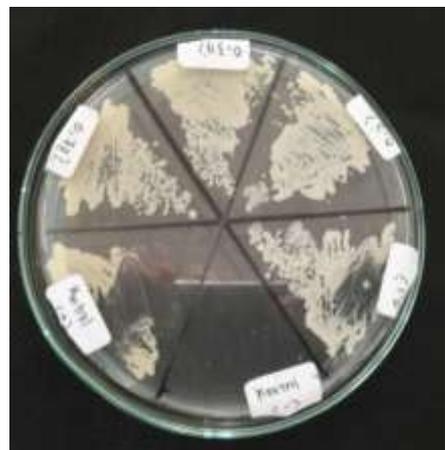


Tabung dilusi fraksi air

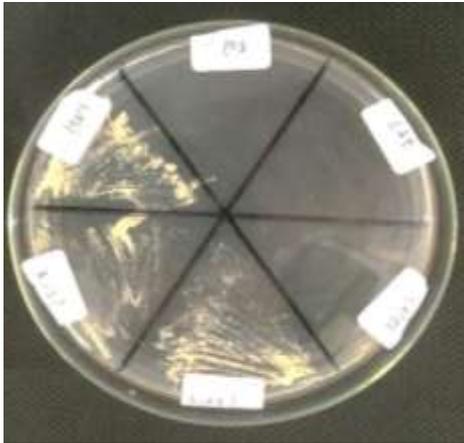
Replikasi I



Replikasi II



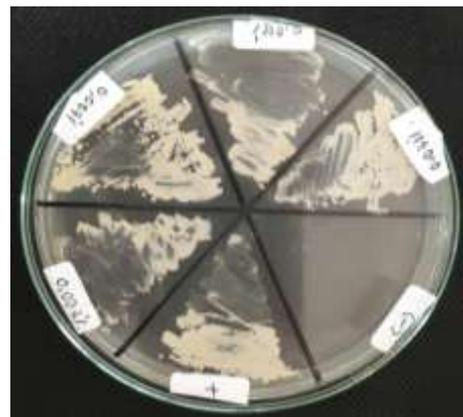
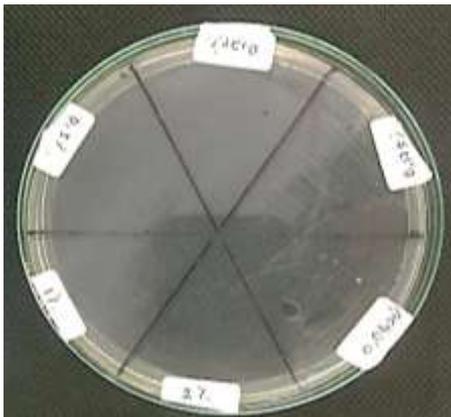
Replikasi III



**Lampiran 7. Hasil uji aktivitas antijamur ketokonazol metode dilusi**

Tabung dilusi ketokonazol

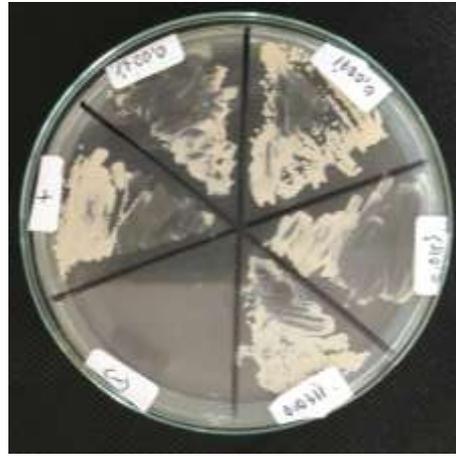
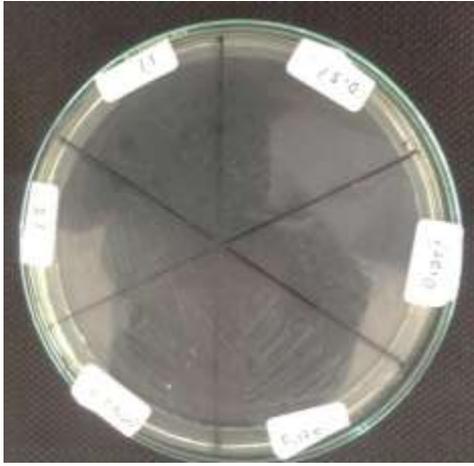
## Replikasi I



## Replikasi II



Replikasi III



### Lampiran 18. Komposisi media

#### 1. Sabouraud Glukose Agar (SGA)

- SGA 65 g/l
- Aquadest 1 liter
- Kloramfenikol 400 mg/l

Menimbang 65 gram SGA, dilarutkan dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna, ditambahkan kloramfenikol 400 mg. Memindahkan ke dalam tabung masing-masing 10 ml, tutup dengan kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 1 jam.

#### 2. Sabouraud Dextrose Cair (SDC)

- SDC 100 g/l
- Aquadest 1 liter

Menimbang 100 gram SDC, dilarutkan dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larut sempurna. Memindahkan ke dalam tabung masing-masing 10 ml, tutup dengan kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 1 jam.

#### 3. Fermentasi dan asimilasi

- Meat extract 3 g/l
- Pepton from gelatin 5 g/l
- Glukosa/Maltosa, Sukrosa/Laktosa/Galaktosa 5 g/l

Menimbang semua bahan, dilarutkan dengan aquadest @20 ml dalam beaker glass. Memindahkan ke dalam 5 tabung yang berisi tabung durham untuk reaksi fermentasi dan 5 tabung durham untuk reaksi asimilasi @10 ml, kemudian menambahkan 1 tetes fenol red, lalu disterilkan dengan autoklaf

selama 1 jam. Didinginkan di bawah air mengalir, menggores 1-2 ose *Candida albicans*. Mengamati adanya gas pada reaksi fermentasi atau perubahan warna dari merah menjadi kuning yang menandakan suatu asam pada reaksi fermentasi dan asimilasi.

Perhitungan :

$$\text{Meat extract 3 g/l} = 3 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,12 \text{ g}$$

$$\text{Pepton 5 g/l} = 5 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

$$\text{Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa 5 g/l} = 5 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

**Lampiran 19. Perhitungan Rf Kromatografi Lapis Tipis**

Perhitungan Rf menggunakan rumus :

$$Rf = \frac{\text{jarak bercak dari titik awal penotolan sampai batas elusi}}{\text{jarak tempuh fase gerak sampai batas elusi}}$$

Perhitungan Rf :

1. Flavonoid

$$\begin{aligned} Rf \text{ baku quercetin} &= \frac{2,9}{4} \\ &= 0,73 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Rf \text{ fraksi air} &= \frac{3,2}{4} \\ &= 0,8 \end{aligned}$$

2. Alkaloid

$$\begin{aligned} Rf \text{ baku} &= \frac{2,8}{3,7} \\ &= 0,76 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Rf \text{ fraksi air} &= \frac{2,7}{3,7} \\ &= 0,73 \end{aligned}$$

3. Saponin

$$\begin{aligned} Rf \text{ fraksi air} &= \frac{2,7}{3,4} \\ &= 0,79 \end{aligned}$$

**Lampiran 20. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, ekstrak etanolik dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol (+), dan kontrol (-).**

#### Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
diameter	42	11.367	9.8924	.0	38.5

#### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		diameter
N		42
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	11.367
	Std. Deviation	9.8924
Most Extreme Differences	Absolute	.184
	Positive	.184
	Negative	-.159
Kolmogorov-Smirnov Z		1.194
Asymp. Sig. (2-tailed)		.116

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

#### Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
3.200	13	28	.005

#### ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	4010.193	13	308.476	4152.567	.000
Within Groups	2.080	28	.074		
Total	4012.273	41			

## Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
n-heksan 50%	3	13.067	.1155	.0667	12.780	13.354	13.0	13.2
n-heksan 25%	3	11.267	.3055	.1764	10.508	12.026	11.0	11.6
n-heksan 12,5%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
etil asetat 50%	3	14.433	.5132	.2963	13.159	15.708	14.0	15.0
etil asetat 25%	3	12.333	.3512	.2028	11.461	13.206	12.0	12.7
etil asetat 12,5%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
air 50%	3	19.433	.4041	.2333	18.429	20.437	19.0	19.8
air 25%	3	15.367	.4041	.2333	14.363	16.371	15.0	15.8
air 12,5%	3	12.467	.1155	.0667	12.180	12.754	12.4	12.6
ekstrak 50%	3	12.400	.3606	.2082	11.504	13.296	12.0	12.7
ekstrak 25%	3	10.133	.1155	.0667	9.846	10.420	10.0	10.2
ekstrak 12,5%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
ketokonazol	3	38.233	.2517	.1453	37.608	38.858	38.0	38.5
DMSO 1%	3	.000	.0000	.0000	.000	.000	.0	.0
Total	42	11.367	9.8924	1.5264	8.284	14.449	.0	38.5

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable:diameter

	(I) perlakuan	(J) perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Tukey HSD	n-heksan 50%	n-heksan 25%	1.8000 <sup>z</sup>	.2225	.000	.985	2.615
		n-heksan 12,5%	13.0667 <sup>z</sup>	.2225	.000	12.252	13.881
		etil asetat 50%	-1.3667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-2.181	-.552
		etil asetat 25%	.7333	.2225	.110	-.081	1.548
		etil asetat 12,5%	13.0667 <sup>z</sup>	.2225	.000	12.252	13.881
		air 50%	-6.3667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-7.181	-5.552
		air 25%	-2.3000 <sup>z</sup>	.2225	.000	-3.115	-1.485
		air 12,5%	.6000	.2225	.331	-.215	1.415
		ekstrak 50%	.6667	.2225	.198	-.148	1.481
		ekstrak 25%	2.9333 <sup>z</sup>	.2225	.000	2.119	3.748
		ekstrak 12,5%	13.0667 <sup>z</sup>	.2225	.000	12.252	13.881
		ketokonazol	-25.1667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-25.981	-24.352
		DMSO 1%	13.0667 <sup>z</sup>	.2225	.000	12.252	13.881
	n-heksan 25%	n-heksan 50%	-1.8000 <sup>z</sup>	.2225	.000	-2.615	-.985
		n-heksan 12,5%	11.2667 <sup>z</sup>	.2225	.000	10.452	12.081
		etil asetat 50%	-3.1667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-3.981	-2.352
		etil asetat 25%	-1.0667 <sup>z</sup>	.2225	.003	-1.881	-.252
		etil asetat 12,5%	11.2667 <sup>z</sup>	.2225	.000	10.452	12.081
		air 50%	-8.1667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-8.981	-7.352
		air 25%	-4.1000 <sup>z</sup>	.2225	.000	-4.915	-3.285
		air 12,5%	-1.2000 <sup>z</sup>	.2225	.001	-2.015	-.385
		ekstrak 50%	-1.1333	.2225	.001	-1.948	-.319
		ekstrak 25%	1.1333 <sup>z</sup>	.2225	.001	.319	1.948
		ekstrak 12,5%	11.2667 <sup>z</sup>	.2225	.000	10.452	12.081
		ketokonazol	-26.9667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-27.781	-26.152
		DMSO 1%	11.2667 <sup>z</sup>	.2225	.000	10.452	12.081
	n-heksan 12,5%	n-heksan 50%	-13.0667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-13.881	-12.252
		n-heksan 25%	-11.2667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-12.081	-10.452
		etil asetat 50%	-14.4333	.2225	.000	-15.248	-13.619
		etil asetat 25%	-12.3333 <sup>z</sup>	.2225	.000	-13.148	-11.519
		etil asetat 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
		air 50%	-19.4333 <sup>z</sup>	.2225	.000	-20.248	-18.619
		air 25%	-15.3667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-16.181	-14.552
		air 12,5%	-12.4667 <sup>z</sup>	.2225	.000	-13.281	-11.652
		ekstrak 50%	-12.4000 <sup>z</sup>	.2225	.000	-13.215	-11.585

	ekstrak 25%	-10.1333	.2225	.000	-10.948	-9.319
	ekstrak 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	ketokonazol	-38.2333	.2225	.000	-39.048	-37.419
	DMSO 1%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
etil asetat 50%	n-heksan 50%	1.3667	.2225	.000	.552	2.181
	n-heksan 25%	3.1667	.2225	.000	2.352	3.981
	n-heksan 12,5%	14.4333	.2225	.000	13.619	15.248
	etil asetat 25%	2.1000	.2225	.000	1.285	2.915
	etil asetat 12,5%	14.4333	.2225	.000	13.619	15.248
	air 50%	-5.0000	.2225	.000	-5.815	-4.185
	air 25%	-.9333	.2225	.014	-1.748	-.119
	air 12,5%	1.9667	.2225	.000	1.152	2.781
	ekstrak 50%	2.0333	.2225	.000	1.219	2.848
	ekstrak 25%	4.3000	.2225	.000	3.485	5.115
	ekstrak 12,5%	14.4333	.2225	.000	13.619	15.248
	ketokonazol	-23.8000	.2225	.000	-24.615	-22.985
	DMSO 1%	14.4333	.2225	.000	13.619	15.248
	etil asetat 25%	n-heksan 50%	-.7333	.2225	.110	-1.548
n-heksan 25%		1.0667	.2225	.003	.252	1.881
n-heksan 12,5%		12.3333	.2225	.000	11.519	13.148
etil asetat 50%		-2.1000	.2225	.000	-2.915	-1.285
etil asetat 12,5%		12.3333	.2225	.000	11.519	13.148
air 50%		-7.1000	.2225	.000	-7.915	-6.285
air 25%		-3.0333	.2225	.000	-3.848	-2.219
air 12,5%		-.1333	.2225	1.000	-.948	.681
ekstrak 50%		-.0667	.2225	1.000	-.881	.748
ekstrak 25%		2.2000	.2225	.000	1.385	3.015
ekstrak 12,5%		12.3333	.2225	.000	11.519	13.148
ketokonazol		-25.9000	.2225	.000	-26.715	-25.085
DMSO 1%		12.3333	.2225	.000	11.519	13.148
etil asetat 12,5%		n-heksan 50%	-13.0667	.2225	.000	-13.881
	n-heksan 25%	-11.2667	.2225	.000	-12.081	-10.452
	n-heksan 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	etil asetat 50%	-14.4333	.2225	.000	-15.248	-13.619
	etil asetat 25%	-12.3333	.2225	.000	-13.148	-11.519
	air 50%	-19.4333	.2225	.000	-20.248	-18.619
	air 25%	-15.3667	.2225	.000	-16.181	-14.552
	air 12,5%	-12.4667	.2225	.000	-13.281	-11.652
	ekstrak 50%	-12.4000	.2225	.000	-13.215	-11.585
	ekstrak 25%	-10.1333	.2225	.000	-10.948	-9.319
	ekstrak 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815

	ketokonazol	-38.2333	.2225	.000	-39.048	-37.419
	DMSO 1%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
air 50%	n-heksan 50%	6.3667	.2225	.000	5.552	7.181
	n-heksan 25%	8.1667	.2225	.000	7.352	8.981
	n-heksan 12,5%	19.4333	.2225	.000	18.619	20.248
	etil asetat 50%	5.0000	.2225	.000	4.185	5.815
	etil asetat 25%	7.1000	.2225	.000	6.285	7.915
	etil asetat 12,5%	19.4333	.2225	.000	18.619	20.248
	air 25%	4.0667	.2225	.000	3.252	4.881
	air 12,5%	6.9667	.2225	.000	6.152	7.781
	ekstrak 50%	7.0333	.2225	.000	6.219	7.848
	ekstrak 25%	9.3000	.2225	.000	8.485	10.115
	ekstrak 12,5%	19.4333	.2225	.000	18.619	20.248
	ketokonazol	-18.8000	.2225	.000	-19.615	-17.985
	DMSO 1%	19.4333	.2225	.000	18.619	20.248
air 25%	n-heksan 50%	2.3000	.2225	.000	1.485	3.115
	n-heksan 25%	4.1000	.2225	.000	3.285	4.915
	n-heksan 12,5%	15.3667	.2225	.000	14.552	16.181
	etil asetat 50%	.9333	.2225	.014	.119	1.748
	etil asetat 25%	3.0333	.2225	.000	2.219	3.848
	etil asetat 12,5%	15.3667	.2225	.000	14.552	16.181
	air 50%	-4.0667	.2225	.000	-4.881	-3.252
	air 12,5%	2.9000	.2225	.000	2.085	3.715
	ekstrak 50%	2.9667	.2225	.000	2.152	3.781
	ekstrak 25%	5.2333	.2225	.000	4.419	6.048
	ekstrak 12,5%	15.3667	.2225	.000	14.552	16.181
	ketokonazol	-22.8667	.2225	.000	-23.681	-22.052
	DMSO 1%	15.3667	.2225	.000	14.552	16.181
air 12,5%	n-heksan 50%	-.6000	.2225	.331	-1.415	.215
	n-heksan 25%	1.2000	.2225	.001	.385	2.015
	n-heksan 12,5%	12.4667	.2225	.000	11.652	13.281
	etil asetat 50%	-1.9667	.2225	.000	-2.781	-1.152
	etil asetat 25%	.1333	.2225	1.000	-.681	.948
	etil asetat 12,5%	12.4667	.2225	.000	11.652	13.281
	air 50%	-6.9667	.2225	.000	-7.781	-6.152
	air 25%	-2.9000	.2225	.000	-3.715	-2.085
	ekstrak 50%	.0667	.2225	1.000	-.748	.881
	ekstrak 25%	2.3333	.2225	.000	1.519	3.148
	ekstrak 12,5%	12.4667	.2225	.000	11.652	13.281
	ketokonazol	-25.7667	.2225	.000	-26.581	-24.952
	DMSO 1%	12.4667	.2225	.000	11.652	13.281

ekstrak 50%	n-heksan 50%	-0.6667	.2225	.198	-1.481	.148
	n-heksan 25%	1.1333	.2225	.001	.319	1.948
	n-heksan 12,5%	12.4000	.2225	.000	11.585	13.215
	etil asetat 50%	-2.0333	.2225	.000	-2.848	-1.219
	etil asetat 25%	.0667	.2225	1.000	-.748	.881
	etil asetat 12,5%	12.4000	.2225	.000	11.585	13.215
	air 50%	-7.0333	.2225	.000	-7.848	-6.219
	air 25%	-2.9667	.2225	.000	-3.781	-2.152
	air 12,5%	-.0667	.2225	1.000	-.881	.748
	ekstrak 25%	2.2667	.2225	.000	1.452	3.081
	ekstrak 12,5%	12.4000	.2225	.000	11.585	13.215
	ketokonazol	-25.8333	.2225	.000	-26.648	-25.019
	DMSO 1%	12.4000	.2225	.000	11.585	13.215
ekstrak 25%	n-heksan 50%	-2.9333	.2225	.000	-3.748	-2.119
	n-heksan 25%	-1.1333	.2225	.001	-1.948	-.319
	n-heksan 12,5%	10.1333	.2225	.000	9.319	10.948
	etil asetat 50%	-4.3000	.2225	.000	-5.115	-3.485
	etil asetat 25%	-2.2000	.2225	.000	-3.015	-1.385
	etil asetat 12,5%	10.1333	.2225	.000	9.319	10.948
	air 50%	-9.3000	.2225	.000	-10.115	-8.485
	air 25%	-5.2333	.2225	.000	-6.048	-4.419
	air 12,5%	-2.3333	.2225	.000	-3.148	-1.519
	ekstrak 50%	-2.2667	.2225	.000	-3.081	-1.452
	ekstrak 12,5%	10.1333	.2225	.000	9.319	10.948
	ketokonazol	-28.1000	.2225	.000	-28.915	-27.285
	DMSO 1%	10.1333	.2225	.000	9.319	10.948
ekstrak 12,5%	n-heksan 50%	-13.0667	.2225	.000	-13.881	-12.252
	n-heksan 25%	-11.2667	.2225	.000	-12.081	-10.452
	n-heksan 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	etil asetat 50%	-14.4333	.2225	.000	-15.248	-13.619
	etil asetat 25%	-12.3333	.2225	.000	-13.148	-11.519
	etil asetat 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	air 50%	-19.4333	.2225	.000	-20.248	-18.619
	air 25%	-15.3667	.2225	.000	-16.181	-14.552
	air 12,5%	-12.4667	.2225	.000	-13.281	-11.652
	ekstrak 50%	-12.4000	.2225	.000	-13.215	-11.585
	ekstrak 25%	-10.1333	.2225	.000	-10.948	-9.319
	ketokonazol	-38.2333	.2225	.000	-39.048	-37.419
	DMSO 1%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
Ketokonazol	n-heksan 50%	25.1667	.2225	.000	24.352	25.981
	n-heksan 25%	26.9667	.2225	.000	26.152	27.781

	n-heksan 12,5%	38.2333 <sup>-</sup>	.2225	.000	37.419	39.048
	etil asetat 50%	23.8000 <sup>-</sup>	.2225	.000	22.985	24.615
	etil asetat 25%	25.9000 <sup>-</sup>	.2225	.000	25.085	26.715
	etil asetat 12,5%	38.2333 <sup>-</sup>	.2225	.000	37.419	39.048
	air 50%	18.8000 <sup>-</sup>	.2225	.000	17.985	19.615
	air 25%	22.8667 <sup>-</sup>	.2225	.000	22.052	23.681
	air 12,5%	25.7667 <sup>-</sup>	.2225	.000	24.952	26.581
	ekstrak 50%	25.8333 <sup>-</sup>	.2225	.000	25.019	26.648
	ekstrak 25%	28.1000 <sup>-</sup>	.2225	.000	27.285	28.915
	ekstrak 12,5%	38.2333 <sup>-</sup>	.2225	.000	37.419	39.048
	DMSO 1%	38.2333 <sup>-</sup>	.2225	.000	37.419	39.048
DMSO 1%	n-heksan 50%	-13.0667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-13.881	-12.252
	n-heksan 25%	-11.2667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-12.081	-10.452
	n-heksan 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	etil asetat 50%	-14.4333 <sup>-</sup>	.2225	.000	-15.248	-13.619
	etil asetat 25%	-12.3333 <sup>-</sup>	.2225	.000	-13.148	-11.519
	etil asetat 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	air 50%	-19.4333 <sup>-</sup>	.2225	.000	-20.248	-18.619
	air 25%	-15.3667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-16.181	-14.552
	air 12,5%	-12.4667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-13.281	-11.652
	ekstrak 50%	-12.4000 <sup>-</sup>	.2225	.000	-13.215	-11.585
	ekstrak 25%	-10.1333 <sup>-</sup>	.2225	.000	-10.948	-9.319
	ekstrak 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.815	.815
	ketokonazol	-38.2333 <sup>-</sup>	.2225	.000	-39.048	-37.419
Bonferron	n-heksan 50%	1.8000	.2225	.000	.932	2.668
	n-heksan 12,5%	13.0667 <sup>-</sup>	.2225	.000	12.199	13.935
	etil asetat 50%	-1.3667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-2.235	-.499
	etil asetat 25%	.7333	.2225	.243	-.135	1.601
	etil asetat 12,5%	13.0667 <sup>-</sup>	.2225	.000	12.199	13.935
	air 50%	-6.3667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-7.235	-5.499
	air 25%	-2.3000 <sup>-</sup>	.2225	.000	-3.168	-1.432
	air 12,5%	.6000	.2225	1.000	-.268	1.468
	ekstrak 50%	.6667	.2225	.517	-.201	1.535
	ekstrak 25%	2.9333 <sup>-</sup>	.2225	.000	2.065	3.801
	ekstrak 12,5%	13.0667 <sup>-</sup>	.2225	.000	12.199	13.935
	ketokonazol	-25.1667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-26.035	-24.299
	DMSO 1%	13.0667 <sup>-</sup>	.2225	.000	12.199	13.935
n-heksan 25%	n-heksan 50%	-1.8000	.2225	.000	-2.668	-.932
	n-heksan 12,5%	11.2667 <sup>-</sup>	.2225	.000	10.399	12.135
	etil asetat 50%	-3.1667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-4.035	-2.299
	etil asetat 25%	-1.0667 <sup>-</sup>	.2225	.004	-1.935	-.199
	etil asetat 12,5%	11.2667 <sup>-</sup>	.2225	.000	10.399	12.135
	air 50%	-8.1667 <sup>-</sup>	.2225	.000	-9.035	-7.299

	air 25%	-4.1000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-4.968	-3.232
	air 12,5%	-1.2000 <sup>±</sup>	.2225	.001	-2.068	-.332
	ekstrak 50%	-1.1333 <sup>±</sup>	.2225	.002	-2.001	-.265
	ekstrak 25%	1.1333 <sup>±</sup>	.2225	.002	.265	2.001
	ekstrak 12,5%	11.2667 <sup>±</sup>	.2225	.000	10.399	12.135
	ketokonazol	-26.9667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-27.835	-26.099
	DMSO 1%	11.2667 <sup>±</sup>	.2225	.000	10.399	12.135
n-heksan 12,5%	n-heksan 50%	-13.0667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.935	-12.199
	n-heksan 25%	-11.2667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-12.135	-10.399
	etil asetat 50%	-14.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-15.301	-13.565
	etil asetat 25%	-12.3333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.201	-11.465
	etil asetat 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	air 50%	-19.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-20.301	-18.565
	air 25%	-15.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-16.235	-14.499
	air 12,5%	-12.4667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.335	-11.599
	ekstrak 50%	-12.4000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.268	-11.532
	ekstrak 25%	-10.1333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-11.001	-9.265
	ekstrak 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	ketokonazol	-38.2333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-39.101	-37.365
	DMSO 1%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
etil asetat 50%	n-heksan 50%	1.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	.499	2.235
	n-heksan 25%	3.1667 <sup>±</sup>	.2225	.000	2.299	4.035
	n-heksan 12,5%	14.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	13.565	15.301
	etil asetat 25%	2.1000 <sup>±</sup>	.2225	.000	1.232	2.968
	etil asetat 12,5%	14.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	13.565	15.301
	air 50%	-5.0000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-5.868	-4.132
	air 25%	-.9333 <sup>±</sup>	.2225	.023	-1.801	-.065
	air 12,5%	1.9667 <sup>±</sup>	.2225	.000	1.099	2.835
	ekstrak 50%	2.0333 <sup>±</sup>	.2225	.000	1.165	2.901
	ekstrak 25%	4.3000 <sup>±</sup>	.2225	.000	3.432	5.168
	ekstrak 12,5%	14.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	13.565	15.301
	ketokonazol	-23.8000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-24.668	-22.932
	DMSO 1%	14.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	13.565	15.301
etil asetat 25%	n-heksan 50%	-.7333 <sup>±</sup>	.2225	.243	-1.601	.135
	n-heksan 25%	1.0667 <sup>±</sup>	.2225	.004	.199	1.935
	n-heksan 12,5%	12.3333 <sup>±</sup>	.2225	.000	11.465	13.201
	etil asetat 50%	-2.1000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-2.968	-1.232
	etil asetat 12,5%	12.3333 <sup>±</sup>	.2225	.000	11.465	13.201
	air 50%	-7.1000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-7.968	-6.232
	air 25%	-3.0333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-3.901	-2.165
	air 12,5%	-.1333 <sup>±</sup>	.2225	1.000	-1.001	.735
	ekstrak 50%	-.0667 <sup>±</sup>	.2225	1.000	-.935	.801
	ekstrak 25%	2.2000 <sup>±</sup>	.2225	.000	1.332	3.068
	ekstrak 12,5%	12.3333 <sup>±</sup>	.2225	.000	11.465	13.201

	ketokonazol	-25.9000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-26.768	-25.032
	DMSO 1%	12.3333 <sup>±</sup>	.2225	.000	11.465	13.201
etil asetat 12,5%	n-heksan 50%	-13.0667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.935	-12.199
	n-heksan 25%	-11.2667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-12.135	-10.399
	n-heksan 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	etil asetat 50%	-14.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-15.301	-13.565
	etil asetat 25%	-12.3333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.201	-11.465
	air 50%	-19.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-20.301	-18.565
	air 25%	-15.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-16.235	-14.499
	air 12,5%	-12.4667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.335	-11.599
	ekstrak 50%	-12.4000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-13.268	-11.532
	ekstrak 25%	-10.1333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-11.001	-9.265
	ekstrak 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	ketokonazol	-38.2333 <sup>±</sup>	.2225	.000	-39.101	-37.365
	DMSO 1%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	air 50%	n-heksan 50%	6.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	5.499
n-heksan 25%		8.1667 <sup>±</sup>	.2225	.000	7.299	9.035
n-heksan 12,5%		19.4333	.2225	.000	18.565	20.301
etil asetat 50%		5.0000 <sup>±</sup>	.2225	.000	4.132	5.868
etil asetat 25%		7.1000 <sup>±</sup>	.2225	.000	6.232	7.968
etil asetat 12,5%		19.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	18.565	20.301
air 25%		4.0667 <sup>±</sup>	.2225	.000	3.199	4.935
air 12,5%		6.9667 <sup>±</sup>	.2225	.000	6.099	7.835
ekstrak 50%		7.0333 <sup>±</sup>	.2225	.000	6.165	7.901
ekstrak 25%		9.3000 <sup>±</sup>	.2225	.000	8.432	10.168
ekstrak 12,5%		19.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	18.565	20.301
ketokonazol		-18.8000 <sup>±</sup>	.2225	.000	-19.668	-17.932
DMSO 1%		19.4333 <sup>±</sup>	.2225	.000	18.565	20.301
air 25%		n-heksan 50%	2.3000 <sup>±</sup>	.2225	.000	1.432
	n-heksan 25%	4.1000 <sup>±</sup>	.2225	.000	3.232	4.968
	n-heksan 12,5%	15.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	14.499	16.235
	etil asetat 50%	.9333 <sup>±</sup>	.2225	.023	.065	1.801
	etil asetat 25%	3.0333 <sup>±</sup>	.2225	.000	2.165	3.901
	etil asetat 12,5%	15.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	14.499	16.235
	air 50%	-4.0667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-4.935	-3.199
	air 12,5%	2.9000 <sup>±</sup>	.2225	.000	2.032	3.768
	ekstrak 50%	2.9667 <sup>±</sup>	.2225	.000	2.099	3.835
	ekstrak 25%	5.2333 <sup>±</sup>	.2225	.000	4.365	6.101
	ekstrak 12,5%	15.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	14.499	16.235
	ketokonazol	-22.8667 <sup>±</sup>	.2225	.000	-23.735	-21.999
	DMSO 1%	15.3667 <sup>±</sup>	.2225	.000	14.499	16.235
	air 12,5%	n-heksan 50%	-.6000 <sup>±</sup>	.2225	1.000	-1.468
n-heksan 25%		1.2000 <sup>±</sup>	.2225	.001	.332	2.068
n-heksan 12,5%		12.4667 <sup>±</sup>	.2225	.000	11.599	13.335

	etil asetat 50%	-1.9667	.2225	.000	-2.835	-1.099
	etil asetat 25%	.1333	.2225	1.000	-.735	1.001
	etil asetat 12,5%	12.4667	.2225	.000	11.599	13.335
	air 50%	-6.9667	.2225	.000	-7.835	-6.099
	air 25%	-2.9000	.2225	.000	-3.768	-2.032
	ekstrak 50%	.0667	.2225	1.000	-.801	.935
	ekstrak 25%	2.3333	.2225	.000	1.465	3.201
	ekstrak 12,5%	12.4667	.2225	.000	11.599	13.335
	ketokonazol	-25.7667	.2225	.000	-26.635	-24.899
	DMSO 1%	12.4667	.2225	.000	11.599	13.335
ekstrak 50%	n-heksan 50%	-.6667	.2225	.517	-1.535	.201
	n-heksan 25%	1.1333	.2225	.002	.265	2.001
	n-heksan 12,5%	12.4000	.2225	.000	11.532	13.268
	etil asetat 50%	-2.0333	.2225	.000	-2.901	-1.165
	etil asetat 25%	.0667	.2225	1.000	-.801	.935
	etil asetat 12,5%	12.4000	.2225	.000	11.532	13.268
	air 50%	-7.0333	.2225	.000	-7.901	-6.165
	air 25%	-2.9667	.2225	.000	-3.835	-2.099
	air 12,5%	-.0667	.2225	1.000	-.935	.801
	ekstrak 25%	2.2667	.2225	.000	1.399	3.135
	ekstrak 12,5%	12.4000	.2225	.000	11.532	13.268
	ketokonazol	-25.8333	.2225	.000	-26.701	-24.965
	DMSO 1%	12.4000	.2225	.000	11.532	13.268
ekstrak 25%	n-heksan 50%	-2.9333	.2225	.000	-3.801	-2.065
	n-heksan 25%	-1.1333	.2225	.002	-2.001	-.265
	n-heksan 12,5%	10.1333	.2225	.000	9.265	11.001
	etil asetat 50%	-4.3000	.2225	.000	-5.168	-3.432
	etil asetat 25%	-2.2000	.2225	.000	-3.068	-1.332
	etil asetat 12,5%	10.1333	.2225	.000	9.265	11.001
	air 50%	-9.3000	.2225	.000	-10.168	-8.432
	air 25%	-5.2333	.2225	.000	-6.101	-4.365
	air 12,5%	-2.3333	.2225	.000	-3.201	-1.465
	ekstrak 50%	-2.2667	.2225	.000	-3.135	-1.399
	ekstrak 12,5%	10.1333	.2225	.000	9.265	11.001
	ketokonazol	-28.1000	.2225	.000	-28.968	-27.232
	DMSO 1%	10.1333	.2225	.000	9.265	11.001
ekstrak 12,5%	n-heksan 50%	-13.0667	.2225	.000	-13.935	-12.199
	n-heksan 25%	-11.2667	.2225	.000	-12.135	-10.399
	n-heksan 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	etil asetat 50%	-14.4333	.2225	.000	-15.301	-13.565
	etil asetat 25%	-12.3333	.2225	.000	-13.201	-11.465
	etil asetat 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	air 50%	-19.4333	.2225	.000	-20.301	-18.565
	air 25%	-15.3667	.2225	.000	-16.235	-14.499

	air 12,5%	-12.4667 <sup>*</sup>	.2225	.000	-13.335	-11.599
	ekstrak 50%	-12.4000 <sup>*</sup>	.2225	.000	-13.268	-11.532
	ekstrak 25%	-10.1333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-11.001	-9.265
	ketokonazol	-38.2333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-39.101	-37.365
	DMSO 1%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
Ketokonazol	n-heksan 50%	25.1667 <sup>*</sup>	.2225	.000	24.299	26.035
	n-heksan 25%	26.9667 <sup>*</sup>	.2225	.000	26.099	27.835
	n-heksan 12,5%	38.2333 <sup>*</sup>	.2225	.000	37.365	39.101
	etil asetat 50%	23.8000 <sup>*</sup>	.2225	.000	22.932	24.668
	etil asetat 25%	25.9000 <sup>*</sup>	.2225	.000	25.032	26.768
	etil asetat 12,5%	38.2333 <sup>*</sup>	.2225	.000	37.365	39.101
	air 50%	18.8000 <sup>*</sup>	.2225	.000	17.932	19.668
	air 25%	22.8667 <sup>*</sup>	.2225	.000	21.999	23.735
	air 12,5%	25.7667 <sup>*</sup>	.2225	.000	24.899	26.635
	ekstrak 50%	25.8333 <sup>*</sup>	.2225	.000	24.965	26.701
	ekstrak 25%	28.1000 <sup>*</sup>	.2225	.000	27.232	28.968
	ekstrak 12,5%	38.2333 <sup>*</sup>	.2225	.000	37.365	39.101
	DMSO 1%	38.2333 <sup>*</sup>	.2225	.000	37.365	39.101
DMSO 1%	n-heksan 50%	-13.0667 <sup>*</sup>	.2225	.000	-13.935	-12.199
	n-heksan 25%	-11.2667 <sup>*</sup>	.2225	.000	-12.135	-10.399
	n-heksan 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	etil asetat 50%	-14.4333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-15.301	-13.565
	etil asetat 25%	-12.3333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-13.201	-11.465
	etil asetat 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	air 50%	-19.4333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-20.301	-18.565
	air 25%	-15.3667 <sup>*</sup>	.2225	.000	-16.235	-14.499
	air 12,5%	-12.4667 <sup>*</sup>	.2225	.000	-13.335	-11.599
	ekstrak 50%	-12.4000 <sup>*</sup>	.2225	.000	-13.268	-11.532
	ekstrak 25%	-10.1333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-11.001	-9.265
	ekstrak 12,5%	.0000	.2225	1.000	-.868	.868
	ketokonazol	-38.2333 <sup>*</sup>	.2225	.000	-39.101	-37.365

\*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

## Homogeneous Subsets

		diameter							
perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05							
		1	2	3	4	5	6	7	8
Tukey HSD <sup>a</sup> n-heksan 12,5%	3	.000							
etil asetat 12,5%	3	.000							
ekstrak 12,5%	3	.000							
DMSO 1%	3	.000							
ekstrak 25%	3		10.133						
n-heksan 25%	3			11.267					
etil asetat 25%	3				12.333				
ekstrak 50%	3				12.400				
air 12,5%	3				12.467				
n-heksan 50%	3				13.067				
etil asetat 50%	3					14.433			
air 25%	3						15.367		
air 50%	3							19.433	
ketokonazol	3								38.233
Sig.		1.000	1.000	1.000	.110	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.