

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.)

Tahap awal penelitian dilakukan determinasi terlebih dahulu terhadap tanaman daun salam. Determinasi bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diteliti dan menghindari kesalahan pada waktu pengumpulan bahan. Determinasi dilakukan di bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.

Hasil determinasi berdasarkan : Backer : Flora of Java

1b – 2b – 3b – 4b – 12b – 13b – 14b – 17b – 18b – 19b- 20b – 21b – 22b – 23b – 24b – 25b – 26b – 27a – 28b – 29b – 30b – 31b – 403b – 404b – 406a – 407b.familia 84. Myrtaceae.1b – 7b – 8b – 11a – 12b. *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp.

Berdasarkan hasil determinasi dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian adalah tanaman daun salam *Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp. Surat keterangan melakukan determinasi dapat dilihat pada Lampiran 1.

B. Penyiapan Bahan Tanaman

1. Pengumpulan Bahan

Daun salam yang digunakan adalah daun segar, bebas dari penyakit, tidak terlalu muda, dan tidak terlalu tua yang diperoleh dari Desa Badegan, Badegan, Ponorogo, Jawa Timur pada tanggal 25 Desember 2018. Tanaman yang digunakan adalah daun yang berwarna hijau, segar, bersih, bebas dari kotoran.

2. Pembuatan Serbuk

Daun salam yang telah dibersihkan dengan air mengalir dan ditiriskan, kemudian daun salam dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 5 hari. Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dalam tanaman sehingga mencegah terjadinya pembusukan, perubahan kimiawi, reaksi enzimatik dan

memudahkan dalam pembuatan serbuk. Simplisia daun salam yang telah kering kemudian dibuat serbuk dengan mesin penyerbuk dan diayak dengan ayakan *mesh* 40. Serbuk kering yang diperoleh disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat yang selanjutnya digunakan untuk penelitian. Hasil perhitungan rendemen simplisia daun salam dapat dilihat pada Table 1.

Tabel 1. Hasil presentase bobot kering terhadap bobot basah daun salam.

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
5800	1200	20,6

Daun salam sebanyak 5800 g yang masih segar dikeringkan dan di dapatkan serbuk kering daun salam 1200 g dengan rendemen 20,6%. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 10.

3. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Salam

Pembuatan ekstrak etanol daun salam dilakukan dengan metode maserasi, tujuan dari maserasi yaitu untuk penyarian zat aktif yang mudah larut dalam larutan penyari, menghindari kerusakan zat aktif akibat pemanasan. Etanol 96% digunakan sebagai cairan penyari dikarenakan hampir semua komponen aktif tanaman dapat larut dalam etanol (Tiwari *et all.* 2011).

Serbuk daun salam sebanyak 800 gram dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Proses maserasi menggunakan botol coklat selama 5 hari dengan sesekali digojog kemudian disaring dengan kain flannel, kemudian disaring lagi dengan menggunakan kertas saring dan dipekatkan dengan rotary evaporator maka diperoleh ekstrak kental daun salam. Hasil pembuatan ekstrak daun salam dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rendemen ekstrak daun salam

Berat serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
800	157,315	19,66%

Hasil pembuatan ekstrak etanol 96% daun salam secara maserasi yaitu 157,315 gram dari 800 gram serbuk kering didapatkan hasil rendemen 19,66 %. Organoleptis daun salam yaitu berwarna coklat, konsistensi ekstrak kental, bau khas. Perhitungan rendemen dapat dilihat dilampiran 11.

Tabel 3. Hasil uji organileptis ekstrak daun salam

Identifikasi	Hasil penelitian
Warna	Hitam kecoklatan

Bau Rasa	Khas daun salam Sepat
-------------	--------------------------

Dilakukan uji organoleptis meliputi bentuk, warna, rasa dan bau yang bertujuan untuk memberikan pengenalan secara objektif dan digunakan untuk menguji simplisia secara fisik selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiat bahan.

4. Penetapan Kadar Air Serbuk dan Ekstrak Daun Salam

Penetapan kadar air ekstrak dan serbuk daun salam bertujuan untuk mengetahui batas minimal besarnya kandungan air. Kadar air terlalu tinggi dapat menyebabkan penurunan mutu atau kerusakan pada simplisia. Penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun salam menggunakan alat *Sterling bidwell* dengan pelarut toluene jenuh air. Toluene digunakan karena memiliki titik didih di atas air sehingga dapat menguap terlebih dahulu dan ditampung dalam dalam tabung penampung berskala untuk mengetahui volume air.

Tabel 4. Hasil penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun salam

Bobot awal (gram)	Volume air (mL)		Kadar susut pengeringan (%)	
	Serbuk	Ekstrak	Serbuk	Ekstrak
20	0,9	1,2	4,5	6
20	1	1,1	5	5,5
20	0,9	1,1	4,5	5,5
	Rata-rata		4,7	5,7

Penetapan kadar air serbuk daun salam diperoleh rata-rata 4,7% dan ekstrak daun salam sebesar 5,7%. Syarat kadar air dalam serbuk yaitu tidak lebih dari 10%, sedangkan kadar air yang diperbolehkan untuk jenis ekstrak kental adalah antara 5-30% (Rahmaniati 2018; Haryani 2013). Sehingga dari hasil tersebut kandungan kadar air serbuk daun salam tidak lebih dari 10% dan kadar air ekstrak etanolik daun salam tidak lebih dari 30%. Hasil perhitungan dapat dilihat di lampiran 12 dan 13.

5. Penetapan Susut Pengeringan Ekstrak dan Serbuk Daun Salam

Penetapan susut pengeringan ekstrak dan serbuk daun salam dengan menggunakan alat *Moisture balance*. Tujuan dilakukan susut pengeringan untuk memberikan batasan maksimal (rentang) tentang besarnya senyawa yang hilang

pada proses pengeringan. Syarat susut pengeringan dalam ekstrak yaitu tidak lebih dari 10%, sedangkan dalam serbuk tidak lebih dari 10% (Rahmaniati 2018; Zulharmita 2012). Hasil dari penetapan susut pengeringan dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 5. Hasil susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun salam

Bobot awal (gram)	Kadar susut pengeringan (%)	
	Serbuk	Ekstrak
2	6,3	7,9
2	6,3	7,4
2	6,9	7,4
Rata-rata	6,5	7,6

Penetapan susut pengeringan serbuk daun salam diperoleh rata-rata 6,5% dan ekstrak daun salam sebesar 7,6%. Hasil susut pengeringan serbuk daun salam dan ekstrak etanol daun salam tidak lebih dari 10%. Hasil dapat dilihat di lampiran 8.

6. Penetapan Bobot Jenis Ekstrak Etanol

Tujuan penetapan bobot jenis ekstrak untuk memberikan gambaran kandungan kimia yang terlarut pada suatu ekstrak (Depkes RI, 2000). Penetapan bobot jenis ekstrak menggunakan piknometer 50 mL. Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak telah diencerkan, yaitu 5% menggunakan etanol 96% sebagai pelarut. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 15.

Tabel 6. Hasil BJ etanol ekstrak daun salam

Replikasi	Hasil
I	0,98%
II	0,98%
III	0,97%

7. Fraksinasi

Ekstrak kental yang telah diperoleh dari metode maserasi dilakukan fraksinasi dengan menggunakan tiga pelarut, yaitu pelarut non polar (*n*-heksana), pelarut semipolar (etil asetat), dan pelarut polar (air).

7.1 Fraksi *n*-heksana. Ekstrak daun salam dilakukan fraksinasi dengan pelarut nonpolar (*n*-heksana) dengan menggunakan corong pisah. Fraksinasi

dilakukan sebanyak 3 kali dengan pelarut *n*-heksana sebanyak 75 mL, kemudian hasil fraksi diuapkan. Residu yang diperoleh dilakukan ekstraksi lanjutan menggunakan pelarut etil asetat.

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa presentase rendemen fraksi *n*-heksana daun salam rata-rata sebesar 6,3%. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana daun salam dapat dilihat pada lampiran 14.

7.2 Fraksi Etil Asetat. Ekstrak daun salam dilakukan fraksinasi dengan pelarut semipolar (etil asetat) dengan menggunakan corong pisah. Fraksinasi dilakukan sebanyak 3 kali dengan pelarut etil asetat sebanyak 75 mL, kemudian hasil fraksi diuapkan. Residu yang diperoleh dilakukan pemekatan.

Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa presentase rendemen fraksi etil asetat daun salam rata-rata sebesar 13,8%. Hasil perhitungan rendemen fraksi etil asetat daun salam dapat dilihat pada lampiran 14.

7.3 Fraksi Air. Residu yang diperoleh dari hasil fraksi etil asetat daun salam dilakukan pemekatan menggunakan *waterbath* sehingga diperoleh fraksi air. Berdasarkan tabel 7 dapat dilihat bahwa presentase rendemen fraksi air daun salam rata-rata sebesar 12,9%. Hasil perhitungan rendemen fraksi air daun salam dapat dilihat pada lampiran 14.

Tabel 7. Rendemen fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air daun salam

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)			Rendemen (% b/b)		
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
60	3,823	8,303	7,78	6,3	13,8	12,9

8. Hasil identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Ekstrak Etanol dan Serbuk Daun Salam

Hasil identifikasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan serbuk daun salam memberikan hasil yang sesuai dengan pustaka, yaitu mengandung flavonoid, saponin, tanin, steroid. Flavonoid ditandai dengan timbulnya warna merah, saponin ditandai dengan terbentuknya busa setelah dilakukan penggojogan, tanin ditandai dengan timbulnya warna hijau kehitaman, dan steroid

ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi biru atau hijau. Hasil ditunjukkan pada tabel berikut dan lampiran 4.

Tabel 8. Identifikasi kandungan kimia ekstrak daun salam

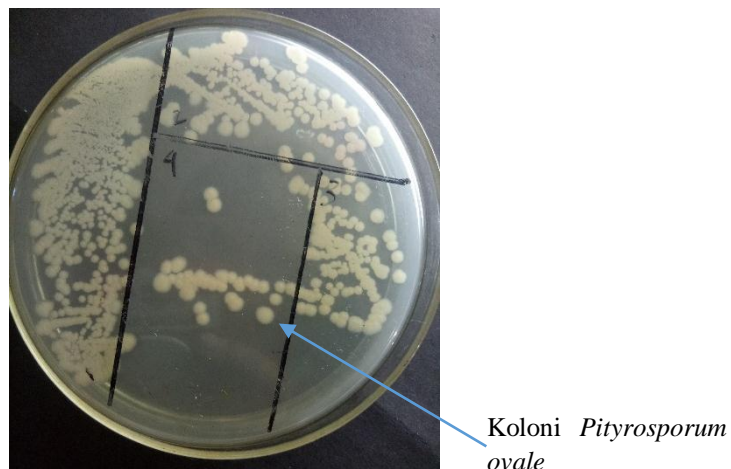
Kandungan kimia	Hasil		Pustaka	Hasil	
	Serbuk	Ekstrak			
Alkaloid	Tidak terbentuk endapan jingga	Tidak terbentuk endapan jingga	Dragendrof : endapan berwarna jingga Mayer : endapan berwarna kuning (Setyowati <i>et al</i> 2014).	(-)	(-)
Flavonoid	Perubahan warna jingga	Perubahan warna kemerahan	Terjadi perubahan warna jingga atau kemerahan (Tiwari <i>et al</i> 2011).	(+)	(+)
Saponin	Buih tetap setinggi 1 cm	Buih tetap setinggi 1 cm	Terbentuk buih yang mantap 1 – 10 cm (Tiwari <i>et al</i> 2011).	(+)	(+)
Tannin	Hijau kehitaman	Hiaju kehitaman	Ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau kehitaman (Robinson 1995)	(+)	(+)
Steroid	Perubahan warna menjadi hijau	Perubahan warna menjadi hijau	Ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi hijau (Setyowati <i>et al</i> 2014).	(+)	(+)

Hasil identifikasi senyawa kimia juga dilakukan pada identifikasi kandungan senyawa dari fraksi teraktif daun salam daun salam yang mengandung senyawa lebih sedikit dibandingkan dengan ekstrak etanol daun salam menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Hal ini dipengaruhi oleh prinsip fraksinasi yang memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Fraksi teraktif dari daun salam yaitu fraksi etil asetat yang menarik senyawa non polar yaitu flavonoid, steroid, dan alkaloid.

C. Pengujian Aktivitas Antijamur

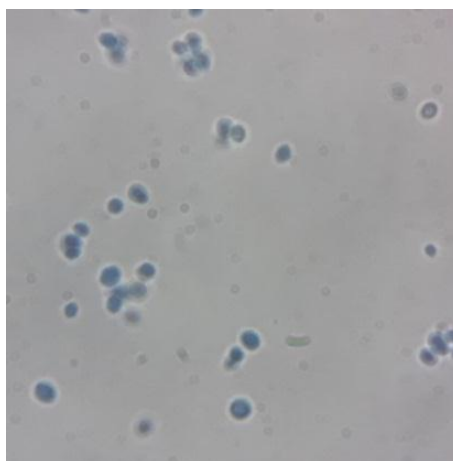
1. Hasil Identifikasi Jamur Uji

1.1 Hasil Identifikasi Makroskopis. Identifikasi dilakukan dengan menginokulasikan jamur *Pityrosporium ovale* ATCC 3179 pada media SGA (*Sabouraud Glukosa Agar*) dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu 37°C dengan menunjukkan terbentuk koloni yeast berwarna putih kekuningan.



Gambar 9. Hasil koloni *Pityrosporum ovale* pada media SGA

1.2 Hasil Identifikasi Mikroskopis *Pityrosporum ovale*. Identifikasi mikroskopis *Pityrosporum ovale* ATCC 3179 dengan menggunakan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* (LCB). Pewarnaan dilakukan dengan mengambil 1 ose *Pityrosporum ovale* ATCC 3179 dari suspensi jamur dan ditanam pada kaca objek kemudian ditetesi *lactophenol cotton blue* 1 tetes, ditutup dengan deg glass dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 100x. Pewarnaan LCB bertujuan untuk memastikan bahwa jamur uji yaitu *Pityrosporum ovale*. Dalam pewarnaan LCB, phenol berfungsi untuk mematiakn jamur dan *glycerol* mengawetkan preparat dan mencegah presipitasi dari cat, serta *cotton blue* untuk mewarnai jamur menjadi biru (Budi 2010). Hasil identifikasi secara mikroskopis membentuk bulatan berwarna biru bening. *Pityrosporum ovale* berupa sel-sel bulat, berdinding tebal (Adiyati *et all* 2014). Hasil dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Hasil koloni *Pityrosporum ovale* dengan pewarnaan LCB.

1.3. Hasil Identifikasi Biokimia. Identifikasi biokimia pada jamur *Pityrosporum ovale* dapat dilakukan dengan dua cara yaitu uji katalase dan uji gula-gula. Uji katalase bertujuan untuk mengidentifikasi kelompok jamur yang dapat menghasilkan enzim katalase. Hasil pada penelitian ini positif karena penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2O dan O_2 terlihat adanya pembentukan gelembung udara atau buih, hal ini disebabkan *Pityrosporum ovale* mempunyai enzim katalase. Fungsi dari enzim katalase yaitu menguraikan H_2O_2 menjadi H_2O dan O_2 yang tidak berbahaya, sehingga senyawa ini akan bersifat toksik dan dapat merusak sel (Jewetz *et al* 2001). Hasil uji katalase dapat dilihat pada gambar 11.



Gambar 11. Hasil uji katalase

Identifikasi biokimia dengan proses fermentasi karbohidrat pada media gula-gula (glukosa, laktosa, maltose, dan sukrosa). Koloni *Pityrosporum ovale* diinokulasikan ke dalam masing-masing tabung berisikan larutan gula yang sebelumnya telah ditambahkan indikator phenol red 1%. Hasil fermentasi menunjukkan positif apabila warna merah pada medium berubah menjadi kekuningan dan terdapat gelembung pada tabung durham. Perubahan warna terjadi disebabkan karena aktivitas jamur memfermentasi gula sehingga menghasilkan asam dan menyebabkan terjadinya perubahan warna pada media dari merah menjadi kuning, hal ini dipengaruhi oleh penurunan pH sehingga indikator pH akan berubah (phenol red berubah dari merah menjadi kuning). Aktivitas tersebut juga menghasilkan gas yang diproduksi bersama dengan asam, sehingga terbentuk gelembung udara pada tabung durham (Suryaningsih *et all* 2018).

Tabel 9. Hasil uji gula-gula jamur *Pityrosporium ovale*

Gula	Hasil
Maltosa	+
Glukosa	+
Laktosa	+
Sukrosa	+

Identifikasi biokimia positif *Pityrosporium ovale* dengan terjadinya perubahan warna merah menjadi warna kuning pada medium yang menunjukkan adanya reaksi fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung durham terbentuk karena adanya gas yang diproduksi bersamaan dengan asam, pada jamur *Pityrosporium ovale* terjadi reaksi fermentasi pada gula maltosa, glukosa, laktosa, dan sukrosa.

2. Hasil Uji Antijamur Daun Salam Secara Difusi dan Dilusi

Uji antijamur bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur terhadap ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun salam. Pengujian aktivitas antijamur dilakukan di laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi yaitu dengan mengetahui diameter daerah hambat pertumbuhan dari biakan jamur uji.

Pengujian aktivitas antijamur dari ekstrak dan fraksi daun salam dilakukan terhadap jamur *Pityrosporium ovale* dengan konsentrasi larutan 50%; 25% dan 12,5% serta kontrol negatif DMSO 1% dan kontrol positif ketokonazol 1%.

Pembuatan suspensi jamur uji disesuaikan dengan standar *Mc Farland* 0,5. Masa inkubasi 48 jam pada suhu 37°C dengan menggunakan cakram ukuran 6 mm. daerah hambat ditunjukkan dengan diameter jernih di sekitar cakram yang tidak ditumbuhi jamur menunjukkan fraksi teraktif memiliki daya hambat terhadap *Pityrosporium ovale*.

Berdasarkan tabel 10 dapat dilihat bahwa pengujian aktivitas antijamur menunjukkan adanya daya hambat terhadap *Pityrosporium ovale*, dengan adanya daerah jernih disekitar cakram yang tidak ditumbuhi jamur kemudian dapat dilihat bahwa diameter hambat rata-rata yang paling besar adalah fraksi etil asetat 50%, karena sifat etil asetat yang semi polar memiliki kandungan metabolit sekunder yang lebih kompleks dibandingkan dengan polar dan non polar.

Tabel 10. Hasil diameter hambat uji aktivitas antijamur secara difusi

Sediaan Uji	Konsentrasi (%)	Rata-rata diameter hambat (mm) \pm SD
Ekstrak	50	12,7 \pm 0,25
	25	11,3 \pm 0,26
	12,5	10,1 \pm 0,36
Fraksi <i>n</i> -heksana	50	8,57 \pm 0,4
	25	7,9 \pm 0,36
	12,5	7,17 \pm 0,28
Fraksi etil asetat	50	15,8 \pm 0,45
	25	12,2 \pm 0,25
	12,5	10,8 \pm 0,36
Fraksi air	50	12,7 \pm 0,37
	25	11,2 \pm 0,2
	12,5	10,23 \pm 0,25
Kontrol (+)	1	20,17 \pm 0,16
Kontrol (-)	1	0,00 \pm 0,00

Keterangan :

Kontrol (-) : DMSO 1%

Kontrol (+) : Ketokonazol 1%

Daerah zona hambat jamur *Pityrosporum ovale* pada ekstrak daun salam dengan konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% berkisaran antara 10 mm-12 mm dan pengujian aktivitas fraksi *n*-heksana konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% berkisaran antara 7 mm-8 mm. Pada fraksi etil asetat konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% menunjukkan zona hambat antara 10 mm-15 mm, sedangkan fraksi air menunjukkan zona hambat antara 10 mm- 12 mm.

Berdasarkan tabel 10 menunjukkan fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Pityrosporum ovale* dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksana dan air. Hasil rata-rata diameter zona hambat fraksi etil asetat konsentrasi 50%; 25%; 12,5% berturut-turut adalah 15,8 mm; 12,1 mm; 10,8 mm, sedangkan kontrol positif (ketokonazol 1%) memiliki rata-rata sebesar 20,17 mm. Target ketokonazol adalah mengganggu sintesis ergosterol yang merupakan komponen dari membran jamur (Alawiyah 2016). Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 1% yang menunjukkan tidak adanya zona hambat. Hal

ini mengindikasikan bahwa kontrol negatif yang digunakan tidak berpengaruh pada uji antijamur.

Hasil uji difusi dianalisis dengan menggunakan SPSS Analisis Statistik yang terlebih dahulu dilakukan melihat adanya perbedaan efektivitas yang bermakna dari masing-masing konsentrasi yang dianalisis menggunakan metode Kolmogorov Smirnov. Hasil diperoleh apabila terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode ANOVA *two way*.

Hasil uji distribusi data menggunakan Kolmogorov Semirnov sebesar $0,215 > 0,05$ maka H_0 diterima, data dinyatakan terdistribusi normal. Berdasarkan data yang terdistribusi normal, dilanjutkan analisis menggunakan ANOVA *two way*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan tabel *tukey test* menunjukkan tanda (*) pada angka mean difference, artinya hasil diameter hambat ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Tabel *hogeneous subset*, menunjukkan perbedaan yang signifikan pada tiap sampel. Sampel yang berbeda pada satu kolom menandakan tidak adanya perbedaan signifikan, sementara sampel yang berbeda pada kolom yang berada paling dekat dengan kolom kontrol positif menandakan bahwa sampel tersebut memiliki aktivitas antijamur yang paling efektif diantara sampel yang lain walaupun sampel tersebut aktivitasnya tidak sebanding dengan kontrol positif. Berdasarkan tabel *homogeneous subset*, fraksi etil asetat berada pada kolom 3, sedangkan kontrol positif ketokonazol berada pada kolom 4, melihat dari hasil tabel tersebut, dapat disimpulkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antijamur yang paling efektif walaupun aktivitasnya tidak sebanding dengan kontrol positif yaitu ketokonazol. Analisis ANOVA *two way* dapat dilihat pada lampiran 20.

Fraksi etil asetat dalam menghambat pertumbuhan *Pityrosporium ovale* ATCC 3179 mempunyai aktivitas antijamur yang paling efektif. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi lebih banyak menarik senyawa-senyawa semi polar yang terkandung dalam ekstrak daun salam seperti flavonoid dan steroid. Sifat etil asetat yang semipolar menyebabkan fraksi mengandung metabolit sekunder yang

telah kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan nonpolar oleh sebab itu fraksi etil asetat lebih banyak menarik senyawa-senyawa antijamur sehingga fraksi etil asetat menjadi fraksi yang paling efektif sebagai antijamur.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antijamur dengan cara mengganggu permeabilitas membran, menghambat pembentukan di dinding sel dan mengganggu aktivitas dari mitokondria sel jamur, selain itu senyawa flavonoid dapat mengganggu homeostasis mitokondria dan juga mengganggu integritas membrane sel jamur (Christoper 2017).

Steroid memiliki mekanisme kerja dengan menghambat pertumbuhan jamur, melalui sitoplasma atau mengganggu pertumbuhan spora jamur. Steroid dapat berfungsi sebagai antijamur dikarenakan sifat steroid yang lipofilik sehingga dapat menghambat perkecambahan spora pada jamur (Alfiah 2015).

Berdasarkan hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi etil asetat secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) mengandung senyawa flavonoid dan steroid. Hasil Identifikasi senyawa kimia fraksi etil asetat secara KLT dapat dilihat pada lampiran 5. Senyawa flavonoid merupakan senyawa golongan fenolik yang bersifat lipofilik (Kurniawati *et all* 2016). Sifat lipofilik pada flavonoid akan mengikat fosfolipid pada membran sel jamur dan mengganggu permeabilitas membran sel, sehingga menghambat pembentukan di dinding sel dan mengganggu aktivitas dari mitokondria sel jamur, selain itu senyawa flavonoid dapat mengganggu homeostasis mitokondria dan juga mengganggu integritas membran sel jamur (Christoper 2017). Mekanisme kerja steroid dapat menghambat pertumbuhan jamur, melalui sitoplasma atau mengganggu pertumbuhan spora jamur. Steroid dapat berfungsi sebagai antijamur dikarenakan sifat steroid yang lipofilik sehingga dapat menghambat perkecambahan spora pada jamur (Alfiah 2015).

Pengujian aktivitas antijamur selanjutnya yang akan dilakukan adalah metode dilusi atau uji seri pengenceran. Metode ini dipilih karena selain dapat menentukan ada tidaknya kemampuan antijamur pada fraksi teraktif yaitu fraksi etil asetat dari daun salam juga dapat menentukan besar Konsentrasi Hambat

Minimum (KHM) dan KFM (Konsentrasi Fungisidal Minimum) terhadap jamur uji. Pembuatan larutan uji fraksi etil asetat dilarutkan dengan DMSO 1% dengan seri konsentrasi yang dibuat untuk pengujian antijamur adalah 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19% dan 0,09%. Kontrol positif berupa jamur uji dalam media SGC (*Sabround Glukosa Cair*) dan kontrol negatif berupa fraksi etil asetat.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilihat dari kejernihan pada tabung yang menunjukkan bahwa pada tabung konsentrasi tertentu dapat menghambat pertumbuhan jamur. Hasil KHM daun salam tidak dapat ditentukan karena tertutupi oleh kekeruhan ekstrak dan fraksi yang digunakan. Hasil Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) menunjukkan adanya daya hambat antijamur fraksi etil asetat yang dapat dilihat dari pengujian fraksi etil asetat terhadap jamur *Pityrosporum ovale* pada tabung yang kemudian diinokulasi pada media *Sabround Dextrose Agar* (SDA). Hasil uji aktivitas antijamur terhadap *Pityrosporum ovale* ATCC 3179 secara dilusi seperti tabel 11.

Pada penelitian ini didapatkan hasil bahwa Konsentrasi Fungisidal Minimum (KFM) pada jamur *Pityrosporum ovale* ATCC 3179 adalah fraksi etil asetat daun salam konsentrasi 25%.

Tabel 11. Hasil aktivitas antijamur fraksi teraktif daun salam terhadap *Pityrosporum ovale* ATCC 3179

Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat		
	Replikasi		
	1	2	3
Kontrol (-)	-	-	-
50	-	-	-
25	-	-	-
12,5	+	+	+
6,25	+	+	+
3,125	+	+	+
1,56	+	+	+
0,78	+	+	+
0,39	+	+	+
0,19	+	+	+
0,09	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+

Keterangan :

Kontrol (-) : Fraksi etil asetat

Kontrol (+) : Suspensi jamur

D. Identifikasi Kandungan Kimia Fraksi Teraktif Daun Salam secara KLT

Identifikasi terhadap kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi teraktif yang memiliki aktivitas sebagai antijamur yaitu fraksi etil asetat. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui beberapa senyawa antijamur yang terkandung pada fraksi etil asetat.

1. Identifikasi Senyawa Flavonoid secara KLT

Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan KLT. Pada fase diam Silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak butanol : asam asetat : air (4:1:5). Lempeng dielusi di chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan menggunakan kertas saring. Tujuan penjenuhan chamber adalah untuk menghilangkan uap air atau gas lain yang mengisi fase penjerap yang akan menghalangi laju eluen. Pereaksi semprot yang digunakan yaitu uap amoniak dan sitroborat. Bercak yang terjadi diamati di bawah UV 254 nm memberikan peredaman dan UV 366 nm menunjukkan warna bercak kuning. Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi flavonoid menggunakan fase gerak butanol: asam asetat: air (4:1:5), fase diam silica gel GF₂₅₄ serta pereaksi semprot uap ammonia dan sitroborat. Bercak pada UV 254 nm terjadi peredaman, pada sinar UV 366 nm menunjukkan bercak kuning, sinar tampak setelah disemprot uap ammonia dan sitroborat menunjukkan warna kuning kecoklatan dan R_f flavonoid 0,57. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi teraktif etil asetat positif mengandung flavonoid. Hasil KLT dapat dilihat pada lampiran 5.

2. Identifikasi Senyawa Tanin secara KLT

Identifikasi tanin dilakukan dengan menggunakan KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak etil asetat: asam formiat: toluen: air (6:1,5:3:6,5). Lempeng dielusi di chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan menggunakan kertas saring. Tujuan penjenuhan chamber adalah untuk menghilangkan uap air atau gas lain yang mengisi fase penjerap yang akan menghalangi laju eluen. Melakukan deteksi dibawah sinar UV 254 nm dan 366

nm bercak tidak tampak. Pereaksi semprot yang digunakan adalah FeCl_3 1% (Depkes 2000).

Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi flavonoid menggunakan fase gerak etil asetat: asam formiat: toluene: air (6:1,5:3:6,5), fase diam silika gel GF₂₅₄ serta pereaksi semprot FeCl_3 1%. Bercak pada UV 254 nm berfluoresensi lembayung dan setelah disemprot FeCl_3 menunjukkan warna hijau atau biru. Hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat negatif mengandung tanin dikarenakan bercak tidak menunjukkan perubahan warna menjadi biru. Hasil KLT dapat dilihat pada lampiran 5.

3. Identifikasi Senyawa Steroid secara KLT

Identifikasi steroid dilakukan dengan menggunakan KLT menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak kloroform: metanol (9: 1). Lempeng dielusi di chamber berisi eluen yang telah dijenuhkan menggunakan kertas saring. Tujuan penjenuhan chamber adalah untuk menghilangkan uap air atau gas lain yang mengisi fase penjerap yang akan menghalangi laju eluen. Deteksi dilakukan dibawah sinar UV 254 nm dan 366 nm. Pereaksi semprot yang digunakan adalah *Lieberman burchard*

Tabel 12. Hasil identifikasi senyawa kimia fraksi teraktif secara KLT

Identifikasi	R _f	UV 254	UV 366	Pereaksi semprot	Hasil
Flavonoid	0,57	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning kecoklatan	(+)
Tanin	-	Peredaman	Peredaman	Tidak tampak	(-)
Steroid	0,86	Peredaman	Peredaman	Biru kehijauan	(+)

Berdasarkan tabel 11 dapat dilihat bahwa hasil identifikasi steroid bercak pada sinar tampak setelah disemprot *Lieberman burchard* menunjukkan warna biru kehijauan dan R_f steroid 0,86. Hasil tersebut menunjukkan bahwa fraksi steroid positif mengandung steroid. Hasil KLT dapat dilihat pada lampiran 5.