

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL
ASETAT DAN AIR DARI DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L.)
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10321**



Oleh :

**Dominggas Viance Nana
19133968A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL
ASETAT DAN AIR DARI DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L.)
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10321**

 **SKRIPSI**
*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Dominggas Viance Nana
19133968A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

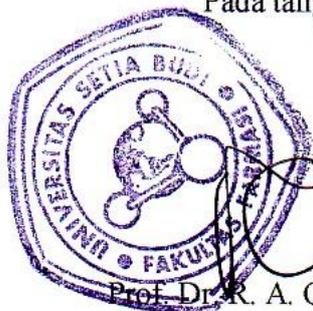
PENGESAHAN SKRIPSI

Berjudul

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL
ASETAT DAN AIR DARI DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L.)
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10321**

**Oleh :
Dominggas Viance Nana
19133968 A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 8 Agustus 2017



Dekan,

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Pembimbing Utama,

Dr. Supriyadi, M.Si

Pembimbing Pendamping,

Dra. Nony Puspawati, M.Si

Penguji :

1. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt

2. D. Andang Arif Wibawa, SP.,M.Si

3. Nur Aini Dewi Purnamasari M.Sc., Apt

4. Dr. Supriyadi, M.Si

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

**“Segala perkara dapat kutanggung di dalam Dia
Yang memberi kekuatan kepadaku”**

(Filipi 4:13)

Skripsi ini saya persembahkan kepada:

- 1. Tuhan yesus kristus dan Bunda Maria**
- 2. Bapak dan mama tercinta, sahabat-sahabat seperjuangan**
- 3. Almamater, Bangsa dan Negara**

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 pengetahuan 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/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 8 Agustus 2017



Dominggas Viance Nana

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah Bapak di surga yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L.) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10321”**. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai derajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Djoni Taringan. 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. Supriyadi, M.Si, selaku Dosen pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, arahan, nasehat, dan semangat sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi skripsi ini.
4. Dra. Nony Puspawati, M.Si, selaku dosen pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, pengarahan, dan koreksi penulis.
5. Dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan dan saran yang membangun untuk memperbaiki skripsi ini.
6. Terima kasih kepada Pak Hendrikus, Pak Joko, Ibu Sumarsi, Mas Rama dan segenap asisten Laboratorium Mikrobiologi dan Fitokimia Universitas Setia Budi, Surakarta yang telah banyak membantu.
7. Bapak Niko, mama Udis, adik Nuel, adik Mar, adik Vita yang telah memberikan kasih sayang, motivasi, semangat, dan doa sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan lancar.
8. Sahabat – sahabat (Kak Aty, Kak Riga, Kak Ge, Lia, Feby, Murni) selalu menemani, membantu, serta memberikan semangat.

9. Berbagai pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu

Penulisan menyadari masih banyak kekurangan dalam menyusun skripsi ini. Oleh karna itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari siapapun yang bersifat membangun. Akhirnya, penulis berharap semoga karya tulis ini dapat bermanfaat bagi siapapun yang mempelajarinya.

Surakarta, 8 Agustus 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
PERSEMBAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
INTISARI.....	xiv
ABSTRACT.....	xv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tatanama Daun Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Nama Daerah	4
3. Morfologi tanaman	5
4. Khasiat	5
5. Kandungan Kimia.....	5
5.1. Flavonoid	6
5.2. Alkaloid.....	6
5.3. Saponin	6
5.4. Triterpenoid.....	7
5.5. Tanin	7
5.6. Fenol	7
6. Manfaat dari tanaman	8
B. Simplisia	8

1.	Pengertian simplisia	8
2.	Pengumpulan simplisia.....	8
3.	Pengeringan	9
C.	Metode Penyarian	9
1.	Pengertian penyarian	9
2.	Ekstrak.....	9
3.	Metode maserasi.....	10
4.	Fraksinasi.....	10
5.	Pelarut.....	10
5.1.	Etanol.....	10
5.2.	<i>n</i> -Heksan.....	11
5.3.	Etil asetat	11
5.4.	Air.....	11
D.	Jamur	11
1.	Definisi jamur	11
2.	Morfologi jamur	12
3.	Fisiologi Jamur	12
4.	Sistematika <i>Candida Albicans</i>	13
4.1	Klasifikasi <i>Candida albicans</i>	13
4.2	Morfologi.....	13
4.3	Karakteristik	13
4.4	Patogenesis	14
E.	Antijamur.....	15
1.	Pengertian	15
2.	Mekanisme kerja antijamur	15
2.1.	Kerusakan pada dinding sel.....	15
2.2.	Perubahan permeabilitas sel	15
2.3.	Perubahan molekul protein dan asam nukleat.....	16
2.4.	Penghambat kerja enzim	16
2.5.	Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.....	16
F.	Uji Aktivitas Antijamur	16
1.	Metode Difusi.....	16
2.	Metode pengenceran/dilusi.....	17
G.	Media.....	17
H.	Ketokonazol.....	18
I.	Landasan Teori	19
J.	Hipotesis	22
BAB III METODE PENELITIAN		23
A.	Populasi dan Sampel.....	23
B.	Variabel Penelitian	23
1.	Identifikasi variabel utama	23
2.	Klasifikasi variabel utama	23
3.	Definisi operasional variabel utama	24
C.	Alat dan Bahan	25
1.	Alat	25

2.	Bahan.....	25
2.1.	Bahan.....	25
2.2.	Jamur uji.....	25
2.3.	Media.....	25
2.4.	Bahan kimia.....	25
D.	Jalannya penelitian	25
1.	Determinasi dan identifikasi daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	25
2.	Pembuatan serbuk daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	26
3.	Penetapan kadar air	26
4.	Pembuatan ekstrak etanol daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.) secara maserasi.....	26
5.	Uji bebas etanol ekstrak daun jambu mete.....	26
6.	Pembuatan fraksinasi dari etanol daun jambu mete	27
6.1.	Pembuatan fraksi <i>n</i> -Heksan daun jambu mete	27
6.2.	Fraksinasi etil asetat dari daun jambu mete.....	27
6.3.	Fraksinasi air daun jambu mete.....	27
7.	Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak, fraksi daun jambu mete.	27
7.1.	Identifikasi flavonoid	27
7.2.	Identifikasi saponin	27
7.3.	Identifikasi tanin.....	28
7.4.	Identifikasi alkaloid.....	28
7.5.	Identifikasi triterpenoid	28
8.	Sterilisai.....	28
9.	Identifikasi jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10321.	28
9.1.	Identifikasi koloni pada media selektif	28
9.2.	Identifikasi mikroskopis	28
9.3.	Identifikasi biokimia.....	29
10.	Pembuatan suspensi jamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10321	29
11.	Pengujian aktivitas antijamur fraksi terakhir <i>n</i> -Heksan, etil asetat dan air daun jambu mete	29
E.	Analisis Hasil.....	30
BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN.....		35
A.	Hasil Penelitian.....	35
1.	Determinasi dan deskripsi tanaman daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	35
1.1.	Determinasi tanaman.....	35
1.2.	Deskripsi tanaman daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).	35
2.	Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu mete.....	36

3. Penetapan susut kering serbuk daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	36
4. Pembuatan ekstrak maserasi daun jambu mete	37
5. Tes bebas etanol ekstrak maserasi daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	38
6. Identifikasi senyawa ekstrak etanol daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	38
Tabel 6. Identifikasi senyawa kimia fraksi daun jambu mete	39
7. Fraksinasi.....	39
8. Hasil identifikasi jamur uji.	41
9. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara difusi.....	43
10. Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi	46
 BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	49
A. Kesimpulan.....	49
B. Saran	49
 DAFTAR PUSTAKA	50
 LAMPIRAN.....	56

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak dan fraksi daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.)	31
Gambar 2. Skema pembuatan suspensi jamur uji 1:1000.....	32
Gambar 3. Skema kerja uji aktivitas daun jambu mete terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara difusi.	33
Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antijamur fraksi <i>n</i> -Heksan, etil asetat dan air dari daun jambu mete dengan metode dilusi	34
Gambar 5. Foto inokulasi	41
Gambar 6. Identifikasi mikroskopis terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10321	42
Gambar 7. Identifikasi biokimia terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10321	42

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mete	36
Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mete	37
Tabel 3. Rendeman ekstra etanol daun jambu mete	38
Tabel 4. Uji bebas etanol pada ekstrak etanol daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	38
Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa kimia daun jambu mete	38
Tabel 6. Identifikasi senyawa kimia fraksi daun jambu mete	39
Tabel 7. Persentase fraksi <i>n</i> -Heksan, etil asetat, dan fraksi air daun jambu mete	39
Tabel 8. Hasil uji aktivitas antijamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 metode difusi	43
Tabel 9. Hasil inokulasi fraksi etil asetat daun jambu mete terhadap <i>Candida albicans</i>	47

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Daun Jambu Mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.).....	57
Lampiran 2. Foto tanaman daun jambu mete (<i>Anacardium occidentale</i> L.) dan serbuk daun jambu mete	58
Lampiran 3. Foto hasil ekstrak dan fraksinasi serbuk daun jambu mete	59
Lampiran 4. Foto kandungan kimia ekstrak daun jambu mete	60
Lampiran 5. Gambar Alat	60
Lampiran 6. Foto biakan <i>Candida albicans</i>	63
Lampiran 7. Hasil uji antijamur fraksi <i>n</i> -Heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap <i>Candida albicans</i> secara difusi.....	64
Lampiran 8. Foto hasil dilusi dan inokulasi fraksi etil asetat dari daun jambu mete terhadap <i>Candida albicans</i>	65
Lampiran 9. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mete	66
Lampiran 10. Perhitungan penetapan susut pengeringan menggunakan alat <i>Moisture balance</i>	66
Lampiran 11. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun jambu mete	67
Lampiran 12. Rendemen fraksi etil asetat daun jambu mete	68
Lampiran 13. Rendemen hasil fraksinasi air daun jambu mete	69
Lampiran 14. Analisis data	70
Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media.....	77
Lampiran 16. Perhitungan pengenceran DMSO 1 % (<i>Dimethyl Sulfoxida</i>)	79
Lampiran 17. Pembuatan sediaan untuk uji difusi.....	80

INTISARI

NANA, D.V.,2017., UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL, FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN JAMBU METE (*Anacardium occidentale* L.) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10321. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) mengandung flavonoid, alkaloid, tannin, saponin, fenol, dan triterpenoid. Berkhasiat sebagai antiradang, pencakar, disentri, diabetes, dan sakit gigi. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10321, mengetahui antara ketiga fraksi yang menghasilkan aktivitas antijamur teraktif serta mengetahui nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.).

Ekstrak daun jambu mete diperoleh dengan proses maserasi menggunakan etanol 70%. Penentuan efektifitas fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air daun jambu mete secara difusi dan dilusi. Metode difusi dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% dan kontrol positif ketokonazol. Metode dilusi menggunakan seri pengenceran 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,57%, 0,79%, 0,40%, dan 0,20%. Analisis data yang diperoleh dari hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi diuji secara statistik menggunakan ANOVA *One Way* menunjukkan adanya perbedaan nyata pada konsentrasi dalam menghambat aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10321.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak, fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun jambu mete mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Fraksi etil asetat, mempunyai aktivitas antijamur terbaik dibandingkan fraksi *n*-Heksan, fraksi yang mempunyai aktivitas antijamur terbaik adalah fraksi etil asetat. KBM fraksi etil asetat dari ekstrak etanol daun jambu mete adalah konsentrasi 3,13%.

Kata kunci : daun jambu mete, antijamur, *Candida albicans*.

ABSTRACT

NANA, D.V.,2017, FRACTION TEST ANTIFUNGAL ACTIVITY OF N-HEXANE, ETHYL ACETATE FRACTION, AND FRACTION ETHANOLIC LEAF EXTRACT WATER CASHEW (*Anacardium occidentale* L.) BY MACERATION TO *Candida albicans*, SCRIPT, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The leaves of the cashew *Anacardium occidentale* [L] contains flavonoids, alkaloids, tannins, saponins, phenols, and triterpenoid. Nutritious as antiradang, laxative, dysentery, diabetes, and toothache. This research aims to test the antifungal activity of ethanol extracts, the fraction of n-Heksan, the fraction of ethyl acetate and fractions of the water leaves the cashew (*Anacardium occidentale* L.) against *Candida albicans* ATCC 10321, knowing among the three factions that resulted antifungal activity was more active and knowing the value of KHM and KBM from the faction most active extract of leaves of the cashew *Anacardium occidentale* [L].

Cashew leaf extract is obtained by the process of maceration using ethanol 70%. Determination of the effective fraction of n-Heksan, ethyl acetate fraction, the fraction of leaf water and cashew nuts in diffusion and dilution. The diffusion method with a concentration of 50%, 25%, 12.5% and positive control ketokonazol. Serial dilution method using a dilution of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.13%, 1.57%, 0.79%, 0.40%, and 0.20%. Analysis of data obtained from antifungal activity test results with statistically tested diffusion method using One-way ANOVA showed significant differences in concentrations of antifungal activity of inhibiting *Candida albicans* ATCC 10321.

The results of this study showed that the extract, the fraction of n-Heksan and ethyl acetate fraction, the fraction of water from the leaves of cashew nuts have antifungal activity against *Candida albicans*. The fraction of ethyl acetate, has the best antifungal activities compared to the fraction of n-Heksan, the fraction of water and ethanol extracts of leaves of cashew nuts. KBM fraction of ethyl acetate from ethanol leaf extracts of cashew nuts which can kill *Candida albicans* is the concentration of 3,13%.

Keyword : Cashew leaf, fractionation, antifungal, *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 dan dibawah jari-jari kuku, tangan dan kaki (Simatupang 2009). *Candida albicans* bersifat oportunistik patogen, yaitu tidak patogen pada individu sehat tetapi akan menjadi patogen pada individu dengan kondisi *immuno compromised*. *Candida albicans* akan berproliferasi menyebabkan virulensinya meningkat dan berubah menjadi patogen, sehingga dapat menimbulkan infeksi (Brooks *et al.* 1996). Infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans* disebut kandidiasis, salah satunya adalah kandidiasis vulvovaginitis. Prevalensi terjadinya kandidiasis vulvovaginitis adalah sebesar 70-75% (Suyoso 2013).

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. Tumbuhan masih merupakan salah satu sumber yang diperlukan dalam dunia medis, banyak tumbuhan yang digunakan sebagai obat penyembuh dan mencegah penyakit. Pengobatan menggunakan obat yang berasal dari bahan alam pun lebih banyak disukai dikarenakan biaya yang relatif murah, mudah didapat serta memiliki efek samping yang relatif lebih rendah dibanding dengan pengobatan secara kimia.

Tanaman yang berfungsi sebagai antijamur *Candida albicans* salah satunya adalah daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.). Daun jambu mete memiliki beberapa khasiat diantaranya sebagai obat luka bakar, diare, penyakit kulit, hipertensi dan diabetes melitus (Sugeng 2009). Daun jambu mete mengandung senyawa kimia antara lain tannin, asam anakardat, kardol, karbohidrat, protein, lemak, vitamin dan mineral (Ariyani *et al.* 2007). Daun jambu mete mengandung dua kandungan utama, yaitu tanin dan senyawa fenol. Selain itu, kandungan kimia lain yang terdapat pada daun jambu mete yaitu

flavonol, asam anakardiol, asam elagat, kardol dan metal kardol (Sulistyawati 2009). Beberapa penelitian menyatakan bahwa tanin dapat berfungsi sebagai anti jamur dan senyawa fenol yang terkandung dalam daun ini memiliki efektivitas dalam menghambat atau membunuh jamur *Candida albicans* pada lempeng resin akrilik (Rianti 2003).

Berdasarkan latar belakang tersebut maka peneliti tertarik melakukan penelitian untuk menguji potensi fraksi-fraksi daun jambu mete terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Penelitian ini perlu dilakukan untuk menguji aktivitas fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun jambu mete terhadap *Candida albicans*.

Metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas dari *Candida albicans* menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk menghitung daerah hambatan yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroorganisme yang diperiksa (Jawet *et al.* 2007). Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Bonang & Koeswardono 1982).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas maka perumusan masalah dalam penelitian ini sebagai berikut :

1. Apakah ekstrak, fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?
2. Manakah dari fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?
3. Berapakah nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antijamur ekstrak, fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.
2. Mengetahui antara ketiga fraksi (*n*-Heksan, etil asetat dan air) dari ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang menghasilkan aktivitas antijamur teraktif.
3. Mengetahui nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah penggunaan daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) sebagai obat tradisional khususnya sebagai antijamur terutama terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dan menambah informasi tentang sumber obat alam dari tumbuhan yang terdapat di Indonesia.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tatanama Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.).

1. Sistematika tanaman

Sistematika Jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Plantae
- Divisi : Spermatophyta
- Sub divisi : Angiospermeae
- Kelas : Dicotyledoneae
- Ordo : Sapindales
- Famili : Anacardiaceae
- Genus : *Anacardium*
- Spesies : *Anacardium occidentale* L. (Herbie T 2015)



2. Nama Daerah

Jambu mete di Indonesia dikenal dengan bermacam - macam nama, sesuai dengan masing-masing daerah. Antara lain dikenal sebagai jambu erang, gaju (Sumatera), jambu mete (Jawa), jambu jipang (Nusa Tenggara), jambu dipa, jambu parang, jambu sempal (Kalimantan), jambu dare, jambu sereng (Sulawesi), kanoke, buwa yakis, buwa jaki (Maluku) (Dalimartha 2000).

3. Morfologi tanaman

Jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) termasuk jenis dikotil atau tumbuhan yang berdaun lembaga dua. Jambu mete termasuk tumbuhan yang berkeping biji dua atau disebut juga tumbuhan berbiji belah. Jambu mete mempunyai batang pohon yang tingginya 8-12 cm, memiliki cabang dan ranting yang banyak. Batang melengkung, berkayu, bergetah, percabang mulai dari bagian pangkalnya. Daun tunggal, bertangkai, panjang 4-22,5 cm, lebar 2,5-15 cm. Selain daun berbentuk bulat telur sungsang, tepi rata, pangkal runcing, ujung membulat dengang lekukan kecil dibagian tengah, pertulangan menyirip, berwarna hijau. Bunga berumah satu memiliki bunga betina dan bunga jantan, tersusun bentuk malai, keluar diketiak daun atau diujung percabangan. Buahnya batu, keras, melengkung. Tangkai buahnya lama kelamaan akan menggelembung menjadi buah semu yang lunak, seperti buah peer, berwarna kuning, kadang-kadang bernoda merah, rasanya manis agak sepat, banyak mengandung air dan berserat. Biji bulat panjang, melengkung, pipih, warnanya coklat tua (Yuniarti 2008).

4. Khasiat

Tanaman jambu mete mempunyai berbagai khasiat secara empiris. Daun jambu mete berkhasiat sebagai antiradang dan menurunkan kadar glukosa dara. Akar tanaman berfungsi sebagai pencahar (Dalimartha 2000). Buahnya digunakan sebagai makanan dan obat penyakit kulit. Kulit batang digunakan sebagai diabetes, radang pada mulut, antidisentri, sakit gigi, pencahar dan sariawan. Biji digunakan untuk makanan dan pelembut kulit (Sudarsono *et al.* 2002). Kulit biji jambu monyet mempunyai aktivitas sitotoksik (Kusrini & Ismardiyanto 2003).

5. Kandungan Kimia

Daun jambu mete mengandung asam hidroksi benzoat, glikosida kaemferol, glikosida kuersetin. Komponen eksudat daun terdiri dari 4-O-metil glukuronat, arabinosa, galaktosa, dan ramnosa (Sudarsono *et al.* 2002), tanin-galat, flavonol, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol, metil kardol (Dalimartha 2000), flavonoid, steroid, triterpen (Fazali *et al.* 2011), resin, saponin, dan alkaloid (Abulude *et al.* 2009).

Daun jambu mete mengandung dua kandungan utama, yaitu tanin dan senyawa fenol. Senyawa fenol yang dapat dimanfaatkan sebagai antijamur (Sulistyawati 2009). Selain itu, kandungan kimia lain yang terdapat pada daun jambu mete yaitu flavonol, asam anakardiol, asam elagat, kardol dan metal kardol (Sulistyawati 2009).

5.1. Flavonoid. Senyawa flavonoid diturunkan dari unit C6-C3 (fenil propana) yang bersumber dari asam sikimat (via fenilalanin) unit C6 yang diturunkan dari jalur poliketida. Frakmen poliketida disusun dari tiga molekul malonil-KoA, yang bergabung dengan unit C6-C3 (sebagai koA tioester) untuk membentuk unit awal triketida. Flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida. Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter. Sebagai glikosida dan aglikon, senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan, glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Heinrich *et al.* 2005).

5.2. Alkaloid. Sebagian besar alkaloid mempunyai kerangka dasar polisiklik termasuk cincin heterosiklik nitrogen serta mengandung substituen yang tidak terlalu bervariasi. Atom nitrogen alkaloida hampir selalu berada dalam bentuk gugus amina ($-NR_2$) atau gugus amida ($-CO-NR_2$) dan tidak pernah dalam bentuk gugus nitro (NO_2) atau gugus diazo. Sedangkan substituen oksigen biasanya ditemukan sebagai gugus fenol ($-OH$), metoksil ($-OCH_3$) atau gugus metilendioksi ($-O-CH_2-O$). Substituen-substituen oksigen ini dan gugus N-metil merupakan ciri sebagian besar alkaloida (Leny 2006).

5.3. Saponin. Saponin merupakan senyawa aktif permukaan yang kuat yang menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah dan beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba (Robinson 1995). Saponin terdiri dari sapogenin yaitu bagian yang bebas dari glikosida yang disebut juga *aglycone*. Saponin mengikat sakarida yang panjangnya bervariasi dari monosakarida hingga mencapai 11 unit

monosakarida, yang paling sering panjang sakaridanya antar 2-5 unit. Monosakarida yang sering dijumpai adalah D-glukosa dan D-galaktosa.

Sapogenin yang bersifat lipofilik serta sakarida yang hidrofilik. Pelarut yang baik untuk ini adalah etanol karena dapat melarutkan klorofil yang terdapat dalam jaringan yang berwarna hijau. Selanjutnya etanol diuapkan, diberi air panas, maka klorofil akan terpisah dan lapisan air dapat diekstraksi lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa yang dimaksud (Harborne 1996).

5.4. Triterpenoid. Terpenoid adalah semua senyawa yang terbentuk dari satuan isopren, tanpa memperhatikan gugus fungsi yang ada, sementara terpena mengacu khusus ke hidrokarbon. Monoterpenoid dan seskuiterpen merupakan komponen utama minyak atsiri dan mempunyai makna ekonomi yang besar sebagai bau dan rasa, wewangian, dan pelarut (Robinson 1995).

5.5. Tanin. Tanin adalah sekelompok senyawa fenolat dengan bobot molekul 500-3000 dan dapat bereaksi dengan protein membentuk kompleks protein-tanin yang tidak larut pada konsentrasi dan pH tertentu. Hal ini terjadi pada kondisi bobot molekul rendah, stabilitas kompleks rendah, sedangkan pada bobot molekul tinggi, proses penyamakan tidak efektif karena terlalu besar untuk penetrasi serat (Widyasari 2007).

5.6. Fenol. Fenol adalah senyawa dengan rumus $ArOH$, dimana Ar adalah fenil atau fenil terdistribusi atau aril. Fenol berbeda dari alkohol dari posisi gugus OH-nya yang langsung berikatan dengan cincin aromatik. Fenol adalah suatu senyawa aromatik yang struktur kimianya diturunkan dari benzene jika satu atau lebih atom hidrogen yang terikat pada inti benzene diganti dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Sehingga pada fenol, gugus hidroksil terikat langsung pada inti benzena dan disebut gugus hidroksil fenolik. Larutan fenol dalam air dikenal sebagai asam karbol atau air karbol dan dipakai sebagai desinfektan. Hal ini didasarkan atas sifat fenol yang dapat mengkoagulasikan protein dan dengan cara ini, fenol merusak protein mikroba sehingga mikroba-mikroba tersebut mati (Sumardjo 2009).

6. Manfaat dari tanaman

Bagian buah pada umumnya digunakan sebagai makanan dan obat penyakit kulit. Selain itu kulit batang sering digunakan sebagai obat disentri, diabetes, radang pada mulut, sakit gigi, pencahar, sariawan. Biji tanaman ini selain untuk makanan juga untuk pelembut kulit. Minyak biji untuk ruam kulit, sedangkan tangkai daun untuk bahan pengelat. Akar digunakan sebagai pencahar. Dan daun digunakan untuk obat penyakit kulit (Obtrando 2010). Akar jambu mete berkhasiat sebagai pencuci perut. Daun jambu mete yang masih muda dimanfaatkan sebagai lalap, terutama di Jawa Barat. Berdasarkan informasi dari (Dalimartha 2000), bahwa daun jambu mete mengandung fenol dimana fenol dapat dimanfaatkan sebagai anti fungi. Sampai saat ini belum banyak dilakukan penelitian tentang daya anti jamur daun jambu mete terhadap *Candida albicans* (Sulistyawati 2009).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun juga dan kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang telah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia mineral (Depkes 1983). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman dan eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia yang berupa hewan utuh atau zat-zat berguna yang dihasilkan oleh hewan dan belum zat kimia murni. Simplisia mineral adalah simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Gunawan & Mulyani 2004).

2. Pengumpulan simplisia

Waktu panen sangat erat dengan pembentukan senyawa aktif di dalam bagian tanaman yang dipanen. Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang besar (Depkes 1985).

3. Pengeringan

Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya. Pengeringan simplisia dilakukan dengan menggunakan alat pengering. Saat pengeringan, yang perlu diperhatikan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Pengeringan panas sinar matahari paling banyak digunakan di Indonesia karena lebih mudah dan murah (Gunawan & Mulyani 2004).

C. Metode Penyarian

1. Pengertian penyarian

Penyarian adalah kegiatan penarikan zat dapat larut dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Simplisia yang disari mengandung zat aktif yang dapat larut dan zat yang tidak dapat larut. Metode penyarian yang digunakan bergantung pada wujud dan kandungan zat alam yang akan disari. Pemilihan sistem pelarut yang digunakan dalam ekstraksi harus mempunyai kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagi unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989). Ekstrak berdasarkan konsistensinya dibedakan menjadi tiga, yaitu ekstrak cair, ekstrak kental, dan ekstrak kering. Ekstrak cair merupakan sediaan cair hasil dari penyaringan simplisia. Ekstrak kental merupakan sediaan kental yang dibuat dari simplisia kemudian diuapkan pelarutnya. Ekstrak kering merupakan sediaan yang berbentuk bubuk yang dibuat dari hasil tarikan simpisia yang diuapkan dengan pelarut hingga kering (Voigt 1994).

2. Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan berupa kering kental, dan cair dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang cocok di luar pengaruh cahaya matahari langsung. Metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa, seperti sifat dari bahan mentah obat atau simplisia dan daya penyesuaian dengan tiap

macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat atau simplisia (Ansel 1989).

3. Metode maserasi

Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif tersebut akan larut karena ada perbedaan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel, maka larutan yang terpekat yang didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan yang digunakan sederhana dan mudah diusahakan. Kerugian maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes 1986).

Selama proses maserasi, bahan direndam dalam wadah bermulut lebar, ditutup rapat dan dikocok berulang-ulang selama 2-4 hari, tetapi 5 hari telah cukup memadai (Ansel 1989).

4. Fraksinasi

Suatu cara untuk memisahkan golongan utama kandungan satu dari golongan utama kandungan yang lain berdasarkan kepolarannya. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda. Senyawa-senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa-senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar (Harborne 1987).

5. Pelarut

5.1.Etanol. Etanol merupakan larutan serba guna yang baik untuk ekstraksi pendahuluan agar diperoleh hasil yang baik, penyarian biasanya digunakan campuran antara etanol dan air. Etanol 70% dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih efektif dalam menghasilkan jumlah bahan yang optimal dan bahan yang diperlukan hanya sedikit yang turut ke dalam pengestraksi. Keuntungan etanol 70% antara lain tidak beracun, absorbsinya baik, sulit ditumbuhi mikroorganisme, efektif dalam menghasilkan jumlah bahan aktif yang optimal dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil ikut dalam cairan pengestraksi, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan dapat

melarutkan alkaloid basa, minyak menguap, glikosida, kurkumin, kumarin, antrakuinon, flavonoid, steroid, damar, klorofil, tanon, dan saponin. Lemak dan hanya sedikit yang larut (List 2000).

5.2.n-Heksan. Pelarut *n*-Heksana merupakan pelarut nonpolar berupa cairan jernih, tidak berwarna, dapat bercampur dengan etanol, mudah menguap, mudah terbakar dan mempunyai bau seperti eter lemah atau bau seperti petroleum, praktis tidak larut dalam air, larut dalam etanol. *n*-Heksana dapat melarutkan senyawa-senyawa nonpolar, misalnya golongan kandungan kimia minyak atsiri, lemak dan asam lemak tinggi, steroid dan triterpenoid dan karotenoid (Kristijono 2008).

5.3.Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar, dan mudah menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, dan larut 15 bagian air. Etil asetat dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform. Senyawa yang larut kedalam pelarut ini adalah flavonoid (Depkes RI 1979; Harbone 1987).

5.4.Air. Air digunakan sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tannin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pectin, zat warna dan asam organik (List 2000).

D. Jamur

1. Definisi jamur

Jamur adalah suatu organisme eukariotik yang mempunyai ciri-ciri yang spesifik yaitu mempunyai inti, tidak berklorofil dan beberapa jamur mempunyai bagian-bagian tubuh berbetuk 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. Simbiosis ini dikenal dengan nama mikoriza. Beberapa jamur dapat bersifat parasit dengan

memperoleh senyawa organik dari organisme hidup. Hal ini, jamur bersifat merugikan karena menimbulkan penyakit pada manusia, hewan, maupun tanaman (Pratiwi 2008). Jamur yang digunakan adalah *Candida albicans*, jamur tersebut memperbanyak diri dengan spora yang dibentuk langsung dari hifa tanpa adanya peleburan inti dan berbentuk tunas. *Candida* membentuk pseudohifa yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang-cabang (Jawetz 2005).

2. Morfologi jamur

Jamur terdiri dari kapang dan khamir. Kapang adalah jamur yang mempunyai filamen. Tubuh atau talus, suatu kapang pada dasarnya terdiri dari dua bagian: miselium dan spora. Miselium merupakan kumpulan beberapa filamen yang dinamakan hifa. Setiap hifa lebarnya 5 sampai 10 mikro meter, dibandingkan dengan sel bakteri yang biasanya berdiameter 1 mikro meter. Khamir merupakan jamur sel tunggal tanpa filamen. Khamir sangat beragam ukurannya berkisar antara 1 sampai 5 mikro meter lebarnya dan panjangnya dari 5 sampai 30 μm atau lebih. Biasanya berbentuk telur, tetapi beberapa ada yang memanjang atau berbentuk bola. Setiap spesies mempunyai bentuk yang 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).

3. Fisiologi Jamur

Jamur memerlukan kondisi gelap 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. Hal ini memungkinkan jamur dapat tumbuh pada selai atau acar. Khamir bersifat fakultatif artinya khamir dapat hidup dalam keadaan aerob ataupun anaerob sedangkan kapang organisme aerob sejati. Beberapa jamur terutama jamur patogen memiliki dua bentuk pertumbuhan sebagai kapang dan khamir, sifat dimorfisme ini tergantung pada temperatur. Temperatur 37°C merupakan fase khamir dan temperatur $24\text{-}28^{\circ}\text{C}$ merupakan fase khapang (Pratiwi 2008).

4. Sistematika *Candida Albicans*

4.1 Klasifikasi *Candida albicans*. Klasifikasi jamur *Candia albicans* sebagai ATCC 10231 berikut :

Kingdom	: Fungi
Pylum	: Ascomycota
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Cryptococcaeca
Genus	: Candida
Spesies	: <i>Candida albicans</i> (Unipotr 2012)

4.2 Morfologi. *Candida albicans* ATCC 10231 berbentuk lonjong, bertunas dan merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi balstospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. *Candida albicans* ATCC 10231 dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH 4,5-6,5 pada suhu 28-37⁰C. (Koes 2014).

Candida albicans ATCC 10321 memiliki dua jenis morfologi yaitu seperti khamir dan hifa. Selain itu, fenotip atau penampakan mikroorganisme dapat berubah dari berwarna putih dan rata menjadi kerut tidak beraturan, berbentuk bintang, lingkaran, dan tidak tembus cahaya. *Candida albicans* ATCC 10321 mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung, sebagai target dari beberapa antimikotik dan memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. Terdapat 6 lapisan sel (dari luar kedalam) pada dinding sel *Candida albicans*, yaitu *fibrillar layer*, mannoprotein, β -glucan, β -glucan-chitin, mannoprotein dan membran plasma (Silamba 2014).

4.3 Karakteristik. Pada kondisi anaerob, *Candida albicans* ATCC 10321 mampu melakukan metabolisme sel. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali. Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* ATCC 10321 dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan

metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Dalam suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂ (Silamba 2014).

4.4 Patogenesis. Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel hospes menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Telah diketahui bahwa interaksi antara mikroorganisme dan sel hospes diperantarai oleh komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Mannan dan mannoprotein merupakan molekul-molekul *Candida albicans* ATCC 10321 yang mempunyai aktivitas adhesif. Khitin, komponen kecil yang terdapat pada dinding sel *Candida albicans* ATCC 10321 juga berperan dalam aktivitas adhesi. Setelah terjadi proses penempelan, *Candida albicans* ATCC 10321 berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Dalam hal ini enzim yang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Apa yang terjadi setelah proses penetrasi tergantung dari keadaan imun hospes (Tjampakasari 2006).

Candida albicans ATCC 10321 berada dalam tubuh manusia sebagai spora 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. Faktor eksogen meliputi pengaruh iklim yang panas dan kelembabpan yang menyebabkan respirasi meningkat, kebersihan kulit dan kontak dengan penderita (Simatupang 2009; Tjampakasari 2006).

Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10321 serta memudahkan invasi jamur kedalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam system pertahanan tubuh. Blastospora berkembang menjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut merusak jaringan, sehingga invasi kedalam jaringan dapat terjadi. 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).

E. Antijamur

1. Pengertian

Jamur adalah suatu mikroorganisme eukariotik yang memiliki ciri-ciri spesifik yaitu mempunyai inti sel, memproduksi spora, tidak mempunyai klorofil, berkembang biak secara seksual dan aseksual, dan beberapa jamur memiliki bagian-bagian tubuh berbentuk filamen dengan dinding sel yang mengandung selulosa atau kitin, atau keduanya (Fardiaz 1989). Antijamur adalah senyawa yang digunakan untuk pengobatan penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur. Umumnya suatu senyawa dikatakan sebagai zat antijamur apabila senyawa tersebut mampu menghadapi pertumbuhan jamur (Siswandono 2000).

2. Mekanisme kerja antijamur

Zat antijamur bekerja menurut dari salah satu dari berbagai cara, antara lain menyebabkan kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan molekul protein dan 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 1988).

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 didalam 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) ireversibel (tak dapat balik) komponen-komponen seluler yang vital ini.

2.4. Penghambat kerja enzim. Setiap enzim dari beratus-ratus enzim berbeda-beda yang ada didalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimia. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya 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 (Pelczar & Chan 1988).

F. Uji Aktivitas Antijamur

1. Metode Difusi

Metode difusi merupakan metode yang paling sering digunakan. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu metode silinder, metode lubang sumur, dan metode cakram keta/*disc diffusion*. Metode sumur yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi mikroba. Kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah itu diinkubasi, lalu pertumbuhan mikroba diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan disekeliling lubang (Kusmayati & Agustina 2007). *Disc diffusion* dilakukan dengan mengukur diameter zona bening

(*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan mikroba oleh suatu senyawa antimikroba dalam ekstrak (Hernawan *et al.* 2007).

2. Metode pengenceran/dilusi

Metode dilusi berguna untuk mencari konsentrasi hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba (Bonang & Koeswardono 1982). Prinsip metode dilusi adalah senyawa antimikroba diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi. Kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi mikroba uji dalam media cair. Lalu diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan mikroba, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM selanjutnya KHM tersebut dikultur ulang pada media agar tanpa penambahan mikroba uji ataupun senyawa antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang tidak menunjukkan tidak adanya pertumbuhan jamur setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi 2008).

G. Media

Media adalah suatu bahan atau campuran bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroba. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril, tidak ditumbuhi mikroba lain yang tidak diharapkan (Suriawiria 1995). Media tumbuh mikroba harus mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan mikroba, mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai, media tidak mengandung zat-zat penghambat dan media harus steril (Suryono 1995).

Media biakan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam bentuk padat, semi padat, dan cair. Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar. Agar berasal dari alga/ganggang yang berfungsi sebagai bahan pemat. Alga digunakan karena tidak diuraikan oleh mikroorganisme, dan dapat membeku pada suhu di atas 45⁰C (Waluyo 2004).

Media padat juga dapat digunakan untuk mengamati bentuk atau morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media semi padat biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas pergerakan mikroba maupun kemampuan fermentasi sedangkan media cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar dan fermentasi (Pratiwi 2008).

H. Ketokonazol

Ketokonazol merupakan antijamur sistemik per oral yang penyerapan bervariasi antar individu, obat ini menghasilkan kadar plasma yang cukup untuk menekan aktivitas berbagai jenis jamur. Ketokonazol aktif sebagai antijamur baik sistemik maupun non sistemik efektif terhadap *Candida albicans*, *Coccidioides immitis*, *Cryptococcus neoformans*, *H. Capsulatum*, *B. Dermatitidis*, *Aspergillus* dan *Sporathrix spp* (Fikaningrum 2014).

Antijamur sintetik azol menghambat jamur dengan menghambat biosintesis lipid jamur, terutama ergosterol pada membran sel. Efek ini diakibatkan oleh penghambatan pada 14 α -dementilasi yang membutuhkan P450 dari lanosterol jamur. Interaksi azol dengan demetilase C14A dalam sel jamur juga menyokong efek toksik utama azol pada sel mamalia, misalnya secara klinis ketokonazol 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 sindrom cushing. Suatu perbedaan penting antara imidazol dan triazol adalah afinitas triazol yang lebih besar terhadap enzim sitokrom P450 dan jamur dibandingkan dengan manusia. Sehingga efek penghambatannya hanya terlihat pada dosis tinggi (Gunawan 2007).

Ketokonazol suatu imidazol, merupakan obat pertama dari kelompok ini 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 pada pemberian antasida. Pengaruh makanan tidak begitu nyata terhadap penyerapan ketokonazol. Dosis harian menekan infeksi *Candida* mulut dan vagina dalam 1-2 minggu. Kandidiasis mukokutan pada anak-anak kurang imun memberi respon dalam 4-10 bulan (Katzung 2004).

I. Landasan Teori

Daun jambu mete adalah salah satu dari sekian banyak tanaman yang digunakan sebagai obat tradisional untuk pengobatan luka bakar, diare, penyakit kulit, hipertensi dan diabetes melitus (Sugeng 2009). Daun jambu mete dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional, salah satunya sebagai obat penyakit yang disebabkan oleh jamur. Kandungan kimia yang terdapat pada daun jambu mete antara lain tanin, flavonoid, asam anakardiol, asam elagat, senyawa fenol, kardol dan metal kardol. Tannin dalam daun ini diduga memiliki efektivitas dalam menghambat atau membunuh jamur *Candida albicans*. (Sulistyawati & Mulyati 2009). Alkaloid merupakan suatu senyawa yang bersifat basa (Lutfiyanti *et al.* 2012), sehingga kemungkinan akan menekan pertumbuhan jamur karena jamur tumbuh pada pH 3,8 –5,6 (Rahayu & Rahayu 2009). Senyawa flavonoid dan tanin yang terkandung dalam ekstrak termasuk golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel (Manitto 1992). Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur (Parwata & Dewi 2008).

Flavonoid merupakan golongan fenol terbesar yang berasal dari tumbuhan yang memiliki sifat antimikroba terhadap jamur. Mekanisme kerja flavonoid sebagai antijamur bekerja dengan merusak permeabilitas membran dinding sel dan protein ekstraseluler jamur *Candida albicans* (Apriasari *et al.* 2014). Senyawa aktif lain yang bersifat sebagai antijamur pada batang pisang mauli adalah tanin. Tanin merupakan senyawa kompleks berupa polifenol yang mampu bereaksi dengan dinding sel dan mampu menghambat sintesis sel kitin yang merupakan komponen penting pada *Candida albicans* (Apriasari *et al.* 2014). Komponen

fenolik bertanggung jawab pada aktivitas antijamur melawan *Candida albicans* (Ezoubeiri *et al.* 2005).

Mekanisme senyawa fenol sebagai antifungi yaitu berinteraksi dengan dinding sel fungi, dimana pada kadar yang rendah akan mendenaturasi protein dan pada kadar yang tinggi akan menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati (Siswandono & Sukardjo 1995).

Ekstrak etanol dari daun jambu mete memiliki daerah hambat terhadap pengujian aktivitas antimikroba (Dahake *et al.* 2009 ; Doss & Thangavel 2011 ; Arekemase 2011). Ekstrak etanol daun jambu mete terbukti mengandung senyawa flavonoid dan tanin serta mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* pada konsentrasi 12,5 % dan (Tika 2010). Daun jambu mete dengan fraksi etanol memiliki efek hypoglikemia dan bersifat antimikroba pada fase etil asetat (Saidu *et al.* 2012).

Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-Heksan yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti, minyak lemak dan asam lemak tinggi, steroid, triterpenoid, karotenoid (Harbone 1987). Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar, dan mudah menguap, maka penyimpanannya dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, dan larut 15 bagian air. Etil asetat dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform. Senyawa yang larut kedalam pelarut ini adalah flavonoid (Harbone 1987). Air digunakan sebagai pelarut karena murah, mudah diperoleh, stabil, tidak menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan garam alkaloid, minyak menguap, glikosida, tannin, gula, gom, pati, protein, enzim, lilin, pectin, zat warna dan asam organik (Depkes 1986).

Beberapa penelitian menyatakan bahwa tanin dapat berfungsi sebagai anti jamur dan senyawa fenol yang terkandung dalam daun ini memiliki efektivitas dalam menghambat atau membunuh jamur *Candida albicans* pada lempeng resin akrilik (Rianti, 2003). Ada penelitian sebelumnya telah dilakukan penelitian uji aktivitas antijamur infusa daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans*. Metode yang digunakan yaitu dengan mengamati daerah

radikal dan iradikal pada medium SGA di sekitar sumuran. Hasil menunjukkan bahwa aktivitas anti jamur infusa daun jambu mete terhadap *Candida albicans* mempunyai aktivitas untuk membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan menunjukkan daerah radikal pada konsentrasi (100%, 50%, 25%) (Sulistyawati 2009).

Metode yang digunakan dalam penyarian ekstrak daun jambu mete adalah maserasi. Maserasi adalah suatu proses penyarian dengan cara merendam serbuk simplisia di dalam pelarut tertentu disertai pengocokan berulang yang dapat menjamin suatu keseimbangan konsentrasi bahan ekstraktif yang lebih cepat dalam penyarian. Metode ini sederhana dan mudah dilakukan, tetapi membutuhkan waktu yang cukup lama dan penyariannya kurang sempurna (Ansel 1989 ; Voigt 1994). Bahan – bahan aktif tersebut dipisahkan berdasarkan kepolarannya dengan cara difraksinasi.

Fraksinasi adalah proses pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama kandungan dari golongan utama lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tumbuhan, pemisahan jumlah dan jenisnya senyawa menjadi fraksi yang berbeda. Mula – mula serbuk simplisia disari berturut – turut dengan larutan penyari yang berbeda – beda polaritasnya. Masing – masing pelarut secara selektif akan memisahkan kelompok kandungan kimia tersebut, mula – mula disari dengan pelarut bersifat non polar, kemudian disari dengan pelarut yang kurang polar dan terakhir dengan pelarut polar (Harbone 1987).

Berdasarkan permasalahan dan landasan teori yang ada, metode yang digunakan pada uji aktivitas antijamur adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi bertujuan untuk menghitung zona hambat yang terbentuk disekitar sumuran. Sedangkan metode dilusi bertujuan untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode dilusi ini membunuh antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap menggunakan metode cair. Jamur uji diinokulasi pada media SGC (*Sabaroud Glukosa Cair*) kemudian ditambahkan larutan uji dengan konsentrasi yang dapat menghambat atau mematikan jamur *Candida albicans* ATCC 10321

J. Hipotesis

Penelitian ini dapat ditarik hipotesis antara lain:

Pertama, ekstrak etanol fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun jambu mete mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10321.

Kedua, fraksi etil asetat dari daun jambu mete yang paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10321.

Ketiga, konsentrasi bunuh minimum (KBM) konsentrasi hambat minimum (KHM) dari fraksi teraktif ekstrak daun jambu mete terhadap *Candida albicans* ATCC 10321 dapat ditentukan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang diambil dari Malaka Nusa Tenggara Timur.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang diambil berwarna hijau, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda (warna hijau muda), sehat, yang masih menempel dibatang, dan diambil secara acak dari daerah Malaka Nusa Tenggara Timur pada bulan Desember 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama adalah ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang diekstraksi secara maserasi menggunakan larutan penyari etanol 70% dilanjutkan dengan fraksinasi yang menggunakan *n*-Heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar.

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

2. Klasifikasi variabel utama

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

Variabel bebas adalah variabel yang bila bersama dengan variabel lain, variabel lain berubah dalam variasinya. Variabel tergantung adalah variabel yang berubah karena variabel bebas. Variabel terkendali adalah variabel yang dianggap berpengaruh selain variabel bebas.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah fraksi ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) diuji antijamurnya dalam berbagai konsentrasi.

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.). Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang diambil berwarna hijau tua yang masih menempel dipohon dan diambil pada bulan Desember 2016 dari daerah Kobalima, Malaka, Nusa Tenggara Timur.

Kedua, daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang dipetik dan dicuci bersih dengan air mengalir sampai terbebas dari kotoran kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 40⁰C selama 24 jam lalu diserbuk dan diayak dengan ayakan nomor 40.

Ketiga, ekstrak maserasi daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) dalam etanol 70% sampai ekstrak jernih, kemudian dipekatkan dengan oven pada suhu 40⁰C.

Keempat, fraksi *n*-Heksan adalah hasil antara *n*-Heksan dengan ekstrak pekat daun jambu mete yang kemudian dicampur dengan air, dipartisi dan dipekatkan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah hasil antara etil asetat dengan campuran air ekstrak pekat daun jambu mete yang sudah difraksinasi dengan *n*-Heksan, dipartisi dan dipekatkan.

Keenam, fraksi air adalah sisa dari hasil ekstrak antara etil asetat dengan campuran air ekstrak daun jambu mete yang sudah difraksinasi dengan etil asetat, dipartisi kemudian dipekatkan.

Ketujuh, uji aktivitas antijamur adalah uji aktivitas bahan antijamur terhadap jamur tertentu. Penggunaan antijamur dalam penelitian ini menggunakan metode dilusi untuk mengukur KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dan KHM (Konsentrasi Hambat Minimum). Metode dilusi menggunakan media SGC (*Sabouraud Glukose Cair*) dalam tabung. Tabung yang berisi SGC diberi suspensi jamur lalu diinkubasi selama 24 jam selanjutnya diamati ada atau tidak adanya kekeruhan dalam tabung. Jika ada kekeruhan maka selanjutnya diinokulasi pada

medium SGA (*Sabouraud Glucose Agar*) dalam cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam lalu diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini berupa pisau untuk merajang, oven dengan suhu rendah dan konstan, blender untuk membuat serbuk, alat perkolator, evaporator type RV 10, autoklaf. Alat uji aktivitas antijamur yang digunakan antara lain inkubator, inkas, jarum ose, *boor prop*, tabung reaksi, beaker glass, lap, pipet ukur, pipet mikro, api spiritus, cawan petri, media agar, dan spuit.

2. Bahan

2.1. Bahan. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).

2.2. Jamur uji. Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231 dari laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Spesies *Candida albicans* ATCC 10231 pada pengamatan dalam media SGA miring dengan warna koloni putih kekuningan dan pada medium bawah agar berwarna kuning terang (Jawetz *et al.* 2001)

2.3. Media. Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah medium SGA (*Sabaouraud Glukose Agar*) dan SGC (*Sabaouraud Glukose Cair*).

2.4. Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan antara lain aquadest steril, larutan MC Farlan 0,5, etanol 70%, etil asetat dan *n*-Heksan.

D. Jalannya penelitian

1. Determinasi dan identifikasi daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*).

Tahap pertama penelitian ini adalah determinasi dan identifikasi daun jambu mete (*Anacardium occidentale L.*). Determinasi dan identifikasi dilakukan

di Universitas Setia Budi. Hal ini dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian.

2. Pembuatan serbuk daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Daun jambu mete yang akan diserbuk dikumpulkan, dicuci dengan air mengalir sampai bersih dari kotoran kemudian dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 40⁰C. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi konsentrasi air sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur, bakteri, dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu. Daun jambu mete yang sudah kering diserbuk dengan blender kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sehingga didapatkan serbuk daun jambu mete yang mempunyai derajat kehalusan yang homogen.

3. Penetapan kadar air

Penetapan kadar air serbuk daun jambu mete dilakukan dengan menggunakan alat *Moisture Balance*. Metode ini dilakukan dengan cara temperatur diatur yaitu pada suhu 95⁰C kemudian dimasukan pada neraca timbang dengan skala 0,00 maka sampel serbuk daun jambu mete 2 gram dimasukan, kemudian ditunggu sampai alat *Moisture Balance* berbobot konstan yang dimana menandakan hasil analisa telah selesai. Konsentrasi air akan memenuhi syarat apabila konsentrasi air suatu serbuk simplisia tidak lebih dari 10%

4. Pembuatan ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) secara maserasi

Serbuk daun jambu mete sebanyak 800 gram dimasukan ke dalam botol, dengan ditambahkan pelarut etanol 70% sebanyak 6000 ml. Penggojokan dilakukan selama 5 hari sambil sesekali digojok. Maserat yang didapatkan selama 5 hari disaring, kemudian dipekatkan dengan evaporator sampai didapati maserasi yang pekat.

5. Uji bebas etanol ekstrak daun jambu mete

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara ekstrak yang telah pekat diuji sudah bebas etanol atau belum dengan cara uji esterifikasi yaitu ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan, uji positif bebas etanol jika tidak terbentuk bau ester yang khas dari etanol.

6. Pembuatan fraksinasi dari etanol daun jambu mete

6.1. Pembuatan fraksi *n*-Heksan daun jambu mete. Ekstrak etanol 70% yang ditimbang sebanyak 10 g yang telah disuspensikan dengan air dipisahkan di corong pisah dengan menambahkan pelarut *n*-Heksan 75 ml, fraksi yang ada diatas (fraksi *n*-Heksan) dipisahkan dengan fraksi yang bagian bawah (fraksi air) dilakukan dengan penambahan *n*-Heksan sebanyak 3 kali. Fraksi *n*-Heksan yang didapat kemudian dipekatkan di evaporator pada suhu 40⁰C lalu ditimbang.

6.2 Fraksinasi etil asetat dari daun jambu mete. Hasil sisa fraksinasi dengan *n*-Heksan difraksinasi dengan pelarut etil asetat 75 ml dalam corong pisah. Filtrat yang dibawah fraksi (fraksi air) dipisahkan dengan filtrat yang bagian atas (fraksi etil asetat), dilakukan dengan penambahan pelarut sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat yang didapat kemudian dipekatkan di evaporator pada suhu 40⁰C lalu ditimbang.

6.3. Fraksinasi air daun jambu mete. Filtrat sisa fraksinasi dengan etil asetat adalah fraksi air. Filtrat yang telah di peroleh kemudian dipekatkan dengan *water bath* sampai kental lalu ditimbang.

7. Identifikasi kandungan senyawa kimia pada ekstrak, fraksi daun jambu mete.

Identifikasi senyawa kimia dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terkandung dalam serbuk, ekstrak dan fraksi daun jambu mete. Identifikasi kandungan senyawa kimia dibuktikan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Universitas Setia Budi.

7.1. Identifikasi flavonoid. 2 mg ekstrak ditambah 5 ml aquades dipanaskan selama 1 menit, disaring dan diambil filtratnya. Filtrat ditambah 0,5 gram serbuk seng, 2 ml larutan asam klorida diamkan selama 1 menit. Tambahkan 10 tetes asam klorida pekat diamkan 2-5 menit. Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah (Depkes 1979).

7.2. Identifikasi saponin. Setengah gram ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi, ditambahkan 10 ml air panas, kemudian didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik (jika zat yang diperiksa berupa sediaan cair, diencerkan 1 ml sediaan yang diperiksa dengan 10 ml air dan dikocok kuat-kuat selama 10

detik). Positif bila terbentuk buih yang stabil selama tidak kurang dari 10 menit, setinggi 1 cm sampai 10 cm. Pada penambahan 1 tetes asam klorida 2N, buih tidak bisa hilang (Depkes 1977).

7.3. Identifikasi tanin. Setengah gram ekstrak ditambahkan 50 ml air panas kemudian dididihkan selama 15 menit, saring dan ambil filtratnya. 5 ml filtrat ditambah pereaksi besi (III) klorida. Reaksi positive ditunjukkan dengan terbentuknya warna hitam kehijauan (Depkes 1980).

7.4. Identifikasi alkaloid. Serbuk, ekstrak, fraksi ditambah dengan sedikit larutan HCl 2N, panaskan kemudian ditambahkan larutan *Mayer* terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning dan dengan *Dragendrof* terbentuk endapan berwarna coklat sampai hitam, maka ada kemungkinan terdapat alkaloid (Depkes 1977).

7.5. Identifikasi triterpenoid. Serbuk, ekstrak, fraksi ditambah pereaksi Liebermen-Bouchard yang terdiri dari asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Terbentuknya warna merah, hijau, ungu dan biru menunjukkan hasil positif steroid (Mangunwardoyo *et al.* 2009)

8. Sterilisai

Media agar yang digunakan dalam penelitian ini disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit tekanan 2 Atm. Alat-alat dari gelas seperti beaker gelas, gelas ukur, tabung reaksi, cawan petri disterilkan dengan oven pada suhu 170-180⁰C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose, pipet, penjepit, disterilkan dengan pemanas api langsung dan di inkas dengan menggunakan formalin (Jawetz *et al.* 2005).

9. Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10321.

9.1. Identifikasi koloni pada media selektif. *Candida albicans* dikembangkan pada media SGA pada suhu 37⁰C selama 2-4 hari atau suhu ruang akan tampak koloni berbentuk bulat, warna krem, diameter 1-2 mm, konsisten smooth, mengkilat, bau seperti ragi.

9.2. Identifikasi mikroskopis. Pengamatan secara mikroskopis dengan metode pewarnaan smear perbesaran sedang (100x) menggunakan cat laktofenol *Cotton blue* akan tampak sel ragi dengan bentuk lonjong (Jawetz *et al.* 1986).

9.3. Identifikasi biokimia. Media yang digunakan adalah glukosa broth, laktosa broth, maltosa broth dan sukrosa broth diamati terbentuknya gas dan kemampuan memfermetasi. Media diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, hasil positif jika media glukosa broth, sukrosa broth dan maltosa broth terbentuk gas pada tabung durham dan media laktosa broth tidak terbentuk gas (Jawetz *et al.* 1986).

10. Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10321

Suspensi jamur *Candida albicans* dibuat dengan cara mengambil beberapa ose biakan jamur *Candida albicans*, kemudian dimasukan dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan SGC kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Campuran dikocok sampai homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan kekeruhan standar Mc Farland 0,5.

11. Pengujian aktivitas antijamur fraksi terakhir *n*-Heksan, etil asetat dan air daun jambu mete

Ekstrak etanol 70%, fraksi *n*-Hesan, etil asetat dan air dari hasil ekstraksi daun jambu mete yang diperoleh dilakukan pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi dan dilusi.

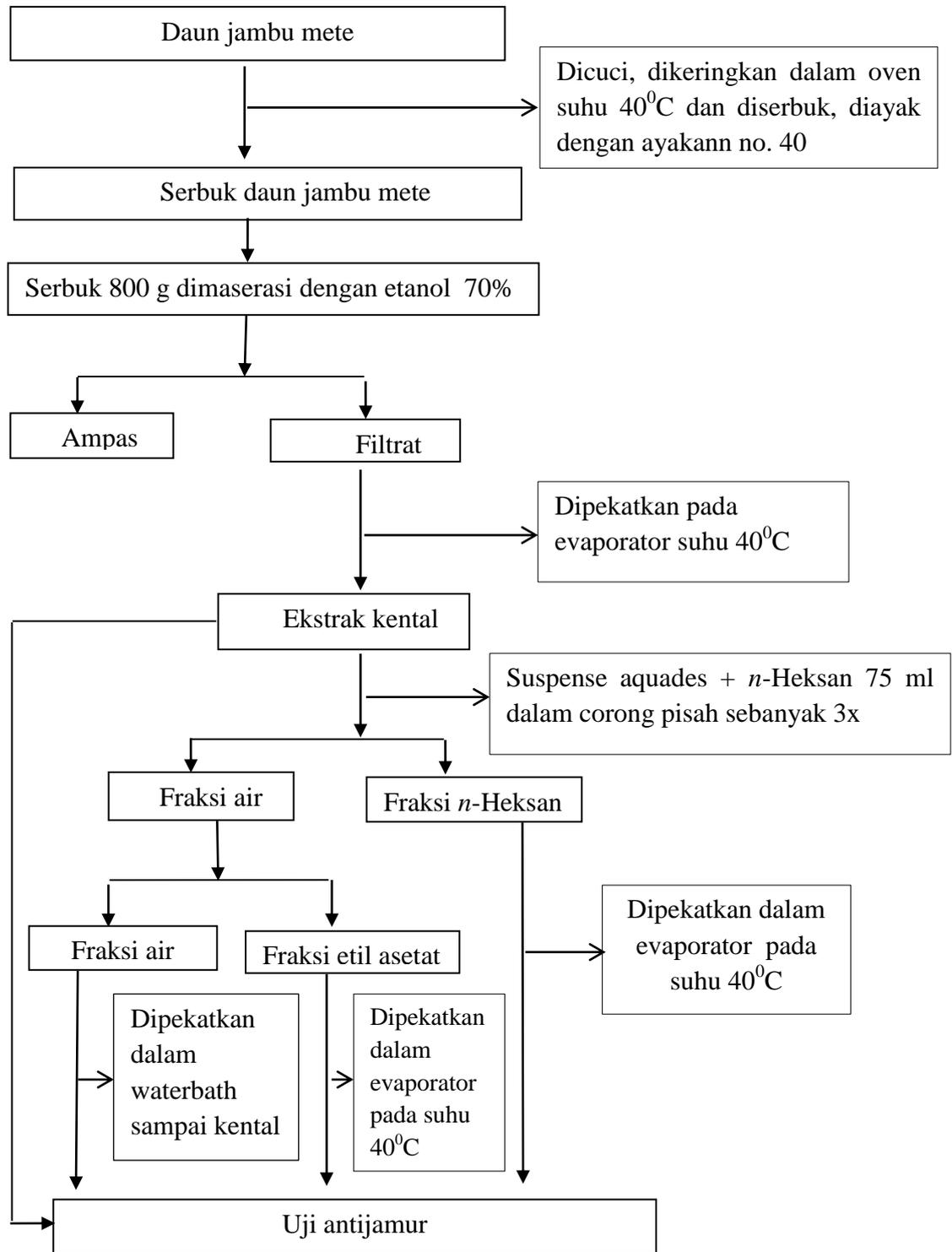
Metode difusi dengan menggunakan suspensi jamur uji *Candida albicans* yang sudah disiapkan dioleskan merata pada media *Sabouroud Glukosa Agar* (SGA) dengan menggunakan kapas lidi steril, selanjutnya dibuat 6 sumuran. Setiap sumuran diisi fraksi *n*-Hesan, etil asetat dan air dibuat masing-masing 3 konsentrasi yaitu 50%, 25% dan 12,5%, menggunakan ketokonazol sebagai kontrol positif dan menggunakan pelarut DMSO 1% sebagai kontrol negatif, masing-masing dengan volume 50 µl, kemudian diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37⁰C. Zona radikal pada daerah sumuran diukur diameternya sebagai zona habatnya (Bonang & Koeswardono 1982).

Metode dilusi menggunakan 1 deret tabung yang terdiri dari 12 tabung dengan konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%. Masukkan 0,5 mL media *Sabouroud Glukosa Cair* (SGC) dari tabung 3 sampai tabung 11, kedalam tabung 1 ditambah 1 mL larutan stok ekstrak, kemudian dari tabung 2 dan 3 dimasukan 0,5 ml larutan stok jamur,

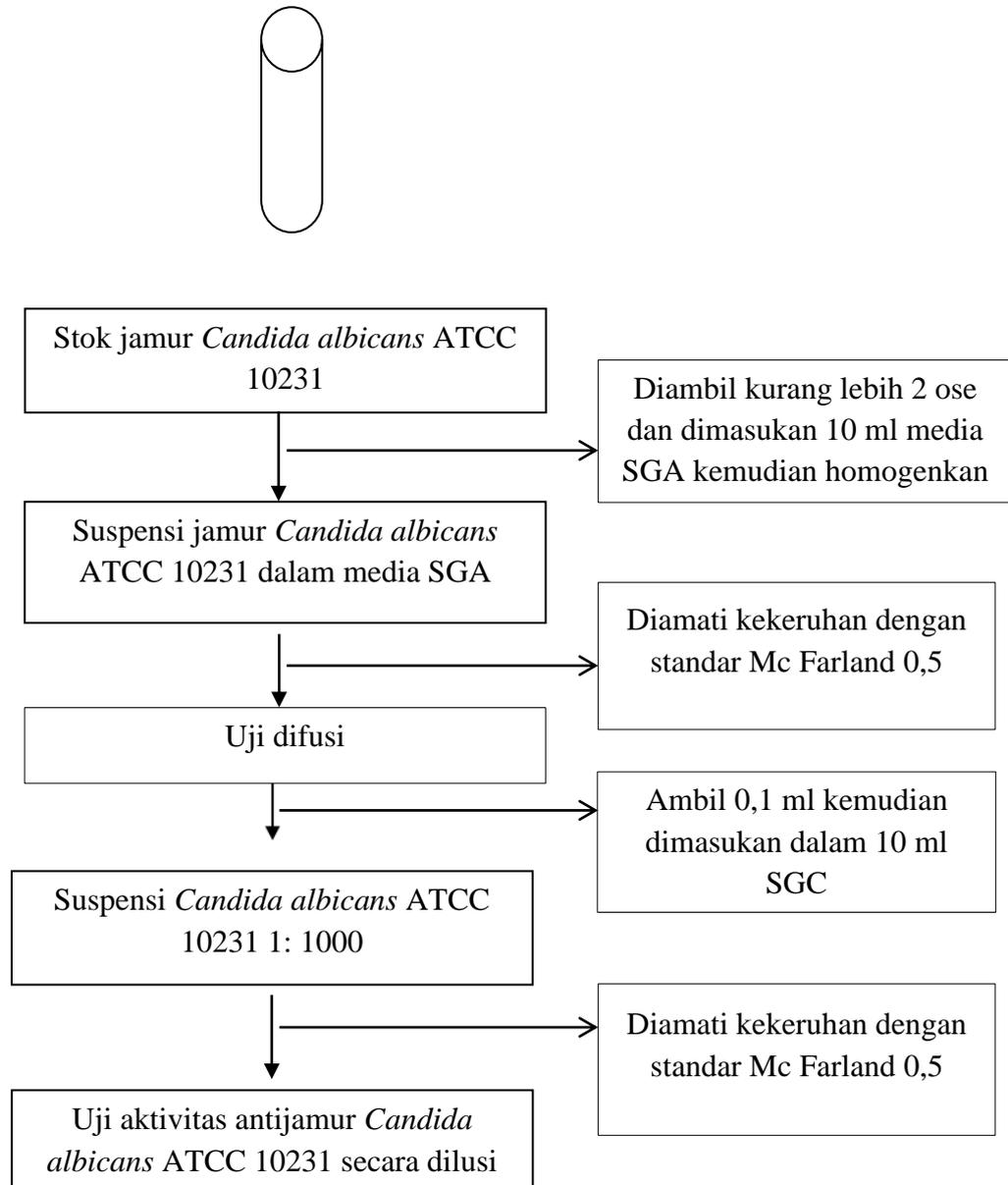
kemudian dari tabung 3 dipipet 0,5 mL dan dimasukkan kedalam tabung 4 begitu seterusnya sampai tabung 11 kemudian dibuang. Tabung pertama sebagai control negative, tabung terakhir berlaku sebagai kontrol positif. KHM ditentukan dengan mengamati adanya kekeruhan pada seri pengenceran sejumlah tabung yang telah diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam, dimana tabung dengan larutan jernih setelah tabung keruh terakhir merupakan KHM. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan dengan menggoreskan larutan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada medium selektif kemudian diinkubasi 37⁰C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur maka merupakan KBM. KHM ditentukan dari goresan terakhir yang masih terdapat pertumbuhan jamur, sedangkan KBM ditentukan dari goresan jamur yang sudah tidak terdapat pertumbuhan jamur (Bonang & Koeswardono 1982).

E. Analisis Hasil

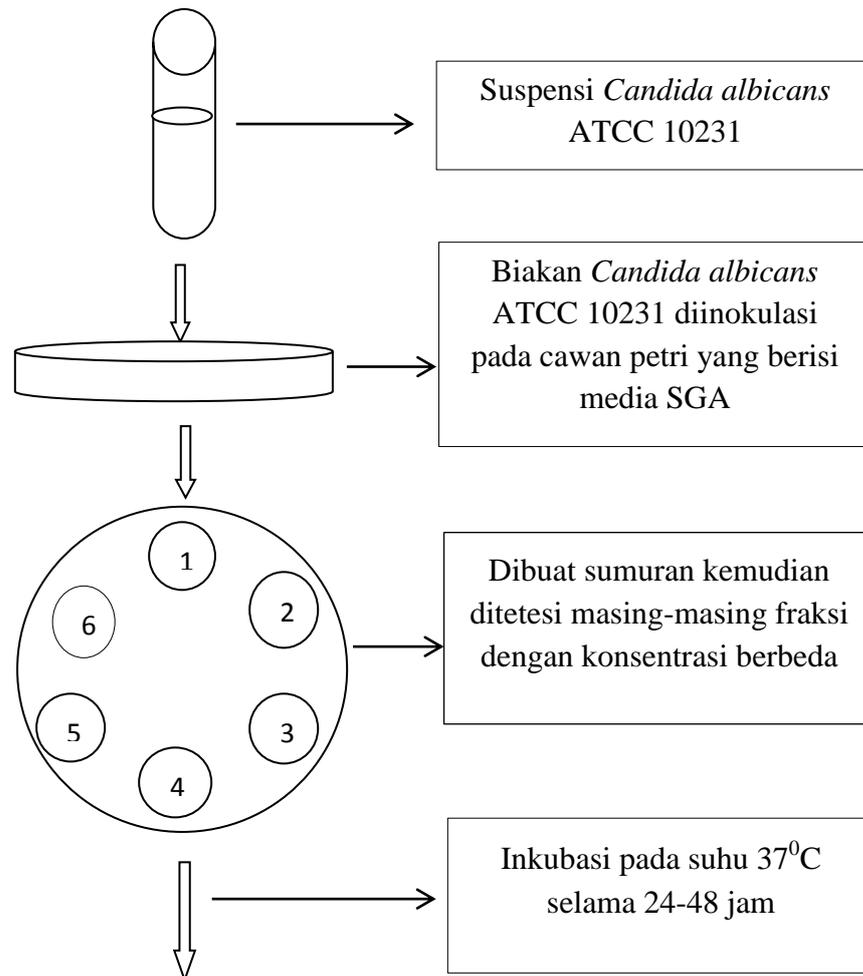
Hasil difusi ditentukan dengan nilai zona hambat yang terbentuk kemudian dianalisis menggunakan ANOVA *one way*. Hasil penelitian difusi dianalisis berdasarkan pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10321 di tabung reaksi dan dimedia. KHM ditentukan dengan kejernihan pada tabung reaksi sedangkan KBM ditentukan berdasarkan hasil pengamatan, dimana konsentrasi terkecil yang dapat membunuh pada penggoresan media SGA.



Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak dan fraksi daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)



Gambar 2. Skema pembuatan suspensi jamur uji 1:1000

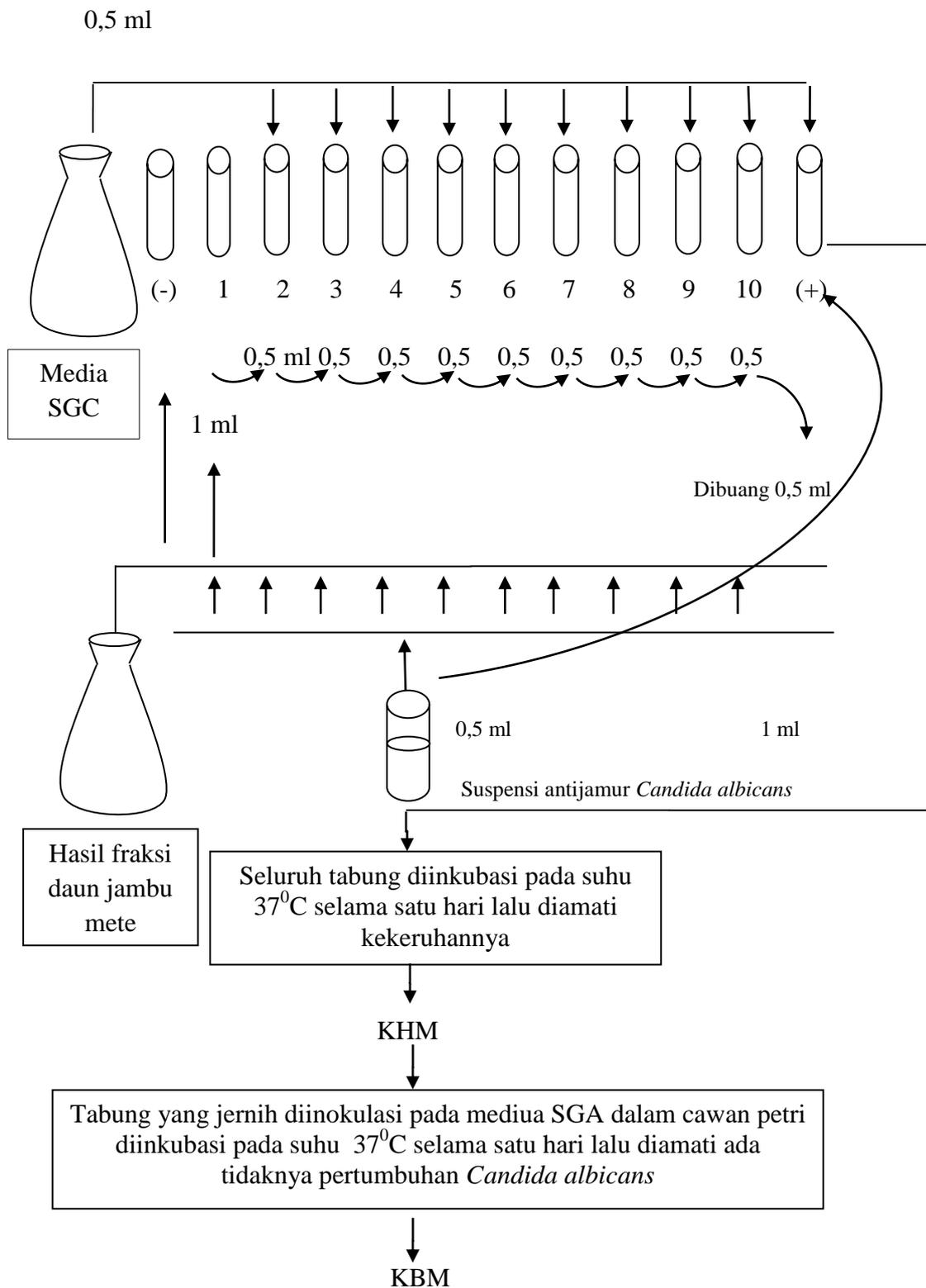


Pengukuran diameter zona hambat yang terbentuk

Keterangan :

1. Ekstrak etanol (50%, 25%, 12,5%)
2. Fraksi *n*-Heksan (50%, 25%, 12,5%)
3. Fraksi etil asetat (50%, 25%, 12,5%)
4. Fraksi air (50%, 25%, 12,5%)
5. Kontrol negatif (DMSO 1%)
6. Ketokonazol

Gambar 3. Skema kerja uji aktivitas daun jambu mete terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 secara difusi.



Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antijamur fraksi *n*-Heksan, etil asetat dan air dari daun jambu mete dengan metode dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi dan deskripsi tanaman daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

1.1. Determinasi tanaman. Pada penelitian ini dilakukan determinasi dengan tujuan untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman dengan menggunakan kunci determinasi, menghindari terjadinya salah pengambilan bahan serta menghindari tercampurnya bahan dengan tanaman yang lain pada saat pengumpulan bahan. Determinasi tanaman daun jambu mete dilakukan di unit Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Hasil determinasi tanaman daun jambu mete berdasarkan : Steenis : FLORA 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177a – 178a. familia 68. Anacardiaceae. 1a – 2a. 2. Anacardiaceae. *Anacardium occidentale* L.

1.2. Deskripsi tanaman daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.). Daun tunggal, bertangkai, bulat telur terbalik, pangkal runcing, ujung membulat, melekok ke dalam, gundul, 10,1 - 4,7 cm. Bunga berumah satu, berkelamin campuran. Malai rata, lebar 15 – 25 cm, berambut. Daun pelindung bulat telur memanjang lebar, meruncing, panjang 0,5 – 1 cm. Anak tangkai bunga 2 – 5 mm. Kelopak berambut, tinggi 4 – 5 mm. Daun mahkota runcing, berambut, putih, segera berganti warna merah. Panjang lk 1 cm, tonjolan dasar bunga sangat kecil. Bunga jantan: tangkai sari panjang 1 cm; staminodio terkurung dalam mahkota; putik rudimenter, terkurung dalam tabung benang sari. Bunga betina: benang sari panjang lk 6 mm; staminodia 2 – 4 mm; bakal buah oval lebar. Batang percabangan monopodial. Ranting hanya berdaun pada ujungnya. Pohon berbatang bengkok, bercabang dekat tanah, tinggi 8 – 12 m.

2. Hasil pengumpulan bahan, pengeringan, dan pembuatan serbuk daun jambu mete.

Persiapan bahan untuk membuat serbuk daun jambu mete diawali dengan pengumpulan bahan dan kemudian dilakukan pengeringan. Pengambilan bahan dilakukan secara acak pada bulan Desember 2016 dari perkebunan Kotabiru, kecamatan Kobalima Timur, Kabupaten Malaka Nusa Tenggara Timur.

Pengeringan bahan, daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) yang telah terkumpul kemudian dicuci sampai bersih dari kotoran dibawah air mengalir kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari lalu dimasukkan kedalam oven pada suhu 40⁰C. Pengeringan ini dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air yang bisa mengakibatkan pertumbuhan jamur dan bakteri atau mikroorganisme yang lain yang dapat mengakibatkan menurunnya mutu serbuk serta perubahan kandungan kimia.

Tabel 1. Presentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mete

No	Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Persentase % (b/b)
5000		3200	64%

Berdasarkan tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa persentase rata-rata hasil pegeringan daun jambu mete didapatkan 64%. Hasil perhitungan dapat dilihat dilampiran. Hasil pengambilan daun jambu mete ditimbang, kemudian dikeringkan dioven pada suhu 40⁰C. Daun yang sudah kering ditimbang, kemudian dibuat serbuk dengan cara digiling, kemudian diayak dengan menggunakan pengayak No. 40. Penyerbukan yang dilakukan bertujuan untuk memperluas partikel bahan yang kontak dengan pelarut sehingga penyarian dapat berlangsung secara efektif.

3. Penetapan susut kering serbuk daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Penetapan susut kering dilakukan untuk memperoleh persentase air yang terdapat dalam serbuk yang akan diekstraksi. Kadar air yang terlalu tinggi yang terdapat dalam serbuk dapat mengakibatkan enzim-enzim dalam simplisia yang dapat berakibat rusak atau berubahnya komposisi kimia pada simplisia tersebut sehingga menurunkan kualitas. Penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mete dilakukan dengan menggunakan *Moizture Balance*. Caranya dengan

menimbang serbuk daun jambu mete sebanyak 2 gram, dimasukkan kedalam alat yang telah diatur suhu dan waktu, serta telah dimasukkan neraca timbang. Tekan tombol dan tunggu hingga menunjukkan penurunan berat sampel. Pengukuran akan terhenti dengan ditandai adanya bunyi, dan tekan tanda persen apabila ingin mengetahui jumlah persentase kadar air yang terukur. Penetapan susut pengeringan dimaksudkan agar mutu dan khasiat daun jambu mete tetap terjaga.

Tabel 2. Hasil penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mete

No	Bobot serbuk	Volume air	Kadar (%)
1	20	1,8	9,0 %
2	20	1,8	9,0%
3	20	1,7	8,5%
Rata-rata			8,83%

Persentase rata-rata susut pengeringan serbuk daun jambu mete yang dilakukan dengan alat *Moisture Balance* yaitu 8,83%. susut pengeringan dari serbuk daun jambu mete memenuhi syarat, apabila kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Depkes 1979).

4. Pembuatan ekstrak maserasi daun jambu mete

Simplisia daun jambu mete kering diekstraksi dalam bentuk serbuk untuk memudahkan proses penarikan senyawa aktif oleh pelarut dari dalam jaringan tumbuhan. Bentuk serbuk lebih mudah tersari karena luas kontak antara permukaan jaringan sel dengan pelarut lebih besar. Pelarut yang digunakan yaitu etanol 70%. Pelarut ini disebut juga pelarut universal yang baik untuk ekstraksi pendahuluan karena kemampuan melarutkan senyawa-senyawa organik baik polar maupun non polar.

Metode ekstraksi daun jambu mete yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi karena lebih sederhana, mudah dan tanpa pemanasan. Maserasi daun jambu mete menggunakan etanol 70% dilakukan selama 5 hari dengan sesekali digojok. Hasil maserasi diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak agak kental. Hasil penguapan dengan evaporator belum menunjukkan konsistensi yang kental, sehingga dilanjutkan dengan penguapan diatas water bad sampai diperoleh ekstrak kental. Hasil ekstrak diperoleh ekstrak etanol sebesar 176,5 gram dari berat serbuk kering daun jambu mete sebanyak 800 gram.

Tabel 3. Rendeman ekstra etanol daun jambu mete

Bahan sampel (g)	Bobot ekstrak (g)	Rendemen ekstrak (%b/v)
800	176,5	22,06%

5. Tes bebas etanol ekstrak maserasi daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Ekstrak dari daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan esterifikasi alkohol.

Tabel 4. Uji bebas etanol pada ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Prosedur	Hasil	Pustaka
Ekstrak + CH_3COOH + $\text{H}_2\text{SO}_4_{\text{CONC.}}$ dipanaskan	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol	Tidak tercium bau ester yang khas dari etanol

Hasil tes bebas etanol pada tabel 4 menunjukkan bahwa ekstrak daun jambu mete sudah bebas dari etanol yang ditunjukkan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol (Voight 1995). Guna tes hasil bebas etanol adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak daun jambu mete sudah tidak mengandung etanol.

6. Identifikasi senyawa ekstrak etanol daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa kimia daun jambu mete

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil
Flavonoid	Terbentuk warna merah/ kuning atau jingga pada pelarut amil alkohol	Terbentuk warna merah
Alkaloid	Terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning	Terbentuk warna coklat
Saponin	Terbentuk buih yang stabil + 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang	Terbentuk buih yang stabil
Triterpenoid	Terbentuk warna merah, hijau, ungu dan biru.	Terbentuk warna merah.
Tanin	Terbentuk warna hitam kehijauan	Terbentuk warna hitam kehijauan

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan pada ekstrak. Identifikasi kandungan senyawa kimia ini dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung didalam daun jambu mete. Hasil identifikasi ekstrak dapat dilihat pada tabel 5. Foto hasil identifikasi dapat dilihat pada lampiran 4. Berdasarkan tabel 5 diatas menunjukkan bahwa identifikasi daun jambu mete mengandung senyawa kimia flavonoid, alkaloid, saponin, triterpenoid, dan tanin.

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dari fraksi dapat dilihat pada tabel 6. Hasil identifikasi yang dilakukan uji menggunakan tabung reaksi

menunjukkan bahwa pada fraksi *n*-Heksan mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, saponin dan triterpen. Pada fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan tannin. Dan pada fraksi air mengandung senyawa flavonoid, saponin dan tannin. Gambar hasil identifikasi senyawa dapat dilihat pada lampiran 4.

Tabel 6. Identifikasi senyawa kimia fraksi daun jambu mete

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil		
		Fraksi <i>n</i> -Heksan	Fraksi etil asetat	Fraksi air
Flavonoid	Terbentuk warna merah/ kuning atau jingga pada pelarut amil alkohol	Warna kuning kecoklatan (+)	Warna kuning pada pelarut amil alkohol (+)	Warna jingga (+)
Alkaloid	Terbentuk endapan menggumpal berwarna putih/kuning	Endapan berwarna kuning (+)	Endapan menggumpal berwarna putih (+)	Coklat kehitaman (-)
Saponin	Terbentuk buih yang stabil + 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang	Terbentuk buih yang stabil (+)	Coklat endapan hitam (-)	Terbentuk buih yang stabil (+)
Triterpenoid	Terbentuk warna merah, hijau, ungu dan biru.	Merah (+)	Hitam (-)	coklat kehitaman (-)
Tanin	Hitam kehijauan	Hitam pekat (-)	Hitam kehijauan (+)	Hitam kehijauan (+)

+ : adanya senyawa yang diuji

- : tidak adanya senyawa uji

7. Fraksinasi

Fraksinasi adalah prosedur pemisahan yang bertujuan untuk memisahkan golongan utama kandungan yang satu dari golongan utama kandungan yang lain, merupakan suatu pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan kepolaran dalam suatu tumbuhan.

Tabel 7. Persentase fraksi *n*-Heksan, etil asetat, dan fraksi air daun jambu mete

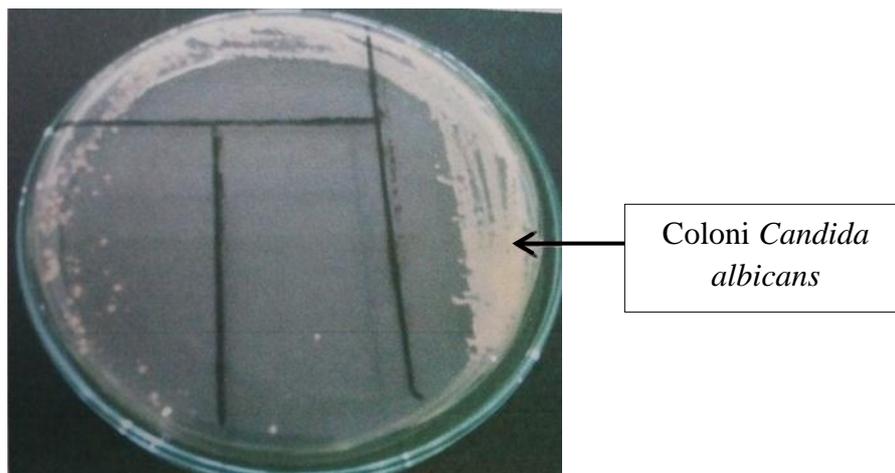
Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksan	10	1,15	11,5%
	10	1,18	11,8%
	10	1,13	11,3%
Rata-rata			11,53%
Etil asetat	10	0,91	9,1%
	10	0,87	8,7%
	10	0,79	7,9%
Rata-rata			8,56%
Air	10	3,57	35,7%
	10	3,61	36,1%
	10	3,59	35,9%
Rata-rata			35,9%

Penyarian awal yang dilakukan adalah maserasi dengan pelarut etanol 70% menyari hampir keseluruhan kandungan simplisia baik yang bersifat non polar, semi polar maupun polar, kemudian dilanjutkan fraksinasi dengan menggunakan *n*-Heksan sebagai pelarut non polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar dan air sebagai pelarut polar. Hasil sediaan ekstrak maserasi yang telah didapatkan kemudian ditimbang lalu dilakukan fraksinasi dengan pelarut non polar (*n*-Heksan), difraksinasi 3 kali dengan pelarut *n*-Heksan masing-masing 75 ml, residu yang didapat dilakukan fraksinasi lanjutan dengan pelarut semi polar (etil asetat), residu dari hasil fraksi *n*-Heksan difraksinasi 3 kali dengan pelarut etil asetat, residu dapat dilakukan pemekatan. Residu dari fraksi etil asetat dilanjutkan dengan cara pemekatan sehingga didapat ekstrak yang kental. Air merupakan pelarut serba guna yang dapat melarutkan senyawa-senyawa polar, semi polar dan senyawa non polar. Fraksinasi ekstrak etanol daun jambu mete dilakukan dengan menggunakan 3 pelarut berdasarkan polaritasnya. Pelarut yang digunakan adalah *n*-Heksan, etil asetat, dan air. Proses fraksinasi menggunakan pelarut *n*-Heksan, etil asetat, dan air masing-masing sebanyak tiga kali dengan mengambil kembali 10 gram dari ekstrak.

Berdasarkan table 7 diatas hasil rendeman fraksi *n*-Hesan sebagai pelarut no polar diperoleh total fraksi 11,53% yang didapat dari tiga kali pengambilan kembali 10 gram dari ekstrak. Organoleptis fraksi *n*-Heksan berwarna kuning muda dengan bau yang khas. Fraksi etil asetat sebagai fraksi semi polar diperoleh rata-rata rendeman 8,56% yang diperoleh dari tiga kali pengambilan kembali 10 gram ekstrak. Organoleptis fraksi etil asetat ini berwarna merah kehitaman dengan bau yang khas. Fraksi air sebagai fraksi polar diperoleh dari tiga pengambilan sisa fraksi *n*-Heksan yang telah difraksinasi lagi dengan pelarut etil asetat. Rata-rata rendemen fraksi air 35,9%. Organoleptis fraksi air ini berwarna coklat dengan bau yang khas. Total dari fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air 55,9%. Hasil rendemen yang diperoleh tidak maksimal karena pada saat proses fraksi banyak ekstrak yang tidak ikut larut dalam pelarut yang digunakan. Hasil perhitungan persentase rendeman rata-rata fraksi *n*-Heksan, etil asetat, dan air dapat dilihat pada lampiran 10.

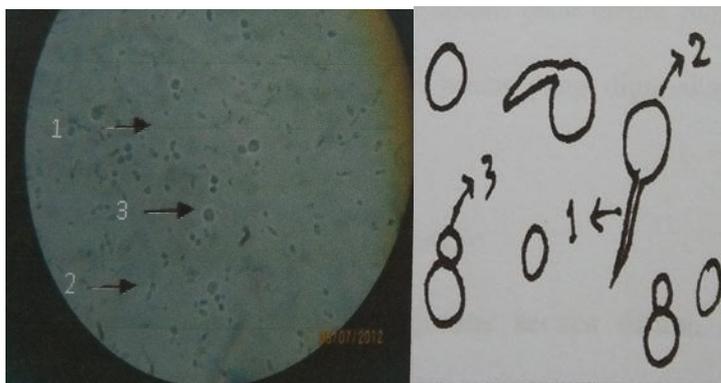
8. Hasil identifikasi jamur uji.

Identifikasi *Candida albicans* dilakukan pada media *Sabouraud Glukosa Agar* yang diinokulasi pada suhu 37⁰C selama 24 – 48 jam akan terbentuk koloni – koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Foto inokulasi dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Foto inokulasi

Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10321 dilakukan secara mikroskopis dilakukan dengan menggunakan serum. Biakan murni *Candida albicans* ATCC 10321 diletakan dalam serum selama 3 jam pada suhu 37⁰C, kemudian diamati dibawah mikroskop. *Candida albicans* ATCC 10321 tampak seperti ragi lonjong, yang memanjang menyerupai hifa, biakan mudah berbentuk tabung-tabung bening, pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas yang lonjong. Pertumbuhan yang tertutup terdiri atas pseudomiselium yaitu berupa pseudohifa yang membentuk blastospora pada nodus-nodus dan kadang-kadang klamidospora pada ujung-ujungnya. Hasil pengamatan mikroskopis dapat dilihat pada gambar 6.



Keterangan :

1. Tabung benih
2. Sel vegetative
3. Blastopora

Gambar 6. Identifikasi mikroskopis terhadap *Candida albicans* ATCC 10321

Identifikasi biokimia dilakukan dengan uji fermentasi karbohidrat meliputi glukosa, laktosa, maltosa, sukrosa. Koloni *Candida albicans* ATCC 10321 diambil menggunakan ose. Koloni tersebut diinokulasi ke dalam tabung-tabung yang masing-masing berisi glukosa, laktosa, sukrosa, maltose. Tabung masing-masing larutan tersebut dimasukan tabung durham secara terbalik, tabung durham digunakan untuk mengetahui pembentukan gas. Tabung-tabung tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37⁰C selama 24 jam. Hasil identifikasi biokimia tersebut pada tabung yang berisi glukosa, maltose dan sukrosa terdapat gelembung udara di dalam tabung durham, artinya dari fermentasi tersebut terbentuk gas, dan pada tabung yang berisi laktosa tidak terbentuk gas. Hasil uji biokimia *Candida albicans* ATCC 10321 dapat dilihat pada gambar 7.



Keterangan :

1. Laktosa
2. Glukosa
3. Sukrosa
4. maltosa

Gambar 7. Identifikasi biokimia terhadap *Candida albicans* ATCC 10321

Pada gambar gas yang terbentuk tidak begitu jelas dikarenakan gas berada didalam tabung durhan dan ukuran gas tidak terlalu besar.

9. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara difusi

Pengujian aktivitas antijamur secara difusi dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setua Budi. Uji aktivitas antijamur *Candida albicans* dilakukan dengan metode difusi menggunakan media SGA (*Saboroud Glukosa Agar*) yang sudah disterilkan kemudian dipadatkan pada cawan petri pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10321 menggunakan ekstrak etanol 70%, fraksi air, fraksi *n*-Heksan dan fraksi etil asetat dari daun jambu mete dengan konsentrasi yang digunakan 50%, 25%, 12,5%, ketokonazol 2% sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif.

Perhitungan pembuatan konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 12 kekeruhan suspensi jamur uji disesuaikan dengan standard Mc Farland 0,5. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode sumuran dimana larutan uji diteteskan sebanyak 30 μ m kedalam sumuran tersebut ditunggu hingga jenuh. Masa inkubasi pengujian aktivitas antijamur pada suhu 37⁰C selama 48 jam, daya hambat yang terbentuk berupa warna jernih disekitar daerah sumuran dalam ukuran mm.

Tabel 8. Hasil uji aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 metode difusi

Konsentrasi	Sediaan uji	Diameter Hambat (mm)			Rata-rata(mm)= SD
		Replikasi			
		I	II	III	
50%	- Ekstrak	15	15	14	14,66 \pm 0,57
	- Fraksi <i>n</i> -Heksan	18	18	17	17,66 \pm 0,57
	- Fraksi etil asetat	24	23	23	23,33 \pm 0,57
	- Fraksi air	19	19	19	19,00 \pm 0,0
25%	- Ekstrak	14	14	14	14,00 \pm 0,0
	- Fraksi <i>n</i> -Heksan	17	17	17	17,00 \pm 0,0
	- Fraksi etil asetat	23	23	23	23,00 \pm 0,0
	- Fraksi air	17	18	17	17,33 \pm 0,57
12,5%	- Ekstrak	13	14	13	13,33 \pm 0,57
	- Fraksi <i>n</i> -Heksan	17	16	16	16,33 \pm 0,57
	- Fraksi etil asetat	22	20	21	21,00 \pm 0,57
	- Fraksi air	16	16	16	16,00 \pm 0,0
2%	Ketokonazol	30	27	25	27,33 \pm 2,51
1%	DMSO	0	0	0	0

Pengujian aktivitas antijamur fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol daun jambu mete menunjukkan mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10321. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya daerah jernih yang mengelilingi daerah sumuran. Hasil uji aktivitas antijamur metode difusi dapat dilihat pada tabel 8 foto hasil metode difusi dapat dilihat pada lampiran 6.

Berdasarkan tabel 8 menunjukkan hasil penelitian bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Candida albicans* ATCC 10321 dibandingkan fraksi *n*-Heksan, fraksi air dan ekstrak etanol daun jambu mete. Hal ini dapat dilihat dari hasil tabel 8 bahwa fraksi etil asetat dan kontrol positif (ketoconazole) lebih efektif menghambat *Candida albicans* ATCC 10321. Hasil rata-rata diameter hambat fraksi etil asetat konsentrasi 50%, 25%, 12,5% berturut-turut adalah 23,00 mm, 23,00 mm, dan 21,00 mm, sedangkan kontrol positif (ketoconazole) konsentrasi 27,33 mm.

Pengujian aktivitas antijamur secara difusi ini menggunakan kontrol negative DMSO 1% yang dalam pengujian ini tidak aktif dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10321. Fraksi etil asetat dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10321 mempunyai aktivitas antijamur yang terbesar dibandingkan fraksi *n*-Heksan, fraksi air dan ekstrak etanol daun jambu mete. Kuatnya aktivitas antijamur etil asetat daun jambu mete disebabkan pelarut etil asetat yang bersifat semi polar

Kontrol positif yang dipakai dalam penelitian ini adalah ketokonazol, karena mekanisme kerja ketokonazol berdasarkan pengikatan pada enzim sitokrom P450, sehingga sintesa ergosterol yang perlu untuk pembinaan membrane sel jamur, dirintangi dan terjadi kerusakan membrane.

Hasil dari uji difusi dari tabel diatas diuji kebenarannya menggunakan uji spss *one way anova*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi. Data yang dianalisis dengan *one way anova* adalah konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% dari ekstrak etanol, fraksi, *n*-Heksan, fraksi etil asetat, dan air dari daun jambu mete. Data yang dihasilkan digunakan untuk membandingkan

hubungan antara fraksi *n*-Heksan, etil asetat air dan ekstrak etanol kontrol positif dan kontrol negatif guna mendapatkan ada atau tidaknya perbedaan signifikan.

Hasil uji *One-Sampel Kormogorov Sminorv* menunjukkan bahwa nilai signifikansinya sebesar $0,896 > 0,05$ maka H_0 diterima. Berdasarkan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilakukan *analysis of varian* (ANOVA). Hasil uji anova oneway pada tabel diameter hambat didapatkan hasil $F = 130,626$ dengan probabilitas $0,000 < 0,05$ berarti kesembilan sediaan uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan nyata pada penghambatan aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10321

Berdasarkan tabel *tukey test* menunjukkan tanda (*) pada angka *mean difference*, artinya hasil diameter hambat fraksi *n*-Heksan, etil asetat, air dan ekstrak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Analisis *homogeneous subsets* ini untuk mencari grup/subset mana saja yang mempunyai perbedaan rata-rata yang tidak berbeda secara signifikan menunjukkan keempat sampel terbagi dalam 8 subset. Subset 1 terdapat ekstrak etanol 12,5% 13,33, ekstrak etanol 25% 14,00, ekstrak etanol 50% 14,67. Subset 2 terdapat ekstrak etanol 25% 14,00, ekstrak etanol 50% 14,67, fraksi air 12,5% 16,00, fraksi *n*-Heksan 12,5 16,33. Subset 3 terdapat ekstrak etanol 50% 14,67, fraksi air 12,5% 16,00, fraksi *n*-Heksan 12,5% 16,33, fraksi *n*-Heksan 25% 17,00. Subset 4 terdapat fraksi air 12,5% 16,00, fraksi *n*-Heksan 12,5% 16,33, fraksi *n*-Heksan 25% 17,00, fraksi air 25% 17,33, fraksi *n*-Heksan 50% 17,67. Subset 5 terdapat fraksi *n*-Heksan 25% 17,00, fraksi air 25% 17,33, fraksi *n*-Heksan 50% 17,67, fraksi air 50% 19,00. Subset 6 terdapat fraksi air 50% 19,00, fraksi etil asetat 12,5% 21,00. Subset 7 terdapat fraksi etil asetat 12,5% 21,00, fraksi etil asetat 25% 23,00, fraksi etil asetat 50% 23,33. Subset 8 terdapat ketokonazol 27,33. Terdapat dari berbagai subset diketahui bahwa subset 1-8 mempunyai daya beda nyata dalam penghambatan aktivitas antijamur, berbeda dengan sediaan uji yang termasuk dalam satu subset dijelaskan bahwa tidak terdapat beda yang nyata dalam penghambatan aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10321 dapat dilihat dilampiran 17.

Hasil uji statistik menunjukkan fraksi etil asetat yang memiliki aktivitas antijamur yang lebih optimal dalam membunuh *Candida albicans* ATCC 10321 jika dibandingkan dengan fraksi *n*-Heksan dan fraksi air. Fraksi etil asetat memiliki zona hambat yang paling besar dibandingkan fraksi *n*-Heksan dan fraksi air. Karena fraksi etil asetat dengan konsentrasi lebih banyak menarik senyawa yang terkandung dalam ekstrak daun jambu mete yaitu seperti saponin, tanin, flavonoid, dan senyawa fenol.

Sifat etil asetat yang semi polar menyebabkan fraksi mengandung metabolit sekunder yang lebih kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan non polar oleh sebab itu fraksi etil asetat lebih banyak menarik senyawa antijamur yakni flavonoid dan tanin, hal tersebut mengakibatkan fraksi etil asetat menjadi fraksi teraktif dengan membentuk daya hambat paling besar serta teraktif dibandingkan fraksi *n*-Heksana dan fraksi air (Sreelatha *et al.* 2014)

Tetapi penggunaan antibiotik ketokonazol sebagai kontrol positif masih lebih efektif digunakan di masyarakat dibanding hasil ekstrak maupun fraksi daun jambu mete terhadap *Candida albicans* ATCC 10321. Hasil difusi dapat dilihat dilampiran 7.

10. Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi

Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10321 dilakukan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dengan sediaan fraksi yang teraktif dari pengujian difusi yaitu fraksi etil asetat daun jambu mete.

Konsentrasi yang dibuat yaitu dari konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,57%, 0,79%, 0,40%, 0,20%, 0,9% dan kontrol (+). Aktivitas antijamur dapat diketahui dari batas kekeruhan pada tabung percobaan, kemudian digoreskan pada media agar. Hasil menunjukkan KHM sulit diamati karena warna sampel yang digunakan keruh, sehingga perlu dilanjutkan dengan penggoresan pada media agar. Penelitian ini menggunakan metode dilusi atau seri pengenceran. Metode ini bermanfaat untuk mengetahui konsentrasi minimal dari obat yang bersifat fungistatik dan fungisid.

Tabel 9. Hasil inokulasi fraksi etil asetat daun jambu mete terhadap *Candida albicans*.

Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat		
	I	II	III
K (-)	-	-	-
50%	-	-	-
25%	-	-	-
12,5%	-	-	-
6,25%	-	-	-
3,125%	-	-	-
1,56%	+	+	+
0,78%	+	+	+
0,39%	+	+	+
0,19%	+	+	+
0,09%	+	+	+
K (+)	+	+	+

Keterangan : (-) : tidak ada pertumbuhan jamur

(+) : ada pertumbuhan jamur

Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10321 dengan cara mengambil beberapa ose biakan *Candida albicans* ATCC 10321, kemudian dimasukan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml media SGC. Campuran divorteks sampai homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan kekeruhan standar Mc Farlan. Suspensi yang didapat, diencerkan dengan perbandingan 1:1000 dengan menggunakan larutan SGC. Hasil pengenceran digunakan untuk pengujian antijamur *Candida albicans* ATCC 10321.

Berdasarkan tabel 9 dapat dilihat bahwa uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10321 dilakukan tiga kali pengulangan dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%, 0,19%, 0,09%. Pengujian aktivitas antijamur dilakukan dengan menggunakan fraksi etil asetat. Hal ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat yang paling baik dari fraksi etil asetat terhadap *Candida albicans* ATCC 10321. KBM fraksi etil asetat yang dapat membunuh *Candida albicans* ATCC 10321 adalah konsentrasi 3,13% karena pada konsentrasi tersebut tidak ada pertumbuhan jamur.

Fraksi etil asetat daun jambu mete terbukti memiliki daya bunuh minimum terhadap aktivitas antijamur. Hal ini dapat disebabkan karena senyawa-senyawa antijamur yang terkandung dalam daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) bersifat semi polar sehingga pada fraksi etil asetat dapat melarutkan senyawa flavonoid, alkaloid, dan tannin yang diduga efektif untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10321.

Mekanisme kerja flavonoid dalam menghambat pertumbuhan jamur yakni dengan menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel jamur. Gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik dan transport nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap jamur (Jupriadi 2011).

Alkaloid mempunyai aktivitas antimikroba dengan menghambat esterase, DNA, RNA polimerase, dan respirasi sel serta berperan dalam interkalasi DNA (Aniszewki 2007). Sebagai antifungi, alkaloid menyebabkan kerusakan membran sel. Alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang yang menyebabkan kebocoran membran sel. Hal ini mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel pada jamur (Mycek *et al.* 2001; Setiabudy & Bahry 2007).

Menurut Harborne (1996) tanin merupakan senyawa polifenol yang dapat mengendapkan protein. Jika terjadi pengendapan protein dalam dinding sel dan sitoplasma maka pertumbuhan sel *Candida albicans* akan terganggu dan mengakibatkan kematian pada sel *Candida albicans*.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang dilakukan, maka diperoleh hasil bahwa:

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10321.

Kedua, fraksi yang paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10321 adalah fraksi etil asetat.

Ketiga, konsentrasi bunuh minimum (KBM) terhadap *Candida albicans* ATCC 10321 fraksi etil asetat 3,13%.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antijamur daun jambu mete terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10321 dengan menggunakan cairan penyari yang lain.

Perlu dilakauakn penelitian lebih lanjut secara *in vivo* sebagai kelanjutan secara *in vitro*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abulude, Ogunkoyo, dan Adebote. 2009. *Phytochemical And Antibacterial Investigation Of Crude Extracts Of Leaves And Stem Barks Of Anacardium Occidentale*, *Continental J. biological Sciences* 2.
- Ariyani, M., Kusumaningsih T. dan Rahardjo, M. B. 2007. “Daya Hambat Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium Occidentale*, L) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus sanguis*”. *Jurnal PDGI* Vol 57 (02):45-51. Surabaya: FKG Universitas Airlangga.
- Arekemase, M.O., Oyeyiola, G.P., Aliyu, M.B. 2011. *Antibacterial Activity of Anacardium occidentale on Some Enterotoxin Producing Bacteria*. *IJB*. 3
- Aniszewski T. 2007. *Alkaloid-Secrets of Life*, 187. Elsevier. Amsterdam.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi 1V. Farida Ibrahim, Asmanitar, Lis Ais Aisyah, penerjemah; Jakarta: Universitas Indonesia Press.
- Apriasari ML, Iskandar, dan Suhartono E. 2014. *Bioactive compounds and antioxidant activity of methanol extract mauli bananas (Musa sp) stem*. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*; 4(2):110-115.
- Dahake, A.P., Joshi, V.D., Joshi, A.B., 2009. *Antimicrobial Screening of Different Extract of Anacardium occidentale Linn. Leaves*. *IJCTR CODEN (USA)*.
- Doss, V.A. dan Thangavel, K.P. 2011. *Antioxidant and Antimicrobial Activity Using Different Extracts of Anacardium Occidentale L*. *IJABPT*. 2
- [DEPKES RI]. 1977. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Direktorat Pengawasan Obat dan Makanan.
- [DEPKES RI]. 1979. *Farmakope indonesia*. Edisi III. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- [Depkes RI]. 1980. *Materi Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik indonesia.
- [DEPKES RI]. 1983. *Pemanfaatan Tanaman Obat*. Ed ke-3. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [DEPKES RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm 3-12, 21-34.

- [DEPKES RI].1985. *Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dalimartha, Setiawan, 2000, *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid 2, trbus Agriwidya, Jakarta.
- Bonang, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk laboratorium Dan klinik*. Jakarta: Fakultas kedokteran Unika Admajaya,PT Gramedia.
- Brooks, G. Jawetz, Melnick dan Adelberg. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran Edisi 20* . Jakarta: Penerbit Kedokteran EGC.
- Dalimartha, Setiawan. 2005. *Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Puspa Swara.
- Ezoubeiri, A., Gadhi C.A., Fdil N., Benharref A., Jana M. dan Vanhaelen M., 2005, Isolation and antimicrobial activity of two phenolics compounds from *Pulicaria odora* L., J. Ethanopharmacol, 99, 287-292.
- Fardiaz, Srikandi. 1989. *Penuntun Praktek Mikrobiologi Pangan*. Bogor: IPB Press
- Fazali F, Zulkhairi A, Nurhaizan ME, Kamal NH, Zamree MS, Shahidan MA. 2011. Phytochemical screening, *in vitro* antioxidant activities of aqueous extract of *Anacardium occidentale* Linn. and its effects on endogenous antioxidan enzymes in hypercholesterolemic induced rabbits. Research Journal of Biological Sciences.. 6(2): 69-74.
- Fikaningrum S. 2014. Uji Aktivitas Antijamur Frasksi n-Heksan,Etil Asetat dan Air dari Daun Sirsak Naga (*Drymoglossum piloselloides* [L.] Prest.) [Skripsi]. Surakarta: Universitas Setia Budi.
- Frobisher and Fuerst's. 1983. "Microbiology in Health and Disease". 1 edition. Igaku Shoin. Sounders International Edition.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Farmakognosi*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Gunawan SG. 2007. *Farakologi dan Terapi* ED.5. UI Press, Jakarta.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia*. Bandung: Penerbit ITB
- Harbone. J. B, 1996. *Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Mengatur Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kokasih, P. & Iwang, S. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia*. Ed II. Padmawinata K, Soediro I, Penerjemah; Bandung: ITB Bandung. Terjemahan dari *Phytochemical Methods*.

- Heinrich M, Joanne B, Simon G, Elizabeth MW. 2005. *Farmakoterapi dan Fitoterapi*. Syarief ER, Cucu A, Ella E, Euis RF, penerjemah; Hadinata AH, editor. Penerbit Buku Kedokteran: EGC.
- Hebie T. 2015. *Tanaman Berkhasiat Obat*. Yogyakarta: OCTOPUS Publishing House.
- Hernawan A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. Universitas Airlangga.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Review of medical Mikrobiology*. Ed ke-16, penerjemah; Gerard Bonang . Jakarta: EGC.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Medical Microbiology 2thEd*. The McGraw Hill Companis, USA.
- Jawetz, E, Melnick J.L, Adelberg., GF, Brooks., J.S. Butel., dan L.N. Oriston. 2005. *Mikrobilogi Kedokteran*. Alih Bahasa Oleh Midihardi, E, Kuntaman, Warsito, E.B., Mertaniasi, N.M., Harsono, S., Dan Alimsardjono, L., Penerbit; Salemba Medika. Jakarta.
- Jawetz., E., melnick, J.L. Edelberg EA. 2001. *Review of Medical Microbiology*. Ed. Elferia NR., penerjemah: Jakarta. Hlm 138-139,473.
- Jupriadi L. 2011. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (*Hibicus tilaceus* L.) terhadap Jamur *Malassezia furfur* [Skripsi]. Semarang: Program Studi Farmasi Stikes Ngudi Waluyo Ungaran.
- Katzung, B.G.2004. *Basic and clinical Pharmaology*. Edisi ke 9. New York : Mc Graw-Hill.
- KEMKES RI.201. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia* Edisi I. Jakarta : Kementrian Kesehatan Republik Indonesia.
- Koes I. 2014. *Bakteriologi Medis, Mikrobiologi Medis dan Virologi Medis*. Bandung: Penerbit Alfabeta.
- Kristijono A. 2008. *Obat Tradisional dan Fitofarmaka*. Kediri: Institut Ilmu Kesehatan Bhakti Wiyata Kediri.
- Kusmawati & Agustinus NWR. 2007. Uji Aktivitas Senyawa Antibakteri dan Mikroalga (*Porphyridium cruentinum*). Biodiversitas 8:48-53.
- Kusrini, Dewi dan Mahendra Ismardiyanto. 2003. Asam Anakardat dari Kulit Biji Mete (*Anacardium occidentale* L.) yang mempunyai aktivitas sititoksik. *JSKA* Vol VI No.1.

- Leny S. 2006. *Senyawa Flavonoid, Fenil propanida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- List P. H., P. C. Schmidt. 2000. *Phytopharmacals Technology*. Alih bahasa: David Ellaby. Florida: CRC Press. Hal.67, 71-73.
- Lutfiyanti, R., Ma'ruf, W. F., dan Dewi, E. N. 2012. *Aktivitas Antijamur Senyawa Bioaktif Ekstrak Gelidium latifolium terhadap Candida albicans*. Jurnal Pengolahan dan Bioteknologi Hasil Perikanan 1 (1) : 26 – 33.
- Mangunwardoyo et al., 2009. “*Ekstraksi dan Identifikasi Senyawa Antimikroba Herba Meniran (Phyllanthus niruri L.)*”. Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia: Vol. 7, No. 2.
- Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. IKIP Press, Semarang.
- Mycek, M.J., Harvey, R.A., Champe, P.C., Fisher, B.D. 2001. *Farmakologi Ulasan Bergambar: Obat-obat Antijamur*. Edisi 2. Jakarta: Widya Medika. pp. 341-7.
- Obtrando. 2010. “*Anacardium Occidentale, L Jambu Mete*”. Dari buku <http://obtrando.files.wordpress.com/2010/09/anacardium-occidentale-dari-bukupot2.pdf>
- Paris, R., Plat, M., Barber, P.G., Linhard, J., and Laurens, A., 1977, *Receherce Chimique et Pharmacologique sur les Feuilles d'Anacardium occidentale L(anacardiaceae) bull. Soc. Med. Afr.*
- Pelezar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Penejemah Ratna Siri Hadioetomo, et al. Jakarta. Universitas Indonesia press.
- Pratiwi, Sylvia T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Surabaya: Erlangga. Halaman. 38-42.
- Parwata, I. M. O. A. dan Dewi, P. F. S. 2008. *Isolasi dan Uji Aktivitas Antibakteri Minyak atsiri dari Rimpang Lengkuas (Alpinia galaga L.)*. *Jurnal Kimia* 2 (2) : 100 – 104.
- Rahayu, T. dan Rahayu, T. 2009. *Uji Antijamur Kombucha Coffee terhadap Candida albicans dan Tricophyton mentagrophytes*. *Jurnal Penelitian Sains & Teknologi* 10 (1) : 10 – 17.
- Rianti, D. 2003. *Antimicrobial Effectiveness of Coleus amboinicus Lour Concentrate upon Candida Albicans on Acrylic Resin*. JBP Vol. 5, No. 3

- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Kosasih Padmawinata, Penerjemah; Bandung: ITB. Terjemahan dari: *The Organic Constituent of Higher plant*.
- Rohman, A, 2007. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Bandung: ITB.
- Saidu, A.N., Akanya, H.O., Dauda, B.E.N., Ogbadoyi, E.O. 2012. *Antibacterial and comparative hypoglycemic effect of Anacardium occidentale leaves*. IRJBB. 2.
- Sastrohamidjoj. 1991. *Sintesis Bahan Alam*. Gajah Madah University Press.
- Setiabudy, R. & Bahry, B. 2007. *Farmakologi dan Terapi: Obat Jamur*. Edisi 5. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Silamba NF.2014. Daya Hambat Tanaman Sarang Semut (*Myrmecodia pendens*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* [skripsi]. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Hasanudin Makassar.
- Simatupang MM. *Candida albicans*. USU Repository; 2009.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medisinal*. Edisi ke-2. Surabaya. Universitas Airlangga Press.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal*, 257-259, Airlangga Press, Surabaya.
- Stahl, C.,1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Edisi terjemahan, penerbit ITB, Bandung, 3-18.
- Sudarsono, Gunawan, D., Wahyuono, S., dan Donatus, I.A.,2002, *Tumbuhan Obat II : Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan*, Pusat Studi Obat Tradisional UGM, Yogyakarta.
- Sugeng, H., 2009. "*Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*". Yogyakarta.
- Suriawiria. 1995. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Angkasa. Bandung.
- Sulistiyawati, D. dan Mulyati, S. 2009. "Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) Terhadap *Candida albicans*" [skripsi]. Surakarta: Fakultas Biologi, Universitas setia Budi. Surakarta.
- Sumardjo. 2009. *Pengantar Kimia Buku Kedokteran EGC*. Jakarata.
- Suryono DR Bambang. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: AAK Bhakti Wiyata.

- Suyoso Sunarso. 2013. *Kandidiasis Mukosa*. Departemen/SMF Ilmu Kesehatan Dan Kelamin Fakultas Kedokteran Unifersitas Airlangga Dan RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- Tika A., 2010, Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Jambu Monyet (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans* Serta Profil Kromatogramnya [Skripsi]: Universitas Ahmad Dahlan, Yogyakarta.
- Tjampakasari CR, 2006. Karakteristik *Candida albicans*. Universitas Indonesia. Jakarta.
- Uniport Consortium. [Http://. Uniport.org/taxonomy/5551](http://.Uniport.org/taxonomy/5551). [21 juli 2012].
- Voigt R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Edisi V. Penerjemah Soewandi SS, Widiyanto MB. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum* Universitas Muhammadiyah Malang. Malang : Malang Perss.
- Widyasari, Rucitra. 2007. Aplikasi Penambahan Flokulan Terhadap Pengolahan Sari Buah Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.). *Fakultas TeknologiPertanian Institut Pertanian Bogor*. Bogor.
- Yuniarti, T. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Tradisional*. Media pressindo. Yogyakarta.

**L
A
M
P
I
R
A
N**

Lampiran 1. Hasil Determinasi Tanaman Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.)



No : 189/DET/UPT-LAB/04/VII/2017
Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkanbahwa :

Nama : Dominggas Viance Nana
NIM : 19133968 A
Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasikan tumbuhan : **Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.)**

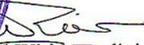
Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a. golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163b – 167b – 169b – 171b – 177a – 178a. familia 68. Anacardiaceae. 1a – 2a. 2. Anacardium. *Anacardium occidentale* L.

Deskripsi :

Habitus : Pohon, berbatang bengkok, bercabang dekat tanah, tinggi 8 – 12 m.
Batang : Percabangan monopodial. Ranting hanya berdaun pada ujungnya.
Daun : Tunggal, bertangkai, bulat telur terbalik, pangkal runcing, ujung membulat, melekuk ke dalam, gundul, 10,1 – 12,2 kali 4,3 – 4,7 cm.
Bunga : Berumah satu, berkelamin campuran. Malai rata, lebar 15 -25 cm, berambut. Daun pelindung bulat telur memanjang lebar, meruncing, panjang 0,5 – 1 cm. Anak tangkai bunga 2 – 5 mm. Kelopak berambut, tinggi 4 – 5 mm. Daun mahkota runcing, berambut, putih, segera berganti warna merah. Panjang lk 1 cm, tonjolan dasar bunga sangat kecil. Bunga jantan: tangkai sari panjang 1 cm; staminodia terkurung dalam mahkota; putik rudimenter, terkurung dalam tabung benang sari. Bunga betina: benang sari panjang lk 6 mm; staminodia 2 – 4 mm; bakal buah oval lebar.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46. Jakarta Pusat, 1978.

Sukarta, 04 Juli 2017
Tim determinasi

Dra. Karimah Wirjosoendjojo, SU.

**Lampiran 2. Foto tanaman daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)
dan serbuk daun jambu mete**



Foto tanaman daun jambu mete

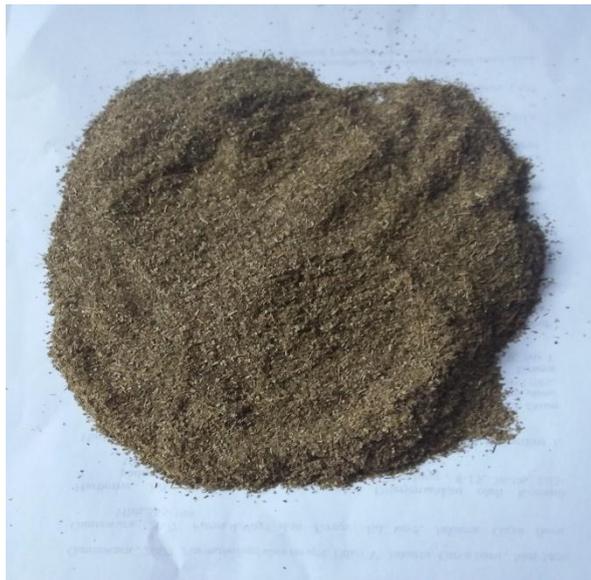


Foto serbuk daun jambu mete

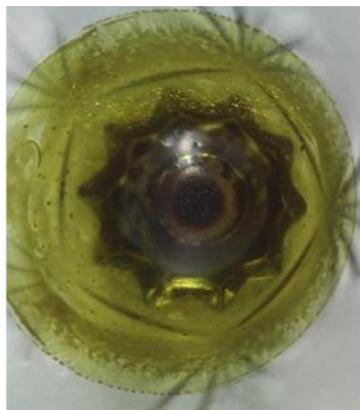
Lampiran 3. Foto hasil ekstrak dan fraksinasi serbuk daun jambu mete



Ekstrak etanol daun jambu mete



fraksi *n*-Heksan

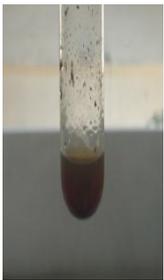
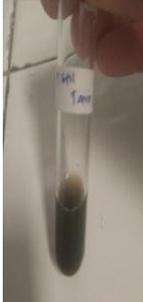


Fraksi etil asetat



fraksi air

Lampiran 4. Foto kandungan kimia ekstrak dan fraksi daun jambu mete

Senyawa kimia	Ekstrak	<i>n</i> -Heksan	Etil asetat	Air
Flavonoid				
Alkaloid				
Saponin				
Triterpen				
Tannin				

Lampiran 5. Gambar Alat



Alat Evaporator 1



Alat Evaporator 2



Inkubator



Oven



Autoklaf



Vortex



Timbangan



Mikroskop

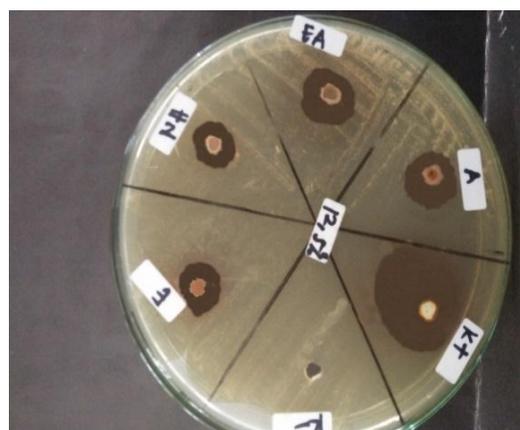
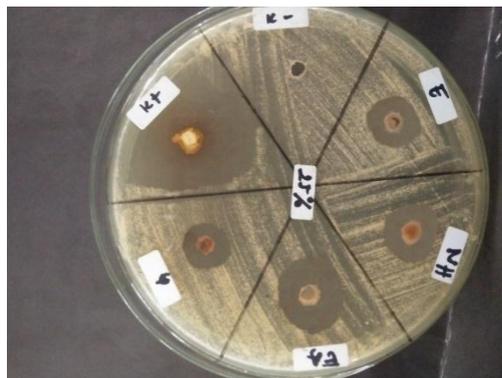
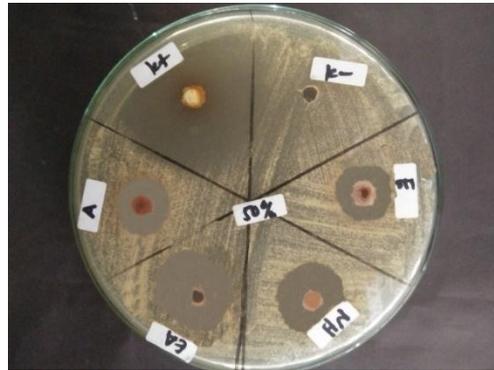


Corong pisah

Lampiran 6. Foto biakan *Candida albicans* ATCC 10321



Lampiran 7. Hasil uji antijamur fraksi *n*-Heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak etanol daun jambu mete terhadap *Candida albicans* ATCC 10321 secara difusi



Lampiran 8. Foto hasil dilusi dan inokulasi fraksi etil asetat dari daun jambu mete terhadap *Candida albicans* ATCC 10321

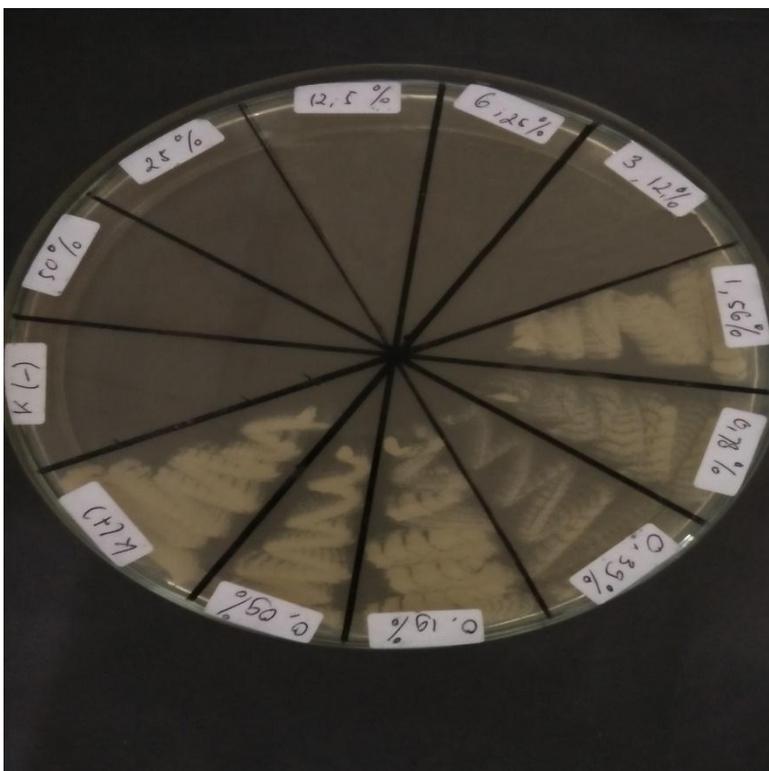


Foto hasil inokulasi fraksi etil asetat daun jambu mete terhadap *Candida albicans*

Lampiran 9. Perhitungan presentase bobot kering terhadap bobot basah daun jambu mete

Bobot basah	Bobot kering	Rendemen
5000 gram	3200 gram	64%

$$\begin{aligned} \text{Rendemen serbuk} &= \frac{\text{bobot kering (g)}}{\text{bobot basah (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{3200 \text{ (g)}}{5000 \text{ (g)}} \times 100\% \\ &= 64 \% \end{aligned}$$

Lampiran 10. Perhitungan penetapan susut pengeringan menggunakan alat *Moisture balance*

No	Bobot awal (gram)	Bobot akhir (gram)	Kadar susut pengeringan (%)
1	20	1,8	9,0
2	20	1,8	8,0
3	20	1,7	8,5
Rata-rata			8,83%

Perhitungan penetapan susut pengeringan serbuk daun jambu mete:

$$\begin{aligned} \text{Rata-rata} &= \frac{9,0 \% + 9,0 \% + 8,5 \%}{3} \\ &= 8,83 \% \end{aligned}$$

Lampiran 11. Hasil fraksinasi ekstrak etanol daun jambu mete

Rendemen fraksi *n*-Heksan daun jambu mete

Bobot ekstrak(gram)	Bobot fraksi(gram)	Rendemen fraksi <i>n</i> -heksan % (b/v)
10	1,15	11,5
10	1,18	11,8
10	1,13	11,3
Rata-rata		11,53

Perhitungan rendemen fraksi *n*-Heksan:

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi } n\text{-heksan } 1 &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,15 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,5 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi } n\text{-heksan } 2 &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,18 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,8\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi } n\text{-heksan } 3 &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{1,13 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 11,3\% \end{aligned}$$

Lampiran 12. Rendemen fraksi etil asetat daun jambu mete

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen fraksi etil asetat %(b/v)
10	0,91	9,1
10	0,87	8,7
1	0,79	7,9
Rata-rata		8,56

Perhitungan rendemen fraksi etil asetat :

$$\% \text{ Rendemen fraksi etil asetat 1} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,91 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 9,1 \%$$

$$\% \text{ Rendemen fraksi etil asetat 2} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,87 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 8,7 \%$$

$$\% \text{ Rendemen fraksi etil asetat 3} = \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,79 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 7,9 \%$$

Lampiran 13. Rendemen hasil fraksinasi air daun jambu mete

Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen fraksi etil asetat % (b/b)
10	3,57	35,7
10	3,61	36,1
10	3,59	35,9
Rata-rata		35,9

Perhitungan rendemen fraksi air :

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi air 1} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{3,57 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 35,7 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi air 2} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{3,61 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 36,1 \% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \% \text{ Rendemen fraksi air 3} &= \frac{\text{bobot fraksi (g)}}{\text{bobot ekstrak etanol (g)}} \times 100\% \\ &= \frac{3,59 \text{ gram}}{10 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 35,9\% \end{aligned}$$

Lampiran 14. Analisis data

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan amoksisilin	39	7.00	3.791	1	13
Diameter	39	18.46	4.084	13	30

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan amoksisilin	Diameter
N		39	39
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	7.00	18.46
	Std. Deviation	3.791	4.084
Most Extreme Differences	Absolute	.093	.178
	Positive	.093	.178
	Negative	-.093	-.098
Kolmogorov-Smirnov Z		.583	1.113
Asymp. Sig. (2-tailed)		.886	.168

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	615.026	12	51.252	71.387	.000
Within Groups	18.667	26	.718		
Total	633.692	38			

Post Hoc Tets

Multiple ComparisonsDiameter
Tukey HSD

(I) Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan amoksisilin	(J) Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan amoksisilin	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak etanol 50%	Fraksi n-heksan 50%	-3.000*	.692	.010	-5.51	-.49
	Fraksi etil asetat 50%	-8.667*	.692	.000	-11.18	-6.15
	Fraksi air 50%	-4.333*	.692	.000	-6.85	-1.82
	ekstrak etanol 25%	.667	.692	.998	-1.85	3.18
	fraksi n-heksan 25%	-2.333	.692	.088	-4.85	.18
	fraksi etil asetat 25%	-8.333*	.692	.000	-10.85	-5.82
	fraksi air 25%	-2.667*	.692	.030	-5.18	-.15
	ekstrak etanol 12,5%	1.333	.692	.766	-1.18	3.85
	fraksi n-heksan 12,5%	-1.667	.692	.468	-4.18	.85
	fraksi etil asetat 12,5%	-6.333*	.692	.000	-8.85	-3.82
	fraksi air 12,5%	-1.333	.692	.766	-3.85	1.18
	Ketokonazol	-12.667*	.692	.000	-15.18	-10.15
Fraksi n-heksan 50%	Ekstrak etanol 50%	3.000*	.692	.010	.49	5.51
	Fraksi etil asetat 50%	-5.667*	.692	.000	-8.18	-3.15
	Fraksi air 50%	-1.333	.692	.766	-3.85	1.18
	ekstrak etanol 25%	3.667*	.692	.001	1.15	6.18
	fraksi n-heksan 25%	.667	.692	.998	-1.85	3.18
	fraksi etil asetat 25%	-5.333*	.692	.000	-7.85	-2.82
	fraksi air 25%	.333	.692	1.000	-2.18	2.85
	ekstrak etanol 12,5%	4.333*	.692	.000	1.82	6.85
	fraksi n-heksan 12,5%	1.333	.692	.766	-1.18	3.85
	fraksi etil asetat 12,5%	-3.333*	.692	.003	-5.85	-.82
	fraksi air 12,5%	1.667	.692	.468	-.85	4.18
	Ketokonazol	-9.667*	.692	.000	-12.18	-7.15
Fraksi etil asetat 50%	Ekstrak etanol 50%	8.667*	.692	.000	6.15	11.18
	Fraksi n-heksan 50%	5.667*	.692	.000	3.15	8.18
	Fraksi air 50%	4.333*	.692	.000	1.82	6.85
	ekstrak etanol 25%	9.333*	.692	.000	6.82	11.85

	fraksi n-heksan 25%	6.333*	.692	.000	3.82	8.85
	fraksi etil asetat 25%	.333	.692	1.000	-2.18	2.85
	fraksi air 25%	6.000*	.692	.000	3.49	8.51
	ekstrak etanol 12,5%	10.000*	.692	.000	7.49	12.51
	fraksi n-heksan 12,5%	7.000*	.692	.000	4.49	9.51
	fraksi etil asetat 12,5%	2.333	.692	.088	-.18	4.85
	fraksi air 12,5%	7.333*	.692	.000	4.82	9.85
	Ketokonazol	-4.000*	.692	.000	-6.51	-1.49
Fraksi air 50%	Ekstrak etanol 50%	4.333*	.692	.000	1.82	6.85
	Fraksi n-heksan 50%	1.333	.692	.766	-1.18	3.85
	Fraksi etil asetat 50%	-4.333*	.692	.000	-6.85	-1.82
	ekstrak etanol 25%	5.000*	.692	.000	2.49	7.51
	fraksi n-heksan 25%	2.000	.692	.222	-.51	4.51
	fraksi etil asetat 25%	-4.000*	.692	.000	-6.51	-1.49
	fraksi air 25%	1.667	.692	.468	-.85	4.18
	ekstrak etanol 12,5%	5.667*	.692	.000	3.15	8.18
	fraksi n-heksan 12,5%	2.667*	.692	.030	.15	5.18
	fraksi etil asetat 12,5%	-2.000	.692	.222	-4.51	.51
	fraksi air 12,5%	3.000*	.692	.010	.49	5.51
	Ketokonazol	-8.333*	.692	.000	-10.85	-5.82
ekstrak etanol 25%	Ekstrak etanol 50%	-.667	.692	.998	-3.18	1.85
	Fraksi n-heksan 50%	-3.667*	.692	.001	-6.18	-1.15
	Fraksi etil asetat 50%	-9.333*	.692	.000	-11.85	-6.82
	Fraksi air 50%	-5.000*	.692	.000	-7.51	-2.49
	fraksi n-heksan 25%	-3.000*	.692	.010	-5.51	-.49
	fraksi etil asetat 25%	-9.000*	.692	.000	-11.51	-6.49
	fraksi air 25%	-3.333*	.692	.003	-5.85	-.82
	ekstrak etanol 12,5%	.667	.692	.998	-1.85	3.18
	fraksi n-heksan 12,5%	-2.333	.692	.088	-4.85	.18
	fraksi etil asetat 12,5%	-7.000*	.692	.000	-9.51	-4.49
	fraksi air 12,5%	-2.000	.692	.222	-4.51	.51
	Ketokonazol	-13.333*	.692	.000	-15.85	-10.82
fraksi n-heksan 25%	Ekstrak etanol 50%	2.333	.692	.088	-.18	4.85
	Fraksi n-heksan 50%	-.667	.692	.998	-3.18	1.85
	Fraksi etil asetat 50%	-6.333*	.692	.000	-8.85	-3.82
	Fraksi air 50%	-2.000	.692	.222	-4.51	.51
	ekstrak etanol 25%	3.000*	.692	.010	.49	5.51
	fraksi etil asetat 25%	-6.000*	.692	.000	-8.51	-3.49

	fraksi air 25%	-.333	.692	1.000	-2.85	2.18
	ekstrak etanol 12,5%	3.667*	.692	.001	1.15	6.18
	fraksi n-heksan 12,5%	.667	.692	.998	-1.85	3.18
	fraksi etil asetat 12,5%	-4.000*	.692	.000	-6.51	-1.49
	fraksi air 12,5%	1.000	.692	.956	-1.51	3.51
	Ketokonazol	-10.333*	.692	.000	-12.85	-7.82
fraksi etil asetat 25%	Ekstrak etanol 50%	8.333*	.692	.000	5.82	10.85
	Fraksi n-heksan 50%	5.333*	.692	.000	2.82	7.85
	Fraksi etil asetat 50%	-.333	.692	1.000	-2.85	2.18
	Fraksi air 50%	4.000*	.692	.000	1.49	6.51
	ekstrak etanol 25%	9.000*	.692	.000	6.49	11.51
	fraksi n-heksan 25%	6.000*	.692	.000	3.49	8.51
	fraksi air 25%	5.667*	.692	.000	3.15	8.18
	ekstrak etanol 12,5%	9.667*	.692	.000	7.15	12.18
	fraksi n-heksan 12,5%	6.667*	.692	.000	4.15	9.18
	fraksi etil asetat 12,5%	2.000	.692	.222	-.51	4.51
	fraksi air 12,5%	7.000*	.692	.000	4.49	9.51
	Ketokonazol	-4.333*	.692	.000	-6.85	-1.82
	fraksi air 25%	Ekstrak etanol 50%	2.667*	.692	.030	.15
Fraksi n-heksan 50%		-.333	.692	1.000	-2.85	2.18
Fraksi etil asetat 50%		-6.000*	.692	.000	-8.51	-3.49
Fraksi air 50%		-1.667	.692	.468	-4.18	.85
ekstrak etanol 25%		3.333*	.692	.003	.82	5.85
fraksi n-heksan 25%		.333	.692	1.000	-2.18	2.85
fraksi etil asetat 25%		-5.667*	.692	.000	-8.18	-3.15
ekstrak etanol 12,5%		4.000*	.692	.000	1.49	6.51
fraksi n-heksan 12,5%		1.000	.692	.956	-1.51	3.51
fraksi etil asetat 12,5%		-3.667*	.692	.001	-6.18	-1.15
fraksi air 12,5%		1.333	.692	.766	-1.18	3.85
Ketokonazol	-10.000*	.692	.000	-12.51	-7.49	
ekstrak etanol 12,5%	Ekstrak etanol 50%	-1.333	.692	.766	-3.85	1.18
	Fraksi n-heksan 50%	-4.333*	.692	.000	-6.85	-1.82
	Fraksi etil asetat 50%	-10.000*	.692	.000	-12.51	-7.49
	Fraksi air 50%	-5.667*	.692	.000	-8.18	-3.15
	ekstrak etanol 25%	-.667	.692	.998	-3.18	1.85
	fraksi n-heksan 25%	-3.667*	.692	.001	-6.18	-1.15
	fraksi etil asetat 25%	-9.667*	.692	.000	-12.18	-7.15
fraksi air 25%	-4.000*	.692	.000	-6.51	-1.49	

	fraksi n-heksan 12,5%	-3.000*	.692	.010	-5.51	-.49
	fraksi etil asetat 12,5%	-7.667*	.692	.000	-10.18	-5.15
	fraksi air 12,5%	-2.667*	.692	.030	-5.18	-.15
	Ketokonazol	-14.000*	.692	.000	-16.51	-11.49
fraksi n-heksan 12,5%	Ekstrak etanol 50%	1.667	.692	.468	-.85	4.18
	Fraksi n-heksan 50%	-1.333	.692	.766	-3.85	1.18
	Fraksi etil asetat 50%	-7.000*	.692	.000	-9.51	-4.49
	Fraksi air 50%	-2.667*	.692	.030	-5.18	-.15
	ekstrak etanol 25%	2.333	.692	.088	-.18	4.85
	fraksi n-heksan 25%	-.667	.692	.998	-3.18	1.85
	fraksi etil asetat 25%	-6.667*	.692	.000	-9.18	-4.15
	fraksi air 25%	-1.000	.692	.956	-3.51	1.51
	ekstrak etanol 12,5%	3.000*	.692	.010	.49	5.51
	fraksi etil asetat 12,5%	-4.667*	.692	.000	-7.18	-2.15
	fraksi air 12,5%	.333	.692	1.000	-2.18	2.85
		Ketokonazol	-11.000*	.692	.000	-13.51
fraksi etil asetat 12,5%	Ekstrak etanol 50%	6.333*	.692	.000	3.82	8.85
	Fraksi n-heksan 50%	3.333*	.692	.003	.82	5.85
	Fraksi etil asetat 50%	-2.333	.692	.088	-4.85	.18
	Fraksi air 50%	2.000	.692	.222	-.51	4.51
	ekstrak etanol 25%	7.000*	.692	.000	4.49	9.51
	fraksi n-heksan 25%	4.000*	.692	.000	1.49	6.51
	fraksi etil asetat 25%	-2.000	.692	.222	-4.51	.51
	fraksi air 25%	3.667*	.692	.001	1.15	6.18
	ekstrak etanol 12,5%	7.667*	.692	.000	5.15	10.18
	fraksi n-heksan 12,5%	4.667*	.692	.000	2.15	7.18
	fraksi air 12,5%	5.000*	.692	.000	2.49	7.51
		Ketokonazol	-6.333*	.692	.000	-8.85
fraksi air 12,5%	Ekstrak etanol 50%	1.333	.692	.766	-1.18	3.85
	Fraksi n-heksan 50%	-1.667	.692	.468	-4.18	.85
	Fraksi etil asetat 50%	-7.333*	.692	.000	-9.85	-4.82
	Fraksi air 50%	-3.000*	.692	.010	-5.51	-.49
	ekstrak etanol 25%	2.000	.692	.222	-.51	4.51
	fraksi n-heksan 25%	-1.000	.692	.956	-3.51	1.51
	fraksi etil asetat 25%	-7.000*	.692	.000	-9.51	-4.49

	fraksi air 25%	-1.333	.692	.766	-3.85	1.18
	ekstrak etanol 12,5%	2.667*	.692	.030	.15	5.18
	fraksi n-heksan 12,5%	-.333	.692	1.000	-2.85	2.18
	fraksi etil asetat 12,5%	-5.000*	.692	.000	-7.51	-2.49
	Ketokonazol	-11.333*	.692	.000	-13.85	-8.82
Ketokonazol	Ekstrak etanol 50%	12.667*	.692	.000	10.15	15.18
	Fraksi n-heksan 50%	9.667*	.692	.000	7.15	12.18
	Fraksi etil asetat 50%	4.000*	.692	.000	1.49	6.51
	Fraksi air 50%	8.333*	.692	.000	5.82	10.85
	ekstrak etanol 25%	13.333*	.692	.000	10.82	15.85
	fraksi n-heksan 25%	10.333*	.692	.000	7.82	12.85
	fraksi etil asetat 25%	4.333*	.692	.000	1.82	6.85
	fraksi air 25%	10.000*	.692	.000	7.49	12.51
	ekstrak etanol 12,5%	14.000*	.692	.000	11.49	16.51
	fraksi n-heksan 12,5%	11.000*	.692	.000	8.49	13.51
	fraksi etil asetat 12,5%	6.333*	.692	.000	3.82	8.85
	fraksi air 12,5%	11.333*	.692	.000	8.82	13.85

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

Homogeneous Subsets

DiameterTukey HSD^a

Ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air dan amoksisilin	N	Subset for alpha = 0.05								
		1	2	3	4	5	6	7	8	
ekstrak etanol 12,5%	3	13.33								
ekstrak etanol 25%	3	14.00	14.00							
Ekstrak etanol 50%	3	14.67	14.67	14.67						
fraksi air 12,5%	3		16.00	16.00	16.00					
fraksi n-heksan 12,5%	3		16.33	16.33	16.33					
fraksi n-heksan 25%	3			17.00	17.00	17.00				
fraksi air 25%	3				17.33	17.33				
Fraksi n-heksan 50%	3				17.67	17.67				
Fraksi air 50%	3					19.00	19.00			
fraksi etil asetat 12,5%	3						21.00	21.00		
fraksi etil asetat 25%	3							23.00		
Fraksi etil asetat 50%	3							23.33		
Ketokonazol	3									27.33
Sig.		.766	.088	.088	.468	.222	.222	.088	1.000	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

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

Lampiran 15. Formulasi dan pembuatan media

1. Pembuatan media Sabouraud Glukosa Agar (SGA) sebanyak

@ SGA 65g/L

@ Aquades 1 L

@ kloramfenikol 400 mg/L

Menimbang 65 gram SGA, dilarutkan dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larutan sempurna, tambahkan kloramfenikol 400 mg. pindahkan kedalam tabung masing-masing 10 ml tutup dengan kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 1 jam. Dinginkan hasil sterilisasi, pindah kedalam cawan petri besar @ 60 ml

2. Pembuatan media Sabouroud Glukosa Cair (SGC) sebanyak 1000 ml

@ pepton 10 g

@ D(+) Glukosa 40 g

@ Klpramfenikol 75 mg

Cara pembuatan :

Menimbang 10 g pepton, 40 g D(+) Glukosa, dan 75 mg kloramfenikol, kemudian dilarutkan dalam air suling sampai 1000 ml.

Diperiksa pH nya (pH = 5,4-5,8) kemudian disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121⁰C selama 15 menit.

3. Pembuatan kontrol positif (ketokonazol)

Perhitungan :

Tablet ketokonazol = 0,30 g

= dalam 300 mg terdapat 200 mg ketokonazol

Perhitungan = $a : b \times c$

Keterangan : a = ketokonazol yang terkandung dalam tablet (mg)

b = berat tablet setelah ditimbang ulang (mg)

c = berat tablet yang mu diencerkan (mg)

= $200 \text{ mg} : 300 \text{ mg} \times 300 \text{ mg}$

= 0,2 mg / 100 ml

$$= 0,2 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$$

$$= 0,2\%$$

Cara : tablet ketokonazol digeryus 200 mg kemudian dimasukkan dalam tabung vial ditambah aquades sampai 100 ml dengan konsentrasi 0,2%

Lampiran 16. Perhitungan pengenceran DMSO 1 % (*Dimethyl Sulfoxida*)

Pembuatan DMSO konsentrasi 1%:

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 100\% = 100 \text{ ml}. 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{100 \text{ ml}. 1\%}{100\%}$$

$$= \frac{100 \text{ ml}}{100}$$

$$V_2 = 1 \text{ ml}$$

Dipipet 1 ml dari larutan awal (100%) kemudian ditambah aquadest steril sampai 100 ml.

Lampiran 17. Pembuatan sediaan untuk uji difusi

A. Ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.)

- Konsentrasi Ekstrak 50%

$$50\% \text{ b/v} = 50 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$$

$$= 1 \text{ g} / 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 1 gram ekstrak daun jambu mete kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 1% sebanyak 2 ml.

- Konsentrasi Ekstrak 25%

$$25\% \text{ b/v} = 25 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$$

$$= 0,5 \text{ g} / 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 0,5 gram ekstrak daun jambu mete kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 1% sebanyak 2 ml.

- Konsentrasi Ekstrak 12,5%

$$12,5\% \text{ b/v} = 12,5 \text{ gram} / 100 \text{ ml}$$

$$= 0,25 \text{ g} / 2 \text{ ml}$$

Ditimbang 0,25 gram ekstrak daun jambu mete kemudian dimasukkan ke dalam vial dan diencerkan dengan DMSO 1% sebanyak 2 ml.

B. Perhitungan Konsentrasi Ekstrak Untuk Uji Dilusi

- Konsentrasi 50%

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

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

$$V_1 = \frac{1 \times 25\%}{50\%}$$

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

- Konsentrasi 25%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

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

$$V_1 = \frac{1 \times 12,5 \%}{50 \%}$$

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

- Konsentrasi 12,5%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 12,5\% = 1 \text{ ml. } 6,25\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 6,25 \%}{50 \%}$$

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

- Konsentrasi 6,25%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 6,25\% = 1 \text{ ml. } 3,125\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 3,125 \%}{50 \%}$$

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

- Konsentrasi 3,125%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 3,125\% = 1 \text{ ml. } 1,563\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 1,563 \%}{50 \%}$$

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

- Konsentrasi 1,563%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 1,563\% = 1 \text{ ml. } 0,781\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,781\%}{50\%}$$

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

- Konsentrasi 0,781%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 0,781\% = 1 \text{ ml. } 0,391\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,391\%}{50\%}$$

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

- Konsentrasi 0,391%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 0,391\% = 1 \text{ ml. } 0,196\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,196\%}{50\%}$$

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

- Konsentrasi 0,196%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 0,196\% = 1 \text{ ml. } 0,098\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,098\%}{50\%}$$

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

- Konsentrasi 0,098%

$$V_1.C_1 = V_2.C_2$$

$$V_1. 0,098\% = 1 \text{ ml. } 0,049\%$$

$$V_1 = \frac{1 \times 0,049\%}{50\%}$$

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

kontrol negatif (-) berisi 1 ml ekstrak/fraksi

kontrol positif (+) berisi 1 ml suspense jamur