

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L.)

Determinasi tanaman pletekan dalam penelitian ini dilakukan di Balai Besar Penelitian Dan Pengembangan Tanaman Obat Dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang diambil, menghindari terjadinya kesalahan dalam pengambilan sampel dan untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang akan diteliti.

Berdasarkan hasil determinasi diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah tanaman pletekan (*Ruellia tuberosa* L.). Hasil determinasi tanaman pletekan dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pengumpulan bahan

Bahan diperoleh dari Desa Tirtomani Kalasan, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Gambar daun pletekan segar dapat dilihat pada lampiran 2.

3. Pengeringan dan pembuatan serbuk daun pletekan

Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air sehingga mencegah terjadinya pembusukan oleh jamur maupun mikroorganisme lain. Daun pletekan yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan mesin penggiling. Tujuan penyerbukan untuk memperluas permukaan partikel bahan yang kontak dengan pelarut, sehingga penyarian dapat berlangsung aktif. Serbuk yang didapat kemudian diayak dengan ayakan nomor 40, sehingga diperoleh serbuk dengan derajat kehalusan relatif homogen.

Tabel 2. Rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pletekan

Bobot basah (g)	Bobot kering (g)	Rendemen (%) b/b
7000	1800	25,72

Berdasarkan tabel 2 dapat diketahui rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun pletekan sebesar 25,72%. Gambar serbuk daun pletekan dapat dilihat pada lampiran 2 dan perhitungan terdapat pada lampiran 5.

4. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan

Penetapan kadar air daun pletekan dilakukan dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Prinsip kerja *Sterling Bidwell* adalah menguapkan kandungan air pada sampel, kemudian mengalir lewat leher alat menuju kondensor untuk mengubah gas menjadi cair dan jatuh ke alat penampung. Volume air dibaca pada skala, kemudian dihitung dengan rumus untuk menetapkan kadar air. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk daun pletekan

No	Bobot serbuk (g)	Kadar air (% v/b)
1	20	8
2	20	8,5
3	20	8
Rata-rata		8,2

Berdasarkan tabel 3 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar air dalam serbuk daun pletekan adalah 8,2%. Kadar air daun pletekan memenuhi persyaratan kadar air simplisia yaitu kurang dari 10% (Depkes 2008). Kadar air yang tinggi menyebabkan sampel mudah ditumbuhi bakteri, kapang dan khamir sehingga merubah kualitas sampel. Perhitungan kadar air serbuk daun pletekan dapat dilihat pada lampiran 7.

5. Hasil pembuatan ekstrak etanol daun pletekan

Pembuatan ekstrak etanol daun pletekan dilakukan dengan metode maserasi. Prinsip maserasi adalah penyarian zat aktif yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari yang sesuai. Kelebihan metode maserasi adalah mudah dalam pengerjaannya, alat yang digunakan sederhana dan dapat menghindari kerusakan senyawa aktif yang rusak akibat pemanasan. Serbuk daun pletekan yang digunakan untuk pembuatan ekstrak sebanyak 1000 gram, proses maserasi menggunakan wadah gelap agar terhindar dari sinar matahari langsung.

Tabel 4. Pembuatan ekstrak etanol daun pletekan

Serbuk daun pletekan (g)	Ekstrak kental (g)	Rendemen (% b/b)
1000	128	12,8

Hasil dari maserasi daun pletekan didapatkan ekstrak berwarna hijau tua dan berbentuk kental sebanyak 128 gram. Persentase rendemen ekstrak etanol daun pletekan diperoleh 12,8%. Besar kecilnya persentase rendemen berkaitan dengan lama waktu maserasi. Semakin lama waktu maserasi maka semakin besar rendemen yang dihasilkan, hal ini dikarenakan waktu kontak antara bahan dan pelarut semakin besar. Perhitungan rendemen ekstrak etanol daun pletekan dapat dilihat pada tabel 5 lampiran 8.

6. Hasil kadar air ekstrak etanol daun pletekan

Penetapan kadar air daun pletekan dilakukan dengan cara destilasi menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Prinsip kerja *Sterling Bidwell* adalah menguapkan kandungan air pada sampel, kemudian mengalir lewat leher alat menuju kondensor untuk mengubah gas menjadi cair dan jatuh ke alat penampung. Volume air dibaca pada skala, kemudian dihitung dengan rumus untuk menetapkan kadar air.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak daun pletekan

No	Bobot ekstrak (g)	Kadar air (% v/b)
1	20	8
2	20	7
3	20	7
Rata-rata		7,3

Berdasarkan tabel 5 dapat diketahui bahwa rata-rata kadar air dalam ekstrak daun pletekan adalah 7,3%. Kadar air daun pletekan memenuhi persyaratan kadar air simplisia yaitu kurang dari 10% (Depkes 2008). Kadar air yang tinggi menyebabkan sampel mudah ditumbuhi bakteri, kapang dan khamir sehingga merubah kualitas sampel. Perhitungan kadar air ekstrak daun pletekan dapat dilihat pada lampiran 7.

7. Hasil uji bebas etanol ekstrak daun pletekan

Hasil uji bebas etanol menunjukkan bahwa ekstrak daun pletekan telah bebas dari pelarutnya yaitu etanol 96% yang ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol. Hasil uji bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 9.

Uji ini bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak sudah tidak mengandung etanol sehingga tidak mengganggu aktivitas antijamur dari ekstrak daun pletekan.

8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun pletekan

Identifikasi kandungan senyawa kimia merupakan pengujian pendahuluan untuk mengetahui kebenaran kandungan senyawa kimia yang terdapat di dalam serbuk dan ekstrak daun pletekan. Senyawa yang diidentifikasi yaitu senyawa flavonoid, alkaloid, tanin, saponin dan triterpenoid/steroid. Hasil pengujian kandungan kimia dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak etanol daun pletekan

Senyawa dan reagen	Hasil		Pustaka	Ket
	Serbuk	Ekstrak		
Flavonoid (Mg + HCl pekat + amil alkohol)	Terbentuk cincin merah pada lapisan amil alkohol	Terbentuk cincin merah pada lapisan amil alkohol	Reaksi positif ditunjukkan dengan warna merah atau kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes 1980).	(+)
Alkaloid (Dragendorf; Mayer; Bouchardat)	Dragendorf : tidak ada endapan jingga Mayer: tidak ada endapan putih Bouchardhat: tidak ada endapan coklat	Dragendorf : tidak ada endapan jingga Mayer: tidak ada endapan putih Bouchardhat: tidak ada endapan coklat	Reaksi positif pada penambahan dragendorf terbentuk endapan jingga, penambahan bouchardat terbentuk endapan coklat, dan pada penambahan mayer terbentuk endapan putih hingga kekuningan (Depkes 1987).	(-)
Tanin (FeCl ₃)	Berwarna hijau kehitaman	Berwarna hijau kehitaman	Reaksi positif jika terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Depkes 1987).	(+)
Saponin (Aquadest panas+ HCl 2N)	Tidak terbentuk buih	Tidak terbentuk buih	Reaksi positif apabila terbentuk buih yang mantap setinggi 1-10cm, pada penambahan 1 tetes HCl 2N buih tidak hilang (Depkes 1980).	(-)
Triterpenoid /steroid (Lieberman bouchard)	Terbentuk warna ungu kecoklatan	Terbentuk warna ungu kecoklatan	Reaksi positif ditandai dengan terbentuknya warna biru sampai hijau menandakan adanya steroid, sedangkan bila terbentuk warna merah sampai ungu menandakan adanya triterpenoid (Farnsworth 1966).	(+)

Keterangan: (+) : mengandung golongan senyawa

(-) : tidak mengandung golongan senyawa

Penelitian Arirudran (2011), menunjukkan daun pletekan mengandung senyawa flavonoid, tanin dan triterpenoid/steroid. Berdasarkan tabel 6 dapat diketahui bahwa hasil identifikasi kandungan senyawa kimia pada serbuk dan ekstrak daun pletekan menunjukkan hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya. Gambar hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun pletekan dapat dilihat pada lampiran 10.

9. Hasil fraksinasi

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu golongan utama kandungan satu dari golongan utama kandungan yang lain berdasarkan kepolarannya (Harborne 2006). 40 gram ekstrak kental daun pletekan dilakukan fraksinasi dengan tiga pelarut berbeda, yaitu pelarut *n*-heksana (nonpolar), etil asetat (semipolar), dan air (polar). Gambar hasil fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 3.

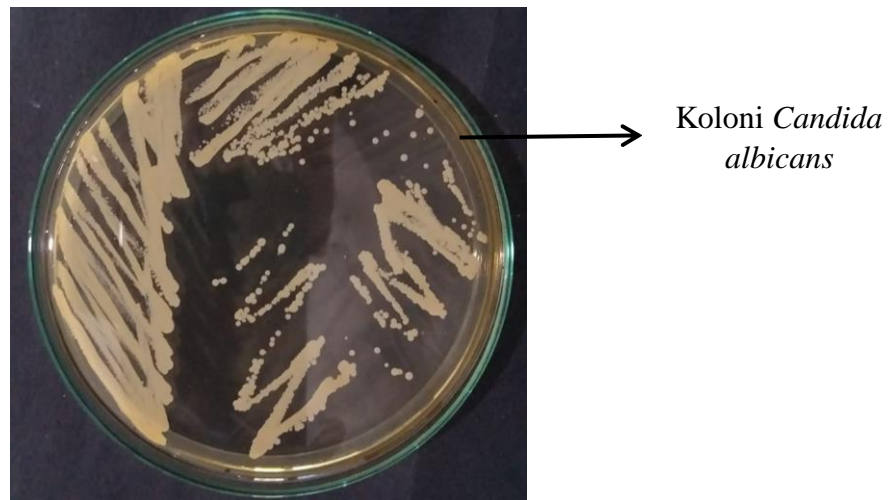
Tabel 7. Hasil fraksinasi *n*-heksana, etil asetat dan air dari ekstrak daun pletekan.

Fraksi	Bobot ekstrak (g)	Bobot fraksi (g)	Rendemen (% b/b)
<i>n</i> -heksana	40	5	12,5
Etil asetat		2	5
Air		27	67,5

Perbedaan jumlah rendemen dari fraksi disebabkan oleh perbedaan bobot molekul, kandungan dan komposisi kimia senyawa yang terlarut. Berdasarkan prinsip *like dissolves like*, senyawa bersifat polar cenderung larut dalam pelarut polar dan sebaliknya senyawa nonpolar akan larut dalam pelarut nonpolar.

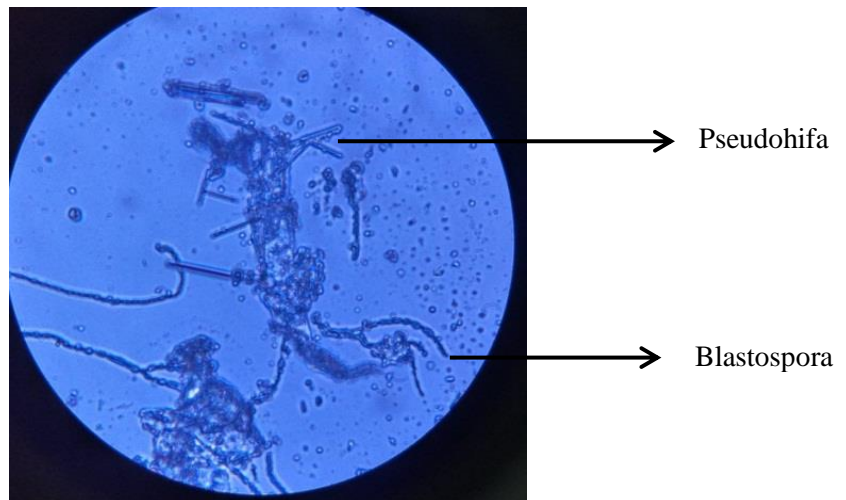
10. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231

10.1. Hasil identifikasi makroskopis. Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara makroskopis pada media SGA yang ditumbuhi *Candida albicans* ATCC 10231 terbentuk koloni lunak berwarna krem (Jawetz *et al* 2007). Hasil identifikasi didapatkan koloni berwarna krem, bulat agak cembung, dengan bau khas ragi.



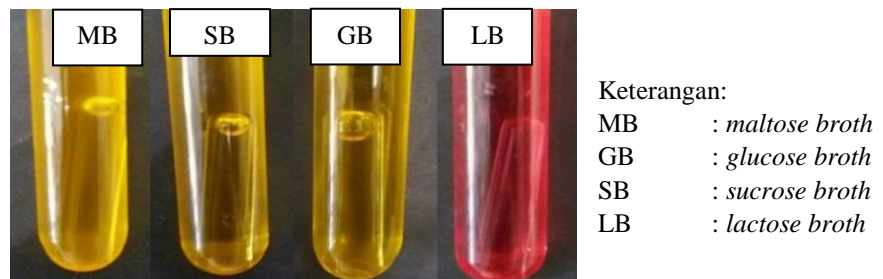
Gambar 5. Identifikasi makroskopis *Candida albicans*

10.2. Hasil identifikasi mikroskopis. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis tampak tabung benih dengan filamen pendek. Blastopora yang saling bersambung dan bertambah panjang merupakan pseudohifa dari *Candida albicans* ATCC 10231 (Mutiawati 2016). Identifikasi dilakukan menggunakan serum. Serum berperan dalam mempercepat perkembangbiakan sel *Candida albicans* ke dalam bentuk pseudohifa (Simatupang 2009). Komponen serum yang dapat menginduksi terbentuknya tabung benih pada *Candida albicans* adalah D-glukosa yang berikatan dengan G-Protein-coupled Receptor (GPR1) yang terletak pada membran sel sehingga dapat menginduksi perkembangbiakan *Candida albicans* secara cepat (Rolland *et al* 2002). Pemberian *Lactofenol Cotton Blue* (LCB) membuat *Candida albicans* ATCC 10231 tampak berwarna biru. Warna ini diperoleh dari komponen *cotton blue* yang dalam LCB. Komponen fenol berperan sebagai disinfektan, asam laktat mempertajam struktur *Candida albicans* ATCC 10231, dan gliserol untuk menjaga sel terhadap kekeringan (Basava *et al* 2016). *Cotton blue* dapat berpenetrasi karena dinding spora yang awalnya bersifat impermeabel, melalui bantuan pemanasan, maka kemudian dapat ditembus oleh zat pewarna (Fardiaz 1987).



Gambar 6. *Candida albicans* ATCC 10231 yang dibiakkan dengan serum manusia

10.3. Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan pada media *Lactose Broth*, *Glucose Broth*, *Galactose Broth* dan *Maltose broth*. Proses fermentasi karbohidrat yang tersedia dalam larutan dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob.



Gambar 7. Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat

Tabel 8. Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat

Media	Hasil
<i>Maltose Broth</i>	F+/G+
<i>sucrose Broth</i>	F+/G+
<i>Glucose Broth</i>	F+/G+
<i>Lactose Broth</i>	F-/G-

Keterangan:

F+ : terjadi fermentasi

G+ : terbentuk gas pada tabung durham

F- : tidak terjadi fermentasi

G- : tidak terbentuk gas pada tabung durham

Identifikasi fermentasi karbohidrat *Candida albicans* ATCC 10231 menunjukkan adanya perubahan warna merah menjadi kuning pada reaksi asimilasi dan fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan

adanya reaksi fermentasi, *Candida albicans* ATCC 10231 menunjukkan reaksi asam dan gas pada medium *maltose broth*, *sucrose broth*, dan *glucose broth*, sedangkan pada media *lactose broth* tidak terjadi proses asimilasi dan fermentasi. *Candida albicans* merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel pada suasana anaerob dan aerob. Karbohidrat yang berada dalam larutan gula dapat digunakan untuk metabolisme sel dengan cara mengubahnya menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Hasil fermentasi pada suasana anaerob berupa asam laktat dan CO₂. Proses akhir fermentasi jamur menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan dalam proses oksidasi dan pernafasan, pada proses asimilasi *Candida albicans* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon maupun energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Tjampaksari 2006).

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa pada medium *maltose broth*, *sucrose broth*, dan *glucose broth* terbentuk gas dalam tabung durham dan terjadi fermentasi karbohidrat menjadi asam organik yang ditandai dengan adanya perubahan warna merah dari indikator *phenol red* 1% menjadi warna kuning, sedangkan pada media *lactose broth* tidak terjadi fermentasi karbohidrat menjadi asam organik ditandai dengan tidak adanya perubahan warna merah dari indikator *phenol red* 1% menjadi warna kuning serta tidak terbentuk gas yang ditandai dengan tidak adanya ruang kosong pada tabung durham. Pembentukan gas pada tabung durham terjadi karena karbohidrat diubah menjadi CO₂ dan H₂O pada saat proses metabolisme sel (Waluyo 2004). Hasil pengujian yang dilakukan dibandingkan dengan pustaka bahwa jamur yang diamati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

11. Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231

11.1. Hasil pengujian metode difusi. Uji aktivitas antijamur secara difusi bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur dari bahan uji, serta mengetahui bahan uji yang paling aktif memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun pletekan dilakukan pengujian aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan varian konsentrasi yaitu 40, 20 dan 10%.

Kontrol positif yang digunakan adalah flukonazole 0,2% dan kontrol negatif DMSO 5%. Perhitungan konsentrasi larutan uji dapat dilihat pada lampiran 12 sampai 14. Diameter zona hambat pengujian aktivitas antijamur secara difusi dapat dilihat pada tabel 9. Hasil pengujian antijamur secara difusi dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 9. Diameter zona hambat uji aktivitas antijamur secara difusi terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SD
		Replikasi			
		I	II	III	
Ekstrak	40	16	16,5	16,75	16,42 ± 0,38
	20	12,25	12,25	13	12,50 ± 0,43
	10	10,5	11	10,25	10,58 ± 0,38
Fraksi <i>n</i> -heksana	40	18	19	19	18,67 ± 0,58
	20	16,75	16,5	16,25	16,50 ± 0,25
	10	13,25	13,5	13	13,25 ± 0,25
Fraksi etil asetat	40	17	17,5	17,25	17,25 ± 0,25
	20	13,5	13	13,75	13,42 ± 0,38
	10	11	12	11,5	11,50 ± 0,50
Fraksi air	40	10	9,5	10,5	10,00 ± 0,50
	20	8	8,5	8,25	8,25 ± 0,25
	10	7,25	7	7,5	7,25 ± 0,25
Flukonazole	0,2	26,45	27	26,5	26,65 ± 0,30
DMSO	5	0	0	0	0 ± 0,00

Pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun pletekan menunjukkan aktivitas daya hambat pada pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231, hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona bening yang mengelilingi daerah disk cakram.

Berdasarkan tabel 9 menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana memiliki daya hambat yang lebih aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dibandingkan ekstrak, fraksi etil asetat dan fraksi air, hal ini dapat dilihat dari hasil pada tabel 10 rata-rata diameter zona hambat fraksi *n*-heksana dengan konsentrasi 40, 20, dan 10% berturut-turut adalah 18,67; 16,50 dan 13,25mm, sedangkan kontrol positif (flukonazole 0,2%) memiliki rata-rata zona hambat 26,65 mm dan kontrol negatif (DMSO 5%) tidak memiliki diameter zona hambat.

Analisis data dari hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi diuji secara statistik menggunakan *Kolmogorov smirnov*. Hasil uji *Kolmogorov smirnov* diperoleh signifikansi sebesar 0,845 (>0,05) yang berarti H_0 diterima

sehingga dapat disimpulkan data sudah terdistribusi normal, kemudian dilanjutkan dengan *Levene test*, nilai signifikansi pada *Levene test* sebesar 0,344 ($>0,05$) yang berarti data homogen, setelah diuji menggunakan *Kolmogorov smirnov* dan *Levene test* dilanjutkan dengan uji ANOVA *two way*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan tabel tukey test menunjukkan tanda (*) pada angka mean difference, artinya hasil diameter hambat ekstrak fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Tabel hasil homogeneous subsets, menunjukkan perbedaan signifikan pada setiap sampel. Sampel yang berada pada satu kolom menandakan tidak adanya perbedaan signifikan, sementara sampel yang berada pada kolom yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada setiap sampel. Sampel yang berada paling dekat dengan kolom kontrol positif menandakan bahwa sampel tersebut memiliki aktivitas antijamur yang paling aktif diantara sampel yang lain walaupun sampel tersebut aktivitasnya tidak sebanding dengan kontrol positif. Berdasarkan tabel homogeneous subsets, fraksi *n*-heksana berada pada kolom 5 dan kontrol positif flukonazole berada pada kolom 6, dari hasil tersebut dapat disimpulkan fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas antijamur yang paling aktif walaupun aktivitasnya tidak lebih aktif dari kontrol positif yaitu flukonazole. Analisis ANOVA *two way* dapat dilihat pada lampiran 20.

Zona hambat fraksi lain lebih kecil dibandingkan fraksi *n*-heksana dimungkinkan karena kandungan golongan senyawa kimia dalam fraksi *n*-heksana lebih banyak dibandingkan fraksi lain. Fraksi *n*-heksana dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 mempunyai aktivitas antijamur yang paling aktif. Fraksi *n*-heksana lebih banyak menarik senyawa-senyawa non polar yang terkandung dalam ekstrak daun pletakan seperti triterpenoid dan steroid. Mekanisme kerja Triterpenoid/steroid yaitu dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran sel yang akhirnya dapat menyebabkan membran sel lisis (Liu dan Nes 2009).

Aktivitas antijamur fraksi *n*-heksana lebih besar dibandingkan ekstrak, hal ini disebabkan karena di dalam ekstrak masih terdapat zat-zat pengotor dan golongan senyawa-senyawa belum terpisahkan berdasarkan polaritasnya, sehingga belum mampu bekerja secara optimum dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231.

11.2. Hasil Pengujian metode dilusi. Uji aktivitas antijamur secara dilusi bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif yaitu fraksi *n*-heksana. Konsentrasi yang dibuat yaitu 40%; 20%; 10%; 5%; 2,5%; 1,25%; 0,63%; 0,32%; 0,16%, kontrol positif dan kontrol negatif. Kontrol positif yang digunakan adalah suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dan kontrol negatif yang digunakan adalah fraksi teraktif yaitu fraksi *n*-heksana.

Aktivitas antijamur diketahui dari kekeruhan masing-masing tabung uji yang kemudian digoreskan ke dalam media SGA. Konsentrasi Hambat Minimum dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih, akan tetapi pada saat uji dilusi hal ini sulit untuk diamati karena fraksi yang digunakan berwarna gelap dan pekat sehingga mempersulit pengamatan. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan dengan cara masing-masing tabung larutan uji dilakukan penggoresan pada media SGA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil uji dikatakan positif (+) apabila pada konsentrasi tersebut masih terlihat adanya pertumbuhan jamur, sedangkan dikatakan negatif (-) apabila pada konsentrasi tersebut sudah tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur, konsentrasi tersebutlah yang disebut Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil pengujian aktivitas antijamur secara dilusi dapat dilihat pada tabel 10. Gambar hasil uji dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 10. Hasil pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum secara dilusi

Konsentrasi (%)	Fraksi <i>n</i> -heksana		
	Replikasi		
	I	II	III
40	-	-	-
20	-	-	-
10	-	-	-
5	-	-	-
2,5	+	+	+
1,25	+	+	+
0,63	+	+	+
0,32	+	+	+
0,16	+	+	+
K (+)	+	+	+
K (-)	-	-	-

Keterangan: (-) : tidak ada pertumbuhan jamur

(+) : ada pertumbuhan jamur

K (+): suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

K (-) : fraksi *n*-heksana konsentrasi 40%

Berdasarkan tabel diatas diketahui fraksi *n*-heksana pada konsentrasi 2,5% masih terlihat adanya pertumbuhan jamur, konsentrasi 5%, 10%, 20% dan 40% tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur. Hasil tersebut sama setelah dilakukan replikasi atau pengujian sebanyak 3 kali, sehingga dapat disimpulkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi *n*-heksana daun pletekan adalah 5%.

12. Identifikasi fraksi paling aktif secara Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi kandungan kimia bertujuan untuk menetapkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat pada fraksi teraktif. Identifikasi kandungan kimia dengan uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) hanya dilakukan pada fraksi *n*-heksana karena berdasarkan hasil uji difusi fraksi ini mempunyai aktivitas antijamur paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Identifikasi dilakukan menggunakan fase gerak dan penampak bercak yang sesuai dengan senyawa yang diuji.

12.1. Identifikasi flavonoid. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa flavonoid dengan quersetin sebagai baku pembanding, di deteksi pada sinar UV 254 nm akan memberikan peredaman, pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi kuning, biru atau ungu dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak kuning kecoklatan setelah disemprot dengan pereaksi sitroborat (Harborne 2006).

Tabel 11. Hasil identifikasi flavonoid dengan kromatografi lapis tipis

Identifikasi Flavonoid	Rf	Hasil			Keterangan
		UV 254	UV 366	Sinar tampak (Pereaksi Sitoborat)	
Ekstrak	0,34 0,48 0,62 0,78	Peredaman	Berfluoresensi	Kuning kecoklatan	
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,42 0,5 0,68	Peredaman	Berfluoresensi	Kuning kecoklatan	Negatif
Baku Querstin	0,34	Peredaman	Berfluoresensi	Kuning kecoklatan	

Nilai Rf fraksi *n*-heksana senyawa flavonoid sebesar 0,42, 0,5 dan 0,68, dan nilai Rf baku quersetin sebesar 0,34. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi *n*-heksana negatif mengandung senyawa flavonoid karena fraksi *n*-heksana tidak memiliki nilai Rf yang sama dengan bakunya yaitu quersetin. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid dapat dilihat pada lampiran 18.

12.2. Identifikasi tanin. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa tanin dengan asam galat sebagai baku pembanding, di deteksi pada sinar UV 254 nm berwarna hijau gelap dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan warna ungu kehitaman dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak hitam (Harborne 2006).

Tabel 12. Hasil identifikasi tanin dengan kromatografi lapis tipis

Identifikasi Tanin	Rf	Hasil			Keterangan
		UV 254	UV 366	Sinar tampak (Pereaksi FeCl ₃)	
Ekstrak	0,4 0,96 0,98	Peredaman	ungu kehitaman	Hitam	
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,98	Peredaman	Merah	Kuning kecoklatan	Negatif
Baku asam galat	0,96	Peredaman	Ungu Kehitaman	Hitam	

Nilai Rf fraksi *n*-heksana senyawa tanin sebesar 0,98 dan nilai Rf baku asam galat sebesar 0,96. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa

fraksi *n*-heksana negatif mengandung senyawa tanin, karena fraksi *n*-heksana tidak memiliki nilai Rf yang sama dengan bakunya yaitu asam galat. Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dapat dilihat pada lampiran 18.

12.3. Identifikasi steroid. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa steroid dengan stigmasterol sebagai baku pembanding, di deteksi pada sinar UV 254 nm memberikan peredaman dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna merah ungu atau ungu (Harborne 2006)

Tabel 13. Hasil identifikasi steroid dengan kromatografi lapis tipis

Identifikasi Steroid	Rf	Hasil			Keterangan
		UV 254	UV 366	Sinar tampak (Pereaksi Lieberman bouchard)	
Ekstrak	0,34	Peredaman	Berfluoresensi	kuning	
	0,4				
	0,46				
	0,62				
	0,66				
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,32	Peredaman	Berfluoresensi	kuning	Positif
	0,4				
	0,48				
	0,62				
	0,64				
Baku stigmasterol	0,8	Peredaman	Berfluoresensi	kuning	

Nilai Rf fraksi *n*-heksana senyawa steroid sebesar 0,32, 0,4, 0,48, 0,62, 0,64, dan 0,8 sedangkan nilai Rf baku stigmasterol sebesar 0,8. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi *n*-heksana positif mengandung senyawa steroid, karena fraksi *n*-heksana memiliki nilai Rf yang sama dengan bakunya yaitu stigmasterol. Hasil identifikasi golongan senyawa steroid dapat dilihat pada lampiran 18.

12.4. Identifikasi triterpenoid. Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa triterpenoid dilakukan tanpa baku pembanding, hasil identifikasi ditentukan dengan cara melihat warna yang terbentuk setelah lempeng di semprotkan dengan pereaksi *Lieberman Bourchardat*. Hasil pada sinar UV 366

nm menunjukkan fluoresensi dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak biru atau ungu (Harborne 2006).

Tabel 14. Hasil identifikasi triterpenoid dengan kromatografi lapis tipis

Identifikasi Triterpenoid	Rf	Hasil			Keterangan
		UV 254	UV 366	Sinar tampak (Pereaksi Lieberman bouchard)	
Ekstrak	0,26	Peredaman	Berfluoresensi	biru keunguan	
	0,32				
	0,4				
	0,5				
Fraksi <i>n</i> -heksana	0,3	Peredaman	Berfluoresensi	biru keunguan	Positif
	0,4				
	0,44				
	0,26				
Fraksi etil asetat	0,36	Peredaman	Berfluoresensi	biru keunguan	
	0,4				
	1				

Nilai Rf fraksi *n*-heksana senyawa triterpenoid sebesar 0,3, 0,4, 0,44, dan 0,26. Nilai Rf ekstrak sebesar 0,26, 0,32, 0,4 dan 0,5, sedangkan nilai Rf etil asetat sebesar 0,36, 0,4 dan 1. Berdasarkan hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa fraksi *n*-heksana positif mengandung senyawa triterpenoid, karena pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak biru keunguan. Hasil identifikasi golongan senyawa triterpenoid dapat dilihat pada lampiran 18.

Hasil identifikasi golongan senyawa terhadap fraksi teraktif secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT) menunjukkan bahwa golongan senyawa kimia yang terkandung dalam fraksi teraktif adalah triterpenoid dan steroid. Senyawa yang termasuk golongan triterpenoid/steroid yaitu lupeol, 21-methyl dammar-22-en-3 β , 18, 27-triol, stigmasterol dan sitosterol. Mekanisme kerjanya dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran sel jamur yang akhirnya dapat menyebabkan membran sel lisis (Liu dan Nes 2009).

