

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Alamanda

1. Klasifikasi tanaman alamanda



Gambar 1. Tanaman alamanda (Amin *et al.* 2016).

Menurut (Heyne 1987) tanaman alamanda memiliki sistematika tanaman alamanda sebagai berikut :

- Kerajaan : Plantae
- Devisi : Spermatophyta
- Sub devisi : Angiospermae
- Kelas : Dicotyledonae
- Bangsa : Apocynales
- Suku : Apocynaceae
- Marga : Allamanda
- Jenis : *Allamanda cathartica* L.

2. Nama daerah tanaman alamanda

Melayu : bunga akar kuning (Hidayat 2015). Sunda : lame areuy, Jawa : alamanda (Dalimarta 2008).

3. Morfologi tanaman alamanda

Tanaman alamanda memiliki habitus perdu, tinggi 4-5 m. Batang berkayu, bulat, berbaring, berbuku-buku, tiap buku terdapat daun yang melingkar, empat sampai lima helai, bergetah, percabangan monopodial, cabang muda hijau, atas

ungu, putih kehijauan. Daun tunggal, lonjong, tepi rata melipat ke bawah, ujung dan pangkal meruncing, panjang 5-16 cm, lebar 2,5-5 cm, tebal, pertulangan menyirip, hijau. Bunga majemuk, bentuk tandan, berkelamin dua, di ujung cabang dan ketiak daun, tangkai silindris, pendek, hijau, kelopak bentuk lanset, permukaan halus, hijau, benang sari tertancap pada mahkota, mahkota merseling pada lekukan, tangkai putik silindris, kelapa putik bercangap dua, berwarna kuning, mahkota bentuk terompet atau corong, permukaan rata, kuning. Buah kotak, bulat, berdiameter $\pm 1,5$ cm. Biji bentuk segitiga, masih muda hijau keputih-putihan setelah tua hitam, akar tunggang, berwarna putih kotor (Heyne 1987).

4. Kegunaan tanaman alamanda

Alamanda diketahui banyak spesies, diantaranya *A. cathartica*, *A. schotii*, *A. hendersoni*, *A. blancheti*, dan *A. neriifolia* (Heyne 1987). Tanaman alamanda yang sering dijumpai sebagai tanaman penghias pagar, sebenarnya merupakan salah satu tanaman obat. Tanaman alamanda secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat. Daun alamanda dapat digunakan sebagai penawar racun, obat liver, obat pencahar, dan obat batuk (Hidayat 2011). Daun alamanda juga dapat digunakan untuk mengobati demam (Vibrianthi 2011). Batang tanaman alamanda memiliki fungsi biologis sebagai inhibitor tirosinase (Yamauchi *et al.* 2010). Ekstrak akar tanaman alamanda diketahui berfungsi untuk hipotensi, antileukemia, dan juga digunakan sebagai penawar racun untuk gigitan ular (Ghani 1998). Ekstrak petroleum eter, metanol dan air bunga alamanda dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* (Fartyal 2016).

5. Kandungan senyawa kimia bunga alamanda

5.1. Tanin. Tanin merupakan senyawa yang bersifat fenol yang mempunyai rasa sepat dan mempunyai kemampuan menyamak kulit. Tanin secara kimia merupakan zat kompleks, biasanya terdapat sebagai campuran polifenol yang sukar dipisahkan karena tidak dapat dikristalkan. Tanin terhidrolisis menjadi senyawa amorf, higroskopis, bewarna coklat kuning. Tanin adalah senyawa yang larut air, tidak larut dalam pelarut organik non polar. Asam galat merupakan senyawa golongan tanin yang terkandung dalam bunga alamanda (Vera 2019). Mekanisme kerja tanin sebagai antijamur dengan cara menghambat biosintesis

ergosterol yang merupakan sterol utama pengusuh membran sel jamur. Sterol merupakan struktur sekaligus komponen regulator yang terdapat pada membran sel eukariotik dan diduga berperan dalam permeabilitas membran sel jamur (Hong *et al.* 2011).

5.2. Saponin. Saponin merupakan metabolit sekunder yang ada pada tanaman, saponin disimpan dalam sel-sel tanaman, dapat menimbulkan busa jika dikocok dalam air dan pada konsentrasi yang rendah sering menyebabkan hemolisis sel darah merah dan beberapa saponin bekerja sebagai antimikroba. Penyarian saponin ini akan memberikan hasil yang lebih baik sebagai antijamur jika menggunakan pelarut polar (Harborne 2006). Mekanisme kerja saponin sebagai antijamur adalah dengan membentuk kompleks dengan sterol dalam membran sel, sehingga menyebabkan pori-pori kehilangan integritas dan terjadi kebocoran sel yang mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Mert 2006).

5.3. Flavonoid. Golongan flavonoid digambarkan sebagai deretan senyawa C₆-C₃-C₆ artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C₆ (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga-karbon. Sifat fisika dan kimia flavonoid antara lain larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter, sebagai glikosida dan aglikon senyawa flavonoid tidak larut dalam petroleum eter sehingga glikosida hanya dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Heinrich *et al.* 2005). Bunga alamanda mengandung beberapa senyawa golongan flavonoid yaitu kuersetin, rutin dan epikatekin (Vera 2019). Mekanisme flavonoid adalah dengan mendenaturasi protein sel dan merusak sel dengan melisiskan dinding sel jamur karena flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran yang menyebabkan perubahan permeabilitas sel dan hilangnya kandungan isi sel dalam sitoplasma (Filho *et al.* 2016).

5.4. Triterpenoid/steroid. Terpenoid terdiri atas beberapa macam senyawa mulai dari komponen minyak atsiri yaitu monoterpen dan seskuiterpen yang mudah menguap, diterpena yang lebih sukar menguap serta senyawa yang tidak menguap yaitu triterpenoid dan sterol serta pigmen karotenoid. Triterpenoid merupakan senyawa kerangka karbon dari enam satuan isoprene dan secara

biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik yaitu skualena. Umumnya triterpenoid larut dalam lemak dan berada di dalam sitoplasma sel tumbuhan. Bunga alamanda mengandung beberapa senyawa golongan karotenoid yaitu β -caroten, zeaxhantin, dan lutein (Vera 2019).

Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur (Natta *et al.* 2008). Steroid dapat berfungsi sebagai antijamur karena sifat lipofilik yang dimiliki oleh steroid dapat menghambat perkecambahan spora dan perbanyakan miselium pada jamur (Subhisha 2005).

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan yang belum mengalami perubahan apapun kecuali bahan alam yang dikeringkan. Simplisia dapat berupa simplisia nabati, hewani dan pelikan atau mineral. Simplisia nabati dapat berupa tanaman utuh, bagian dari tanaman seperti akar, batang, daun dan sebagainya, atau eksudat tanaman yaitu isi sel yang secara spontan dikeluarkan dari tanaman atau dengan cara tertentu dipisahkan dari tanaman. Simplisia hewani yaitu simplisia yang dapat berupa hewan utuh, bagian dari hewan atau zat berguna yang dihasilkan hewan, tetapi bukan berupa zat kimia murni. Simplisia pelikan atau mineral yaitu simplisia yang berupa bahan pelikan atau mineral belum diolah atau telah diolah secara sederhana, akan tetapi belum atau bukan berupa zat kimia murni (Agoes 2009).

2. Pengeringan simplisia

Tujuan pengeringan simplisia adalah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri. Pengeringan bahan simplisia dapat dilakukan dengan dua cara yaitu, pengeringan dibawah sinar matahari dan pengeringan teduh, kelemahan pengeringan dibawah sinar matahari adalah membutuhkan suhu dan kelembaban yang tidak terkontrol, membutuhkan tempat yang luas dan terbuka sehingga kemungkinan terjadi kontaminasi mikroba

lebih besar. Pengeringan ditempat teduh biasanya digunakan untuk bahan baku simplisia yang kandungan utamanya minyak atsiri atau senyawa lain yang sifatnya termolabil (Depkes 2008).

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pemisahan bahan dari campurannya dengan menggunakan pelarut. Jadi, ekstrak adalah sediaan yang diperoleh dengan cara ekstraksi tanaman obat dengan ukuran partikel tertentu dan menggunakan medium pengestraksi (*menstruum*) yang tertentu pula (Agoes 2009).

2. Metode ekstraksi

2.1. Maserasi. Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang artinya mengairi, melunakkan, merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan jamu yang dihaluskan sesuai dengan farmakope (umumnya terpotong-potong atau diserbuk kasar) disatukan dengan bahan ekstraksi. Rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Maserasi umumnya 5 hari, setelah 5 hari keseimbangan bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai, sehingga sudah tidak akan bertambah komponen yang diserap (List 2000). Metode maserasi menurut Kemenkes (2013) menggunakan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1 bagian simplisia dala 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil diaduk sesekali, diamkan selama 18 jam. Proses penyarian diulang sebanyak satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut separuhnya dari pelarut awal.

2.2. Fraksinasi. Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu 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 non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne 2006). Pada fraksinasi digunakan ekstraksi cair-cair,

bersifat sederhana, bersih, cepat, dan mudah. Ekstraksi cair-cair merupakan suatu teknik dimana suatu larutan dibuat bersentuhan dengan satu pelarut kedua (biasanya organik) yang pada hakekatnya tidak tercampur dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (*Solute*) ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dapat dilakukan dengan penggojokan dalam sebuah corong pemisah selama beberapa menit (Basset *et al.* 1994).

3. Pelarut

Pelarut yang digunakan adalah suatu zat untuk melarutkan suatu zat farmasi lain atau suatu obat dalam preparat larutan. Sistematika penyarian yang digunakan dalam ekstraksi harus dipilih berdasarkan kemampuan dalam melarutkan jumlah yang maksimal dari zat aktif dan seminimal mungkin bagian unsur yang tidak diinginkan (Ansel 1989). Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan beberapa faktor, cairan penyari harus memenuhi kriteria murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika dan kimia, netral dan tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Depkes 2008).

3.1. Petroleum eter. Petroleum eter adalah pelarut non polar yang merupakan campuran hidrokarbon cair yang bersifat mudah menguap. Petroleum eter disini akan melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar pada selubung sel dan dinding sel seperti lemak-lemak, terpenoid, klorofil dan steroid (Oktavia 2009).

3.2. Kloroform. Kloroform adalah triklorometana, mengandung etanol 1,0% v/v sampai 2,0% v/v sebagai zat penstabil. Kloroform berupa cairan mudah menguap, tidak berwarna, bau khas, rasa manis dan membakar. Larut dalam kurang lebih 200 bagian air, mudah larut dalam etanol mutlak P, dalam eter P, dalam sebagian besar pelarut organik, dalam minyak atsiri, dan dalam minyak lemak. Bobot per mililiter 1,474 gram sampai 1,479 gram. Jarak didih tidak lebih dari 5,0% v/v tersuling pada suhu dibawah 60°C. Sisa tersuling pada suhu antara 60°C dan 62°C (Depkes 1979). Kloroform dapat digunakan sebagai pelarut untuk lemak, antrakuinon, alkaloid, flavonoid, dan resin (Willson dan Gisvold 1982).

3.3. Etanol. Etanol merupakan pelarut serba guna untuk ekstraksi pendahuluan. Ekstraksi senyawa fenol tumbuhan dengan etanol mendidih biasanya

mencegah terjadinya oksidasi enzim (Harborne 2006). Etanol dapat melarutkan alkaloid, glikosida, antrakuinon, flavonoid, steroid, klorofil, lemak, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Tiwari *et al.* 2011).

3.4. Air. Air digunakan sebagai pelarut karena stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun dan alamiah. Air melarutkan enzim sehingga yang terlarut dengan air akan terjadi reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi dengan adanya air maka akan mempercepat proses hidrolisis. Air dapat melarutkan glikosida, saponin, dan tanin (Tiwari *et al.* 2011).

D. KLT

Kromatografi lapis tipis merupakan cara pemisahan senyawa dari campuran senyawa lain agar menjadi senyawa murninya. Tujuan KLT umumnya digunakan untuk tujuan identifikasi, karena mudah dan sederhana serta memberikan pilihan fase diam yang lebih luas dan berguna untuk pemisahan masing-masing senyawa secara kuantitatif dari suatu campuran (Kemenkes 2011).

Kelebihan KLT adalah keserbagunaan, kecepatan, dan kepekaan. Keserbagunaan KLT adalah bahwa selain selulosa, sejumlah penyerap lain dapat disapukan dengan pelat kaca atau penyangga lain, meskipun silika gel yang paling banyak digunakan, kecepatan KLT dipengaruhi oleh sifat penyerap yang lebih padat bila disapukan pada pelat. Kekurangan KLT adalah kerja penyapukan pelat kaca dengan penyerap, bubuk silika gel yang harus dikocok kuat-kuat tiap jangka waktu tertentu, pengeringan pada suhu kamar dan pengkatifan dengan pemanasan pada suhu 100-110°C selama 30 menit (Harborne 2006).

Letak bercak dapat ditetapkan dengan pengamatan langsung jika senyawa tampak pada cahaya tampak, sinar ultraviolet dengan panjang gelombang 254 nm atau panjang gelombang 366 nm, dan pengamatan dengan cahaya tampak atau dengan sinar ultraviolet setelah lempeng KLT disemprot larutan penampak bercak (Kemenkes 2011). Daftar pereaksi semprot dapat dilihat pada tabel 1.

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

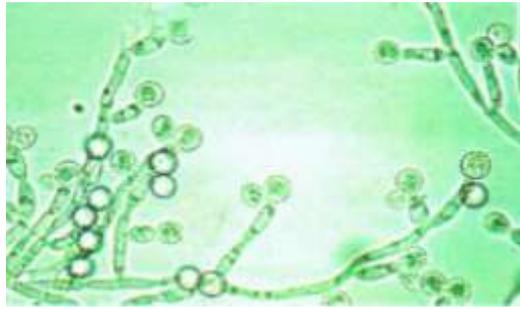
No	Pereaksi Semprot	Keterangan Senyawa
1	<i>Vanilin / Sulfuric acid</i>	Merupakan pereaksi universal, salah satunya dapat digunakan untuk senyawa terpen dengan memberi warna merah dan biru.
2	<i>Phosphomolybdic acid (PMA)</i>	Terpen memberi warna biru pada latar belakang kuning.
3	<i>Ammonium molybdate (VI)</i>	Merupakan pereaksi universal, salah satunya dapat digunakan untuk senyawa diterpen dengan memberi warna biru
4	<i>Antimony (III) chloride</i>	Diterpen dan triterpen memberi warna merah kebiruan
5	<i>Tin (IV) chloride</i>	Flavonoid dan terpen
6	<i>Dragendorff's</i>	Alkaloid tetapi juga dapat digunakan untuk non alkaloid seperti iridoids dan beberapa flavonoid
7	<i>2,4 Dinitro-phenyl-hydrazine</i>	Aldehid dan keton memberi warna kuning kemerahan
8	<i>Perchloric acid</i>	Merupakan pereaksi universal, tetapi biasanya digunakan untuk senyawa steroid dan triterpen
9	<i>Borntrager</i>	Kumarin dan antrakuinon
10	<i>Ninhydrin</i>	Asam amino, amin, dan alkaloid. Alkaloid berwarna merah

E. Sterilisasi

Bahan atau peralatan yang digunakan dalam suatu bidang mikrobiologi harus dalam keadaan steril. Steril artinya tidak didapatkan mikroba yang tidak diharapkan kehadirannya, baik yang merusak media atau mengganggu dalam proses yang sedang dikerjakan (Waluyo 2005). Sterilisasi merupakan suatu tindakan untuk membebaskan alat dan media dari mikroba. Cara sterilisasi secara fisik yaitu dengan pemanasan dan penyinaran, sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan kertas saringan atau filter untuk bahan yang akibat pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmandi 2008).

F. *Candida albicans*

1. Sistematika *Candida albicans*



Gambar 2. *Candida albicans* (McGinnis 1989).

Sistematika *Candida albicans* adalah sebagai berikut :

- Devisi : Thallophyta
- Anak devisi : Fungi
- Kelas : Ascomycetes
- Bangsa : Cryptococcales
- Suku : Cryptococcaceae
- Anak suku : Candidoidae
- Marga : *Candida*
- Jenis : *Candida albicans* (Jawetz *et al.* 2007).

2. Morfologi

Sel *Candida albicans* ATCC 10231 berbentuk oval, berukuran 3-6 x 4-8 μm , bertunas, sebagian besar tunggal dan jarang berkumpul, sel akan memanjang dan berbentuk seperti pseudohifa dengan rantai bercabang. *Candida albicans* bersifat dimorfik selain membentuk pseudohifa, spesies ini juga menghasilkan hifa sejati. Biakan *Candida albicans* ATCC 10231 yang ditanam pada medium SGA dan diinkubasi selama 2 hari pada suhu 25°C akan menghasilkan koloni berwarna krem, lunak dan lembut. Kondisi pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 adalah pada suhu 24-26°C dalam suasana aerob (ATCC 2019).

3. Fisiologi

Jamur membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhan dan proses metabolismenya, unsur karbon ini dapat diperoleh dari karbohidrat. Jamur tumbuh baik pada kondisi lingkungan yang banyak mengandung gula dengan tekanan osmotik tinggi dan dalam kondisi asam pada pH antara 4,5-6,5. Jamur *Candida albicans* merupakan organisme anaerob

fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana aerob maupun anaerob (ATCC 2019).

4. Patogenesis

Proses infeksi yang dilakukan oleh *Candida albicans* dimulai dengan perlekatan pada sel epitel. Kemampuan perlekatan yang dimiliki *Candida albicans* diikuti dengan proses sekresi enzim proteolitik yang menyebabkan kerusakan pada ikatan protein sel penjamu sehingga memudahkan *Candida albicans* untuk melakukan invasi. Hasil kolonisasi dari *Candida albicans* memudahkan proses invasi tersebut sehingga menimbulkan gejala pada pejamu. Gejala yang mudah diamati ini biasanya berupa bercak keputih-putihan atau abu-abu keputihan-putihan dengan tampilan seperti dadih. *Candida albicans* juga mengeluarkan mikotoksin yang mampu menghambat aktivitas fagositosis dan menekan sistem imun. Jamur jenis ini sering tampak pada seseorang dengan sistem imun tidak normal, namun lebih sering ditemukan pada pasien diabetes, AIDS, dan wanita hamil (Irianto 2013).

G. Antijamur

1. Pengertian

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

2. Mekanisme antijamur

Mekanisme antijamur merupakan peristiwa penghambatan jamur oleh suatu antijamur. Aktivitas antimikroba diukur secara *in vitro* untuk menentukan potensi agen antimikroba dalam larutan, konsentrasinya dalam cairan tubuh atau jaringan dan kepekaan mikroorganisme penyebab terhadap obat yang diketahui. Metode difusi dan dilusi merupakan metode yang dapat menentukan kepekaan jamur terhadap antijamur (Jawetz *et al.* 2007).

Zat antijamur bekerja dengan beberapa mekanisme gangguan pada membran sel, penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur, penghambatan sintesis asam nukleat dan protein jamur, dan penghambatan mitosis jamur. Kerusakan pada salah satu situs ini dapat mewakili terjadinya perubahan-perubahan yang menuju pada matinya sel jamur tersebut (Siswandono dan Soekardjo 2000).

2.1. Gangguan pada membran sel. Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur ini adalah komponen sterol yang sangat penting, mudah diserang oleh antimikroba turunan polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk satu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino, dan eter fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Contoh antijamur dengan mekanisme tersebut adalah Nistatin dan Amfoterisin B.

2.2. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur. Mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan Imidazol karena mampu menimbulkan ketidakteraturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik, sehingga menghambat pertumbuhan atau menimbulkan kematian sel jamur. Contoh antijamur dengan mekanisme tersebut adalah Ketokonazol, Flukonazole dan Mikonazole.

2.3. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein pada jamur. Mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel menjadi suatu antimetabolit. Metabolit antagonis tersebut kemudian bergabung dengan asam ribonukleat dan kemudian menghambat sintesis asam nukleat dan protein jamur. Contoh antijamur dengan mekanisme tersebut adalah Flusitosin

2.4. Penghambatan mitosis jamur. Efek antijamur ini terjadi karena adanya senyawa antimikroba yang mampu mengikat protein mikrotubulin dalam sel, kemudian merusak struktur *Spindle mitotic* dan menghentikan metastase

pembelahan sel jamur. Contoh antijamur dengan mekanisme tersebut adalah Griseofulvin (Siswandono dan Soekardjo 2000).

H. Metode Pengujian Aktivitas Antijamur

1. Metode difusi

Metode *disc diffusion* untuk menentukan aktivitas antimikroba. Sediaan yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Daerah yang jernih menandakan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar dan daerah yang keruh menandakan tidak mampu menghambat pertumbuhan mikroba (Pratiwi 2008). Cara yang dipakai dalam penelitian ini adalah dengan diambil beberapa koloni jamur pada media agar, disuspensikan ke dalam 10 ml SGC, diinkubasi 1-2 hari pada suhu 37°C. Suspensi ditambahkan dengan SGC sampai kekeruhan tertentu. Jarum ose steril dicelupkan ke dalam suspensi jamur, kemudian dioleskan pada permukaan media agar sampai merata. Media agar diberi kertas cakram dengan garis tengah sebagai penentu, kemudian diinkubasi dengan suhu 37°C selama 2 hari (Jawetz *et al.* 2010).

2. Metode dilusi

Metode dilusi ini berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan, dengan metode dilusi dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasi terhadap mikroba uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan mikroorganisme (Jawetz *et al.* 2010).

I. Media

Media pertumbuhan jamur merupakan bahan yang terdiri dari zat-zat kimia organik dan anorganik yang telah melalui proses pengolahan yang dapat digunakan

untuk mengisolasi, mengidentifikasi maupun mengkultur biakan murni suatu jamur. Media yang digunakan harus memenuhi syarat-syarat yaitu mengandung unsur-unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan jamur, mempunyai tekanan osmosis, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan jamur. Sterilisasi media dilakukan agar media tidak ditumbuhi oleh mikroba lain yang tidak diharapkan dan tidak bersifat toksik. Macam media biakan yang digunakan adalah media padat dan cair (Suriawiria 2005).

Sabouraud Glucose Agar (SGA) merupakan media padat dan *Sabouraud Glucose Cair* (SGC) merupakan media cair yang digunakan untuk media pertumbuhan *Candida albicans*, pada media ini pepton adalah sumber nitrogen untuk pertumbuhan dan glukosa sebagai penyedia karbon untuk sumber energi. Konsentrasi glukosa yang tinggi dan pH yang relatif rendah merupakan kondisi yang menguntungkan untuk pertumbuhan jamur sedangkan bakteri tidak tumbuh pada kondisi tersebut sehingga dapat mengurangi kontaminasi dari bakteri (Pratiwi 2008).

J. Flukonazole

Antijamur sintetik azol menghambat biosintesis lipid pada jamur, terutama ergosterol pada membran sel. Efek ini diakibatkan oleh penghambatan pada 14α-dimetilasi yang membutuhkan P450 dari lanosterol jamur. Interaksi azol dimetilase C14 dalam sel jamur juga menyokong efek toksisitas utama azol pada sel mamalia, secara klinis fluconazol 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 dimanfaatkan untuk mengurangi produksi hormon steroid pada sindrom *Cushing* (Gunawan 2007).

K. Landasan Teori

Kandidiasis merupakan infeksi jamur yang disebabkan oleh jamur genus *Candida*, spesies terbanyak penyebab kandidiasis adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan flora normal yang hidup dirongga mulut, saluran

pencernaan, dan vagina. Flora normal bersifat komensal namun apabila adanya perubahan fisiologis pada tubuh pejamu atau pertahanan tubuh menurun, maka keseimbangan flora normal akan terganggu dan mengakibatkan perubahan sifat *Candida albicans* menjadi patogen (Hakim 2015).

Tanaman alamanda (*Allamanda cathartica* L.) yang sering dijumpai sebagai tanaman penghias pagar, sebenarnya merupakan salah satu tanaman obat. Tanaman alamanda (*Allamanda cathartica* L.) secara tradisional telah digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat. Daun dan bunga alamanda diketahui memiliki aktivitas antimikroba (Fartyal dan Padma 2016). Daun alamanda dapat digunakan sebagai penawar racun, obat liver, obat pencahar, dan obat batuk (Hidayat 2011). Daun alamanda juga dapat digunakan untuk mengobati demam (Vibrianthi 2011). Batang tanaman alamanda memiliki fungsi biologis sebagai inhibitor tirosinase (Yamauchi *et al.* 2010). Ekstrak akar tanaman alamanda diketahui berfungsi untuk hipotensi, antileukemia, dan juga digunakan sebagai penawar racun untuk gigitan ular (Ghani 1998). Bunga alamanda diketahui memiliki fungsi medis, salah satunya dapat dipakai sebagai laksatif (Nayak *et al.* 2006).

Bunga alamanda mengandung beberapa senyawa kimia yaitu flavonoid, tanin, saponin, terpenoid dan steroid (Joselin *et al.* 2012). Mekanisme kerja tanin sebagai antijamur dengan cara menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama pengusuh membran sel jamur. Sterol merupakan struktur sekaligus komponen regulator yang terdapat pada membran sel eukariotik dan diduga berperan dalam permeabilitas membran sel jamur (Hong *et al.* 2011). Mekanisme kerja saponin sebagai antijamur adalah dengan membentuk kompleks dengan sterol dalam membran sel, sehingga menyebabkan pori-pori kehilangan integritas dan terjadi kebocoran sel yang mengakibatkan senyawa intraseluler akan keluar (Mert 2006). Mekanisme flavonoid adalah dengan mendenaturasi protein sel dan merusak sel dengan melisiskan dinding sel jamur karena flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran yang menyebabkan perubahan permeabilitas sel dan hilangnya kandungan isi sel dalam sitoplasma (Filho *et al.* 2016). Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antijamur. Senyawa ini dapat menghambat

pertumbuhan jamur, baik melalui membran sitoplasma maupun mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora jamur (Natta *et al.* 2008). Steroid dapat berfungsi sebagai antijamur karena sifat lipofilik yang dimiliki oleh steroid dapat menghambat perkecambahan spora dan perbanyak miselium pada jamur (Subhisha 2005).

Maserasi berasal dari bahasa latin *macerare* yang artinya mengairi, melunakkan, merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan jamu yang dihaluskan sesuai dengan farmakope (umumnya terpotong-potong atau diserbuk kasar) disatukan dengan bahan ekstraksi. Rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari (List 2000). Metode maserasi menggunakan perbandingan simplisia dan pelarut sebesar 1 bagian simplisia dalam 10 bagian pelarut. Rendam selama 6 jam pertama sambil diaduk sesekali, diamkan selama 18 jam. Proses penyarian diulang sebanyak satu kali dengan jenis dan jumlah pelarut separuhnya dari pelarut awal (Kemenkes 2013).

Fraksinasi adalah suatu cara untuk memisahkan suatu 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 non polar akan masuk ke pelarut non polar (Harborne 2006).

Pelarut yang digunakan pada maserasi adalah etanol 70%. Etanol dapat melarutkan alkaloid, glikosida, antrakuinon, flavonoid, steroid, klorofil, lemak, tanin, dan saponin hanya sedikit larut. Zat pengganggu yang larut dalam etanol hanya terbatas (Tiwari *et al.* 2011). Pelarut yang digunakan untuk fraksinasi ekstrak etanol bunga alamanda berturut-turut adalah petroleum eter, kloroform dan air. Petroleum eter disini akan melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat non polar pada selubung sel dan dinding sel seperti lemak-lemak, terpenoid, klorofil dan steroid (Oktavia 2009). Kloroform bersifat semipolar dapat digunakan sebagai pelarut untuk lemak, antrakuinon, alkaloid, flavonoid, dan resin (Willson dan

Gisvold 1982). Air dapat melarutkan glikosida, saponin, dan tanin (Tiwari *et al.* 2011).

Penelitian Fartyal (2016) tentang pengujian aktivitas antijamur terhadap ekstrak bunga alamanda dengan berbagai pelarut diantaranya adalah petroleum eter, metanol dan air. Hasil menunjukkan pada konsentrasi 1% dari ketiga ekstrak tersebut yang memiliki aktivitas paling besar dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* adalah ekstrak air dengan diameter zona hambat sebesar 13 mm. Bunga alamanda mengandung pigmen kuning golongan karotenoid diantaranya adalah senyawa β -karoten, Zeaxanthin, dan lutein (Vera 2019). Senyawa β -karoten larut dalam pelarut nonpolar, sedangkan zeaxanthin dan lutein larut dalam pelarut polar (Irina *et al.* 2014). Lutein memiliki aktivitas penghambatan yang tinggi terhadap sejumlah bakteri dan jamur patogen (Consolacion 2001).

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas antijamur fraksi petroleum, kloroform, dan air dari ekstrak etanol bunga alamanda terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi cakram (*disc diffusion*) untuk menentukan aktivitas antimikroba. Sediaan yang berisi antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Daerah yang jernih menandakan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar dan daerah yang keruh menandakan tidak mampu menghambat pertumbuhan mikroba (Pratiwi 2008). Metode dilusi ini berdasarkan pengamatan kekeruhan larutan, dengan metode dilusi dapat ditentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasi terhadap mikroba uji, selanjutnya diinkubasi dan diamati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji. Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Jawetz *et al.* 2010).

L. Hipotesis

Berdasarkan permasalahan yang ada, maka dapat disimpulkan hipotesis dari penelitian ini yaitu :

Pertama, fraksi petroleum eter, fraksi kloroform, dan fraksi air dari ekstrak etanol bunga alamanda (*Allamanda cathartica* L.) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, ketiga fraksi dari ekstrak etanol bunga alamanda (*Allamanda cathartica* L.) tersebut yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 adalah fraksi air.

Ketiga, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi teraktif ekstrak bunga alamanda (*Allamanda cathartica* L.) sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dapat ditentukan.

