

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

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

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah dari tanaman adas yang diperoleh dari daerah desa Gebyog kecamatan Selo Boyolali, Jawa Tengah.

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

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah dari tanaman adas dengan bulir keras berwarna hijau tua atau hijau kecoklatan yang telah dikeringkan dan bebas dari hama yang diperoleh dari daerah desa Gebyog kecamatan Selo Boyolali, Jawa Tengah.

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

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

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari buah adas.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antifungi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari buah adas terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

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

Berdasarkan variabel utama yang telah ditetapkan dapat diklasifikasikan menjadi beberapa variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja diubah-ubah atau dibuat bervariasi dengan tujuan untuk dipelajari pengaruh variabel tersebut terhadap variabel tergantung. Variabel terkontrol adalah variabel yang dapat mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan kualitasnya agar hasil yang diperoleh valid dan dapat dilakukan oleh peneliti lain secara tepat

sehingga diperoleh hasil sama dan variabel tergantung adalah variabel yang merupakan titik persoalan yang menjadi kriteria dalam penelitian ini.

**2.1. Variabel bebas.** Variabel bebas dalam penelitian ini adalah variasi konsentrasi ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah adas dengan berbagai konsentrasi.

**2.2. Variabel terkendali.** Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah kemurnian jamur *Candida albicans* ATCC 10231, kondisi laboratorium, dan media yang digunakan dalam penelitian harus steril.

**2.3. Variabel tergantung.** Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 pada media uji SGA (*Sabouraud Glucose Agar*) yang dipengaruhi oleh fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak etanol buah adas dengan berbagai konsentrasi.

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

Pertama, buah adas adalah buah sehat dan bebas dari hama dengan bulir keras berwarna hijau tua atau hijau kecoklatan yang diperoleh dari Boyolali, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk buah adas adalah buah adas yang telah dipetik kemudian di cuci dengan air mengalir untuk menghilangkan hama dan kotoran, kemudian keringkan buah dengan cara diangin-anginkan dan diserbuk dengan mesin penggiling.

Ketiga, ekstrak etanol buah adas adalah hasil ekstraksi buah adas kering menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Hasil maserasi kemudian dipekatkan dengan vacuum evaporator hingga diperoleh ekstrak kental.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah hasil fraksinasi ekstrak etanol 70% buah adas dengan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut *n*-heksan sebagai pelarut nonpolar, kemudian dipekatkan dengan vacuum evaporator hingga diperoleh fraksi *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah fraksi yang diperoleh dari residu fraksi *n*-heksan dengan fraksinasi cair-cair menggunakan pelarut etil asetat sebagai pelarut semi polar, kemudian dipekatkan dengan vacuum evaporator hingga diperoleh fraksi etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah residu fraksi etil asetat kemudian dipisahkan dengan menguapkan residu dengan menggunakan *waterbath*.

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

Kedelapan, aktivitas antijamur adalah aktivitas antijamur yang ditentukan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi digunakan untuk mengukur diameter zona hambat yaitu zona bening yang terbentuk karena adanya penghambatan sediaan uji terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dari satu seri pengenceran dalam berbagai konsentrasi berikut 20 ; 10 ; 5 ; 2,5 ; 1,25 ; 0,6 ; 0,3 ; dan 0,15 %. KHM adalah Konsentrasi Hambat Minimum yang diperoleh dengan melihat kekeruhan pada tabung reaksi. KBM yaitu konsentrasi terkecil yang mampu membunuh pertumbuhan jamur yang ditandai dengan ada atau tidak adanya pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media padat SGA (*Sabouraud Glucose Agar*) hasil goresan yang berasal dari hasil dilusi cair. Kontrol negatif yang digunakan adalah antijamur flukonazole dan kontrol positif adalah suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mesin penggiling, timbangan analitik, mikroskop, botol maserasi, evaporator, plat KLT, detektor sinar UV 254 nm dan 366 nm, alat *sterling bidwell*, lampu spiritus, ose, cawan petri, tabung reaksi, tabung durham, rak tabung reaksi, corong pisah, corong kaca, cawan penguap, beaker glass, gelas ukur, pipet volume, pipet tetes, pinset, objek dan *deck glass*, batang pengaduk, *pi-pump*, kapas lidi, cakram *disk*, *vortex*, *waterbath*, inkas, inkubator, autoklaf, oven, flanel, kertas saring, kertas cakram, lempeng silika gel, *chamber*, alat penyemprot pereaksi KLT dan jangka sorong.

## 2. Bahan

**2.1. Bahan sampel.** Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah adas yang diperoleh dari desa Gebyog kecamatan Selo Boyolali, Jawa Tengah

**2.2. Bahan kimia.** Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 70%, *n*-heksan, etil asetat, aquadest, metanol, kloroform, toluen, larutan standar MC Farland 0,5, DMSO 5%, asam asetat anhidrat, asam sulfat pekat, asam klorida, serbuk magnesium, FeCl<sub>3</sub>, amil alkohol, bouchardat, mayer, dragendorff, *Lactophenol Cotton Blue* (LCB), fenol red 1%, amonia, dan anisaldehyd-asam sulfat.

**2.3. Bahan kontrol obat.** Bahan kontrol obat yang digunakan dalam penelitian ini adalah antijamur flukonazole.

**2.4. Jamur uji.** Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

**2.5. Media.** Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah media SGA (*Sabouraud Glucose Agar*), SGC (*Sabouraud Glucose Cair*), glukosa broth, laktosa broth, maltosa broth, dan sukrosa broth.

## D. Jalannya Penelitian

### 1. Determinasi tanaman

Langkah pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah melakukan determinasi tanaman adas. Determinasi tanaman bertujuan untuk memastikan kebenaran tanaman dengan membandingkan ciri-ciri morfologi secara makroskopi sampel tanaman adas terhadap literatur. Determinasi tanaman ini dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat Tradisional Tawangmangu (B2P2TOOT).

### 2. Pengambilan bahan

Buah adas yang diperoleh dari desa Gebyog kecamatan Selo Boyolali, Jawa Tengah. Buah adas dipilih secara acak dengan bulir keras berwarna hijau tua atau hijau kecoklatan.

### **3. Pembuatan serbuk**

Buah adas yang dikumpulkan kemudian dicuci bersih sehingga bebas dari kotoran. Buah adas kemudian dikeringkan dengan cara dikering anginkan dan dihaluskan dengan menggunakan mesin penggiling.

### **4. Pembuatan ekstrak etanol buah adas**

Dimasukkan 800 gram serbuk kering buah adas ke dalam maserator, kemudian ditambahkan 8 liter etanol 70%. Serbuk direndam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara pengendapan. Proses penyarian diulang satu kali kali dengan menggunakan 4 liter etanol 70%. Semua maserat dikumpulkan, kemudian pelarut diuapkan dengan menggunakan vakum evaporator sehingga diperoleh ekstrak kental (Depkes 2013).

### **5. Uji bebas etanol ekstrak buah adas**

Uji bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi etanol, ekstrak ditambahkan asam asetat dan asam sulfat pekat kemudian dipanaskan. Ekstrak dinyatakan bebas etanol jika tidak tercium bau ester.

### **6. Pembuatan fraksi dari ekstrak etanol buah adas**

Ekstrak etanol buah adas ditimbang sebanyak 10 gram, kemudian dilarutkan dalam air sebanyak 75 ml dan dilakukan ekstraksi cair-cair dalam corong pisah dengan pengulangan sebanyak 3 kali menggunakan *n*-heksan sebanyak 75 ml pada masing-masing pengulangan untuk kemudian dipisahkan dari fase air sehingga diperoleh fraksi *n*-heksan. Hasil fraksinasi dipekatkan dengan menggunakan evaporator pada suhu 40°C kemudian hasil ditimbang sebagai fraksi *n*-heksan.

Residu air dari fraksinasi *n*-heksan dimasukkan dalam corong pisah untuk dilakukan ekstraksi cair-cair menggunakan 75 ml etil asetat dengan pengulangan sebanyak 3 kali dan fase air dipisahkan sehingga diperoleh fraksi etil asetat. Hasil fraksinasi dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C kemudian hasil ditimbang sebagai fraksi etil asetat.

Residu yang diperoleh dari fraksi etil asetat kemudian dipekatkan menggunakan waterbath dengan suhu tidak lebih dari 50°C. Residu yang telah diuapkan kemudian ditimbang sebagai fraksi air.

## **7. Penetapan sifat fisika**

**7.1. Kadar air.** Penentuan kadar air dilakukan dengan menggunakan toluen jenuh air yang diperoleh dengan menggojok 200 ml toluen dengan 10 ml air, biarkan memisah dan buang lapisan air. Serbuk dan ekstrak buah adas ditimbang sebanyak 20 gram dan masukkan dalam labu kering. Dimasukkan lebih kurang 200 ml toluen jenuh air ke dalam labu, kemudian pasang rangkaian alat dan panaskan hati-hati hingga air tidak lagi menetes. Volume air yang tertampung dibaca setelah air dan toluen memisah sempurna, kemudian kadar air dihitung dalam % v/b. Menurut Depkes (2008) kadar air buah adas tidak lebih dari 10%.

**7.2. Pengamatan organoleptik.** Pengamatan organoleptik suatu fraksi dapat dilakukan melalui panca indra yang meliputi pengamatan terhadap warna, aroma, bentuk, dan rasa dari fraksi yang diperoleh. Warna fraksi dapat diamati melalui penempatan fraksi pada wadah kaca bening dan bening. Aroma dan rasa fraksi menunjukkan kekhasan dari simplisia asalnya.

## **8. Identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak buah adas.**

Identifikasi kandungan kimia dimaksudkan untuk mendapatkan kebenaran kandungan kimia yang terdapat dalam buah adas. Identifikasi senyawa flavonoid, tanin, dan saponin dilakukan di Laboratorium Universitas Setia Budi, Surakarta.

**8.1. Identifikasi flavonoid.** Identifikasi flavonoid dilakukan dengan melarutkan 0,5 gram serbuk dan ekstrak dalam 5 ml etanol dan dipanaskan selama 5 menit. Ditambahkan 0,2 gram serbuk Mg, 3 tetes HCl pekat dan 3 tetes amil alkohol. Hasil positif flavonoid ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol. Warna jingga sampai merah menunjukkan adanya flavon, sedangkan warna merah sampai merah tua flavonol, dan merah tua sampai magenta menunjukkan flavonon (Ardilah 2016).

**8.2. Identifikasi tanin.** Identifikasi tanin dilakukan dengan melarutkan 0,5 gram serbuk dan ekstrak dalam etanol untuk kemudian ditambahkan 3 tetes

FeCl<sub>3</sub> 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna hijau atau biru kehitaman (Sastrawan 2013).

**8.3. Identifikasi saponin.** Identifikasi saponin dilakukan dengan mendidihkan 0,5 gram serbuk dan ekstrak dalam 10 ml air panas untuk kemudian dikocok kuat selama 10 detik. Uji positif saponin ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil 1-2 cm, setelah penambahan HCl 2N sebanyak 1 tetes buih tidak hilang (Sastrawan 2013).

**8.4. Identifikasi steroid/triterpenoid.** Identifikasi steroid/triterpenoid dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml kloroform, 0,5 ml asam asetat anhidrat, dan asam sulfat kedalam serbuk dan ekstrak sebanyak 0,5 gram dalam tabung reaksi. Penambahan asam sulfat dilakukan melalui dinding tabung. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan terbentuknya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid (Ardilah 2016).

**8.5. Identifikasi alkaloid.** Identifikasi alkaloid dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml HCl 2N ke dalam tabung reaksi berisi masing-masing 0,5 gram serbuk dan ekstrak yang telah dilarutkan dengan aquadest, kemudian larutan dibagi dalam 3 tabung. Tabung pertama ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff, tabung kedua ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer dan tabung ketiga ditambahkan pereaksi Bouchardat. Hasil positif alkaloid ditunjukkan dengan terbentuknya endapan berwarna jingga pada tabung pertama, endapan kuning kecoklatan pada tabung kedua, dan endapan coklat kehitaman pada tabung ketiga (Ardilah 2016).

## **9. Sterilisasi alat dan bahan**

Media agar yang digunakan dalam penelitian disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 2 Atm. Alat-alat yang terbuat dari gelas seperti cawan petri, tabung reaksi, beaker glass, gelas ukur, dan pipet volume disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan peralatan seperti ose dan penjepit disterilkan dengan menggunakan pemanas api langsung. Ruang kerja inkas disterilkan dengan menggunakan formalin (Jawetz *et al* 2007).

## 10. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231

**10.1. Identifikasi makroskopis.** Identifikasi terhadap jamur *Candida albicans* secara makroskopis dapat dilakukan dengan menginokulasikan biakan murni jamur pada media SGA menggunakan kapas lidi steril untuk kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pengamatan dilakukan dengan terbentuknya koloni *Candida albicans* yang berbentuk bulat lonjong, berwarna krem, dan mengkilat.

**10.2. Identifikasi fermentasi karbohidrat.** Identifikasi fermentasi karbohidrat dilakukan melalui pemeriksaan pembentukan asam dan fermentasi terhadap biakan pada perbenihan menggunakan media karbohidrat. Identifikasi dilakukan dengan menginokulasikan 1 ose biakan murni jamur *Candida albicans* ke media *glukosa broth*, *laktosa broth*, *maltosa broth*, dan *sukrosa broth* yang telah ditambahkan indikator *fenol red* 1% dan dimasukkan tabung durham dalam posisi terbalik untuk kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil positif ditunjukkan dengan perubahan warna media merah menjadi kuning yang menunjukkan terbentuknya asam pada reaksi fermentasi dan terbentuknya gas pada tabung durham yang nampak sebagai ruang kosong. Spesies *Candida albicans* menunjukkan hasil reaksi fermentasi dan gas pada media glukosa dan pada medium laktosa tidak terjadi proses fermentasi (Jawetz *et al* 2007).

**10.3. Identifikasi mikroskopis.** Identifikasi *Candida albicans* secara mikroskopis dapat dilakukan dengan menggunakan metode *germ tube*. Identifikasi dengan *germ tube* dilakukan dengan menambahkan 2 ose koloni jamur yang diduga sebagai jamur *Candida albicans* ke dalam tabung berisi serum sebanyak 0,5 ml. Dilakukan inkubasi selama 1-2 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi serum dengan koloni jamur diambil 1 ose diletakkan pada *object glass* dan ditambahkan pewarna LCB 1 tetes untuk kemudian ditutup dengan *deck glass* dan diamati pada perbesaran 40x. *Germ tube* akan terbentuk setelah proses inkubasi dengan bentuk bulat lonjong menyerupai tabung (Vivi 2016).

## 11. Pembuatan suspensi jamur.

*Candida albicans* ATCC 10231 diambil dari beberapa ose biakan murni, kemudian digoreskan pada media SGA miring pada suatu tabung dan diinkubasi



pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231.

Beberapa ose *Candida albicans* ATCC 10231 dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 ml media SGC, dicampur hingga homogen dan diinkubasi hingga didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart Mc Farland 0,5 yang setara  $1-5 \times 10^6$  (CLSI 2002).

## **12. Pengujian aktivitas antijamur secara difusi**

Sediaan ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari buah adas di uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan metode difusi dengan larutan stok konsentrasi 5, 10, dan 20% yang telah dilarutkan pada DMSO 5%. Pengujian dilakukan dengan menginokulasikan jamur pada media SGA 30 ml dalam cawan petri yang telah memadat dengan menggunakan kapas lidi steril yang telah dicelupkan dalam biakan jamur *Candida albicans*. Suspensi jamur dioleskan pada media secara menyeluruh dan merata secara aseptis dan diamkan selama 5 menit agar suspensi jamur terdifusi dalam media. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari buah adas masing-masing dipipet 25 µl kemudian diteteskan dalam cakram *disk*.

Cakram *disk* dari semua konsentrasi diletakkan pada permukaan media, sebagai kontrol positif diletakkan cakram *disk* dengan flukonazole, dan digunakan cakram *disk* dengan DMSO 5% sebagai kontrol negatif. Pengujian dilakukan dengan replikasi sebanyak tiga kali. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam untuk kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran terhadap zona hambat yang terbentuk.

## **13. Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi**

Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari fraksi teraktif yang dapat menghambat pertumbuhan jamur uji. Larutan stok fraksi teraktif dilarutkan dengan menggunakan pelarut DMSO 5%. Pengujian ini menggunakan 10 tabung reaksi steril dengan 8 tabung berisi pengenceran dua kali dari konsentrasi awal bahan uji dan 2 tabung sebagai kontrol positif dan kontrol negatif yang dilakukan secara aseptis. Metode dilusi dilakukan dengan menggunakan bahan uji kecuali tabung kontrol positif.

Pengujian dilakukan dengan menambahkan 0,5 ml media SGC pada masing-masing tabung uji secara aseptis kecuali tabung kontrol negatif. Larutan stok fraksi teraktif sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung pertama untuk kemudian dihomogenkan menggunakan *vortex*. Dipipet 0,5 ml larutan dari tabung pertama kemudian dimasukkan ke dalam tabung ke dua dan seterusnya hingga tabung ke sembilan. Diambil 0,5 ml larutan dari tabung ke sembilan untuk kemudian di buang. Ditambahkan 0,5 ml suspensi jamur yang telah disesuaikan dengan standar Mc Farland 0,5 dan telah diencerkan 1:100 ke dalam masing-masing tabung uji kecuali tabung kontrol negatif. Dilakukan inkubasi terhadap semua tabung pada suhu 37°C selama 48 jam untuk kemudian di amati kekeruhannya.

Nilai KHM ditentukan melalui konsentrasi terendah larutan uji dalam tabung yang nampak jernih setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) kemudian diinokulasikan pada media SGA dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Konsentrasi sediaan uji pada media SGA yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan jamur ditetapkan sebagai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM).

#### **14. Identifikasi kandungan senyawa pada fraksi teraktif buah adas secara Kromatografi Lapis Tipis**

**14.1. Flavonoid.** Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menggunakan KLT dengan fase gerak yang digunakan adalah metanol : kloroform (1:1) dengan penampak noda uap amoniak. Penampakan pada UV 254 nm terjadi peredaman sedangkan UV 366 nm berfluorosensi biru, kuning, ungu gelap, dan berwarna kuning setelah diuapi amonia yang cepat. Baku standar yang digunakan sebagai pembanding dalam identifikasi flavonoid adalah rutin (Harborne 1987).

**14.2. Tanin.** Fase gerak yang digunakan dalam identifikasi tanin adalah butanol : asam asetat : air (14 : 1 : 5). Deteksi dibawah sinar UV 254 nm dan 366 tidak ada bercak. Pereaksi semprot yang digunakan adalah FeCl<sub>3</sub>. Baku standar yang digunakan sebagai pembanding dalam identifikasi tanin adalah asam galat (Depkes 1979).

**14.3. Saponin.** Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan fase gerak kloroform : metanol : air (64 : 50 : 10). Pereaksi penampak yang digunakan adalah anisaldehyd-asam sulfat pekat. Saponin akan membentuk bercak berwarna biru, violet biru atau kadang-kadang kekuningan bila diamati pada sinar biasa. Baku standar yang digunakan sebagai pembanding dalam identifikasi saponin adalah sapogenin (Harborne 1987).

**14.4. Steroid.** Identifikasi steroid menggunakan KLT yaitu fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak yang digunakan adalah kloroform : metanol (10 : 1). Pereaksi semprot yang digunakan adalah *Lieberman-Burchard*. Sterol akan berfluoresensi merah pada UV 254 dan 366 (Harborne 1987).

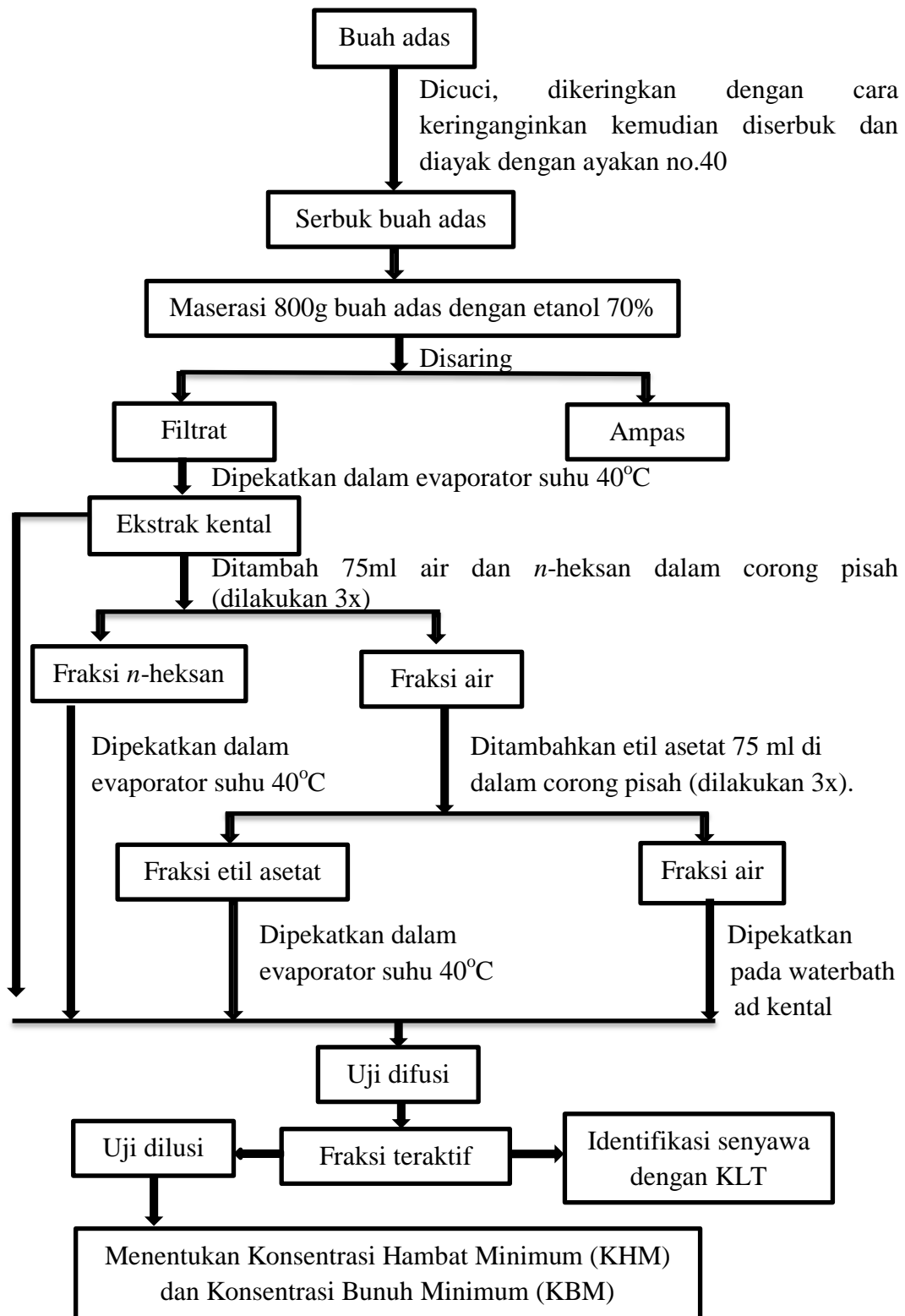
**14.5. Triterpenoid.** Identifikasi triterpenoid menggunakan KLT yaitu fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak yang digunakan *n*-heksan-etil asetat (1:1) jika dengan pereaksi *Lieberman Bourchardat* (dipanaskan 100°C selama 5 menit) memberikan noda berwarna merah ungu atau biru (Harborne 1987).

**14.6. Minyak atsiri.** Identifikasi minyak atsiri menggunakan KLT yaitu fase fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak yang digunakan adalah toluena : etil asetat (93:7). Baku standar yang digunakan untuk deteksi minyak atsiri adalah eugenol. Deteksi dibawah sinar UV 254 nm dan 366 dengan pereaksi semprot anisaldehyd asam sulfat memberikan noda berwarna biru, violet, merah atau coklat pada sinar tampak (Harborne 1987).

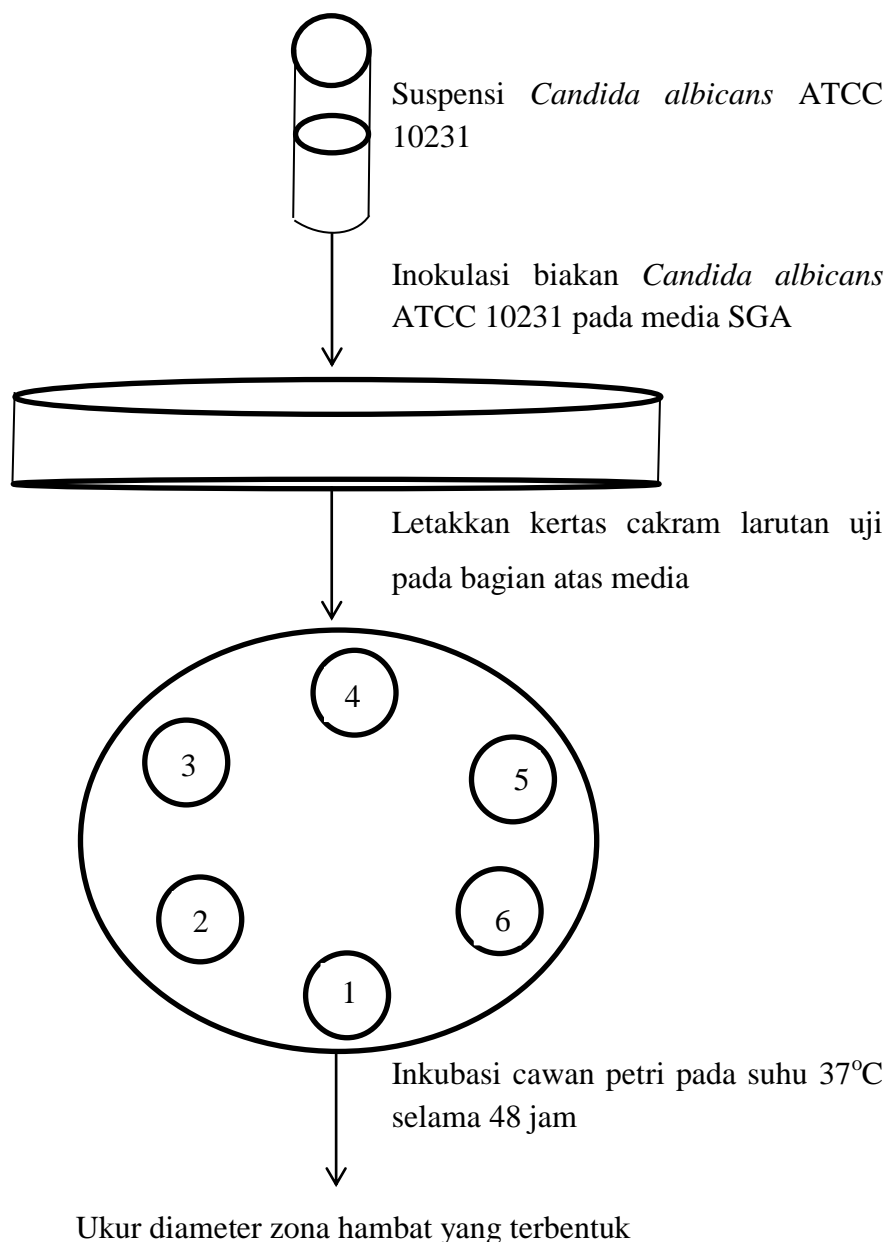
## E. Analisis Hasil

Hasil penelitian uji aktivitas antijamur ekstrak buah adas terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 diperoleh berdasarkan pertumbuhan jamur pada media padat dalam cawan petri dan media cair dalam tabung. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan berdasarkan hasil zona jernih di sekeliling *disk* yang tidak ditumbuhi oleh jamur untuk kemudian diukur diameter hambatan. Data yang diperoleh kemudian diolah dengan menggunakan *Kolmogorov-Smirnov*, jika data yang diperoleh terdistribusi normal maka analisis data dilanjutkan dengan analisa of varian (ANOVA) *two way*.

### F. Skema Jalannya Penelitian



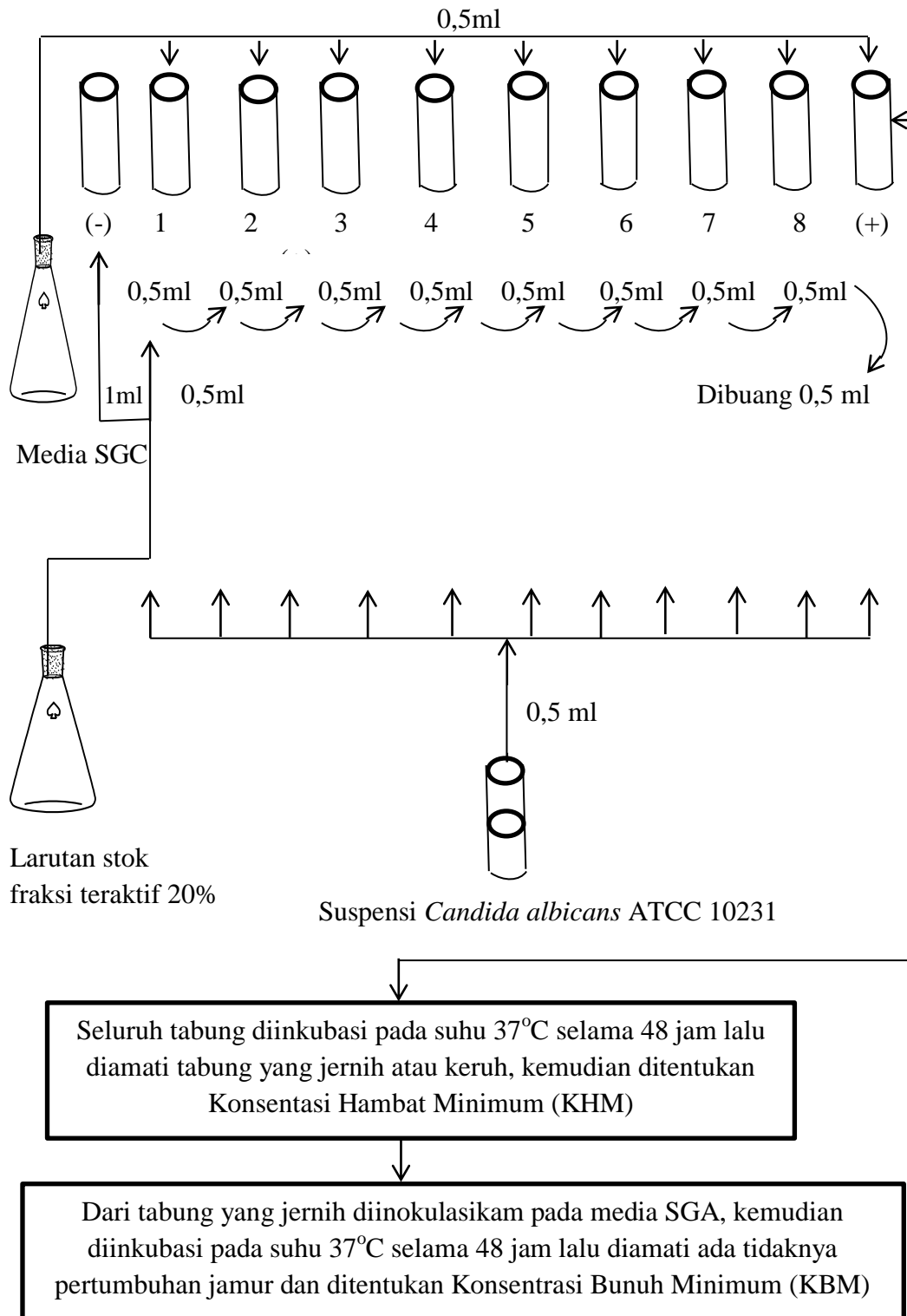
Gambar 2. Skema Keseluruhan Penelitian



Keterangan :

1. Ekstrak etanol buah adas (20 %, 10 %, dan 5 %)
2. Fraksi *n*-heksan (20 %, 10 %, dan 5%)
3. Fraksi Etil asetat (20 %, 10%, dan 5%)
4. Fraksi air (20%, 10, dan 5%)
5. Kontrol negatif (DMSO 5%)
6. Kontrol positif (Flukonazole)

**Gambar 3. Skema kerja pengujian aktivitas antijamur buah adas secara difusi terhadap *Candida albicans* ATCC 10231**



**Gambar 4. Skema kerja pengujian aktivitas antijamur fraksi buah adas secara dilusi terhadap *Candida albicans* ATCC 10231**

