

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Determinasi Buah Adas (*Foeniculum vulgare* Mill.)

Tahap awal dalam penelitian dilakukan determinasi terlebih dahulu terhadap tanaman buah adas. Determinasi tanaman bertujuan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan dalam penelitian untuk menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan. Determinasi tanaman dilakukan di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, Jawa Tengah.

Berdasarkan hasil determinasi yang telah dilakukan, dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian adalah tanaman buah adas (*Foeniculum vulgare* Mill.). Surat keterangan determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

B. Penyiapan Sediaan Uji Ekstrak Buah Adas

1. Hasil pengambilan bahan

Buah adas yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah adas segar, bebas dari penyakit dengan bulir keras berwarna hijau tua atau hijau kecoklatan yang diperoleh dari desa Gebyog kecamatan Selo Boyolali, Jawa Tengah.

2. Hasil pembuatan serbuk buah adas

Buah adas yang telah dikeringkan kemudian dilakukan perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah buah adas. Tujuan pengeringan adalah untuk mengurangi kadar air dalam tanaman sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan bakteri atau mikroorganisme lain yang dapat mengakibatkan penurunan mutu serta kandungan kimia simplisia, mencegah terjadinya reaksi enzimatik, dan mempermudah dalam pembuatan serbuk.

Simplisia buah adas kering kemudian dilakukan penyerbukan dengan menggunakan mesin penggiling. Tujuan penyerbukan simplisia adalah untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas permukaan partikel untuk kontak dengan cairan pelarut dengan tujuan meningkatkan efektivitas penarikan

senyawa dalam serbuk simplisia. Serbuk yang telah dihaluskan diayak dengan ayakan *mesh* 40. Serbuk kering yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat. Hasil perhitungan rendemen buah adas dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil persentase bobot kering terhadap bobot basah buah adas

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen (% b/b)
5700	1900	33,33

Rendemen yang diperoleh dari pengeringan buah adas segar sebanyak 5700 g adalah 33,33% ^b/_b dengan bobot kering 1900 gram. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada lampiran 3.

3. Hasil penetapan kadar air serbuk buah adas

Penetapan kadar air serbuk buah adas dilakukan dengan cara destilasi menggunakan alat *sterling bidwell*. Penetapan kadar air dilakukan dengan melakukan pemanasan menggunakan api langsung hingga air tidak lagi menetes dan air akan memisah dengan toluen sehingga dapat diukur kadar air serbuk. Penetapan kadar air dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui persentase kadar air dari serbuk buah adas sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan mikroorganisme lain yang dapat mempengaruhi kualitas bahan uji. Hasil penetapan kadar air serbuk buah adas dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil penetapan kadar air serbuk buah adas

Bobot awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
20	1,8	9
20	1,8	9
20	1,8	9
Rata-rata		9

Hasil penetapan kadar air serbuk buah adas adalah 9%, sehingga hasil penetapan kadar air serbuk buah adas memnuhi persyaratan (Depkes RI 2008) yaitu kurang dari 10%. Gambar dan hasil perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 8.

4. Hasil pembuatan ekstrak etanol buah adas

Pembuatan ekstrak etanol buah adas dilakukan dengan metode maserasi. Ekstraksi dengan menggunakan metode maserasi digunakan karena buah adas mengandung senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Metode maserasi

dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif sehingga zat aktif akan terlarut dalam cairan penyari akibat adanya perbedaan konsentrasi zat aktif di dalam dan di luar sel (Depkes 1986).

Serbuk buah adas sebanyak 800 g dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70 %. Metode maserasi yang digunakan adalah berdasarkan Farmakope Herbal Indonesia edisi I suplemen III. Proses ekstraksi dilakukan dengan menggunakan botol coklat untuk menghindari pengaruh cahaya matahari terhadap senyawa dalam simplisia yang dilakukan ekstraksi. Maserasi dilakukan selama 24 jam dan dilanjutkan dengan remaserasi selama 24 jam dengan sesekali penggojogan. Filtrat yang telah disaring kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan rotary evaporator untuk menguapkan pelarut sehingga diperoleh ekstrak kental buah adas. Hasil pembuatan ekstrak buah adas dapat dilihat pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil rendemen ekstrak buah adas

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (% b/b)
800	131,5668	16,44

Hasil pembuatan ekstrak etanol 70% buah adas yang dilakukan dengan metode maserasi adalah 131,5668 g yang diperoleh dari serbuk kering buah adas 800 g, sehingga diperoleh rendemen sebesar 16,44%. Hasil rendemen ekstrak buah adas memenuhi persyaratan dalam Farmakope Herbal Indonesia (2008) yaitu tidak kurang dari 11,2 %. Perhitungan rendemen ekstrak buah adas dapat dilihat pada lampiran 4.

Organoleptis ekstrak berwarna coklat dengan konsistensi kental, bau khas, dan rasa yang manis. Tujuan dilakukan uji organoleptis terhadap warna, bentuk, dan rasa dari ekstrak buah adas adalah untuk memberikan pengenalan secara objektif dan dapat digunakan sebagai salah satu penilaian simplisia secara fisik selama penyimpanan yang dapat mempengaruhi khasiat ekstrak.

5. Hasil penetapan kadar air ekstrak buah adas

Penetapan kadar air ekstrak buah adas dilakukan dengan destilasi menggunakan alat *sterling bidwell*. Penetapan kadar air bertujuan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam ekstrak buah adas

sebagai salah satu penilaian terhadap mutu ekstrak yang dihasilkan, sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan mikroorganisme lain yang dapat mempengaruhi kualitas bahan uji. Penetapan kadar air dilakukan dengan memanaskan ekstrak buah adas yang telah dilarutkan dalam toluen jenuh air dalam labu alas bulat. Uap yang dihasilkan dari pemanasan ekstrak buah adas dengan toluen akan mengembun dengan adanya pendinginan. Air akan memisah karena memiliki berat jenis air yang lebih besar dari berat jenis pelarut sehingga air berada pada lapisan bawah dan kemudian diukur air yang tertampung sebagai kadar air sampai air tidak lagi menetes dalam penampung. Persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10% karena dapat mencegah terjadinya reaksi enzimatik dan mencegah pertumbuhan mikroorganisme. Hasil penetapan kadar air ekstrak buah dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil penetapan kadar air ekstrak buah adas

Bobot awal (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
20	1,7	8,5
20	1,8	9
20	1,7	8,5
Rata-rata		8,66

Hasil penetapan kadar air ekstrak buah adas adalah 8,66%, sehingga hasil penetapan kadar air ekstrak buah adas memenuhi persyaratan (Depkes RI 2008) yaitu kurang dari 10%. Gambar dan hasil perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 8.

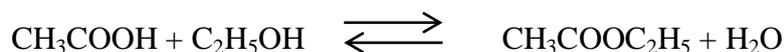
6. Hasil uji bebas etanol ekstrak buah adas

Uji bebas etanol bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak etanol buah adas telah benar-benar bebas dari pelarut etanol, sehingga saat dilakukan pengujian aktivitas antijamur dapat dipastikan bahwa bukan etanol yang memiliki aktivitas antijamur. Uji bebas etanol dilakukan dengan proses esterifikasi dengan hasil bahwa ekstrak buah adas sudah bebas dari etanol 70% sebagai pelarut dengan ditunjukkan tidak adanya bau ester khas dari etanol, sehingga ekstrak buah adas dapat digunakan untuk uji aktivitas antijamur. Gambar hasil pengujian bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 6. Hasil reaksi uji bebas etanol ekstrak buah adas

Prosedur	Hasil Uji
Ekstrak etanol buah adas + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH dipanaskan	Tidak tercium bau khas ester

Reaksi yang terjadi pada uji bebas etanol :



7. Hasil fraksinasi ekstrak etanol buah adas

Hasil ekstrak etanol buah adas selanjutnya dilakukan fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritas. Proses fraksinasi dilakukan dengan menggunakan pelarut dengan polaritas yang berbeda yaitu *n*-heksan, etil asetat, dan air. *n*-heksan merupakan pelarut yang bersifat non polar, sedangkan etil asetat adalah pelarut yang bersifat semi polar, dan air adalah pelarut yang bersifat polar. Fraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksan dan etil asetat direplikasi sebanyak 3 kali dengan tujuan agar senyawa tertarik kedalam masing-masing pelarut secara sempurna. Hasil fraksi *n*-heksan dan etil asetat terletak pada lapisan atas, sedangkan fraksi air terletak di lapisan bawah karena air memiliki berat jenis yang lebih besar jika dibandingkan dengan *n*-heksan dan etil asetat. Rendemen hasil fraksinasi buah adas dapat dilihat pada tabel 7.

Perhitungan rendemen fraksi dapat dilihat pada lampiran 5.

Tabel 7. Hasil rendemen fraksi buah adas

Pelarut	Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -Heksan	30	2	6,67
Etil Asetat	30	2	6,67
Air	30	21	70

Hasil diatas menunjukkan bahwa jumlah rendemen yang dihasilkan dari setiap fraksinasi adalah berbeda, hal ini disebabkan oleh sifat masing-masing pelarut dalam menarik senyawa dalam ekstrak. Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi air memiliki rendemen paling besar, dimana air memiliki sifat polar sehingga kemungkinan sebagian besar senyawa dari buah adas bersifat polar seperti asam galat, kuersetin-3-O-rutinoside, kuersetin-3-O-galaktosida, kaempferol-3-O-rutinoside, kaempferol-3-O-glikosida, dan kuersetin-3-O-β-glukosida (Al-Snafi 2018). Senyawa dalam fraksi air banyak memiliki ikatan dengan glikosida yang dapat mempengaruhi berat rendemen dari fraksi air, hal ini

dikarenakan berat molekul dari glikosida yang besar. Rendemen fraksi *n*-Heksan dan etil asetat hanya sedikit karena kemungkinan fraksi tersebut hanya dapat menarik senyawa dari ekstrak dalam jumlah yang kecil.

8. Hasil identifikasi kandungan senyawa serbuk dan ekstrak buah adas

Identifikasi senyawa kimia bertujuan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam buah adas. Identifikasi senyawa dilakukan terhadap serbuk dan ekstrak buah adas dengan menggunakan pereaksi kimia. Hasil identifikasi senyawa serbuk dan ekstrak buah adas dapat dilihat pada tabel 8.

Tabel 8. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak buah adas

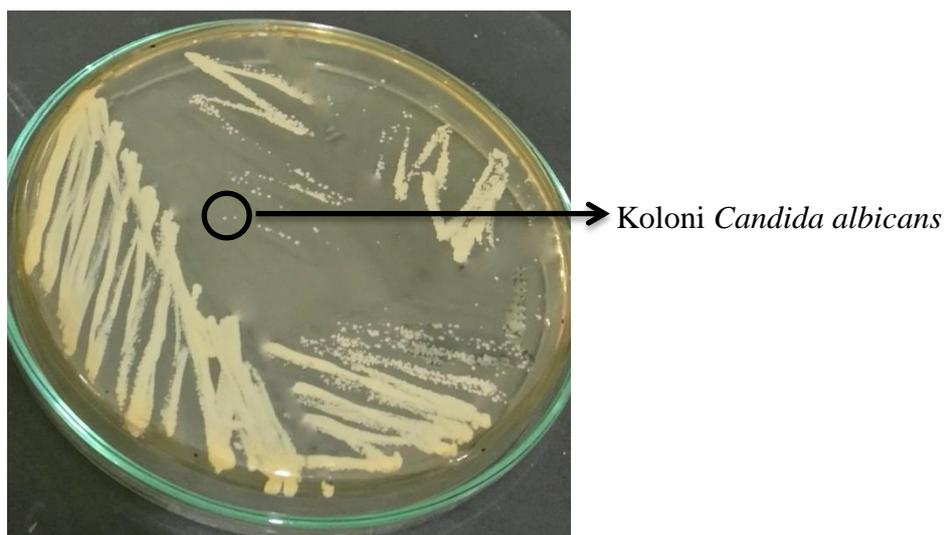
Kandungan senyawa kimia	Reagen	Serbuk	Ekstrak	Keterangan	
				Serbuk	Ekstrak
Flavonoid	Serbuk Mg, HCl pekat, dan amil alkohol	Jingga	Jingga	+	+
Tanin	FeCl ₃	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	+	+
Saponin	Aquadest panas dan HCl 2N	Busa stabil	Busa stabil	+	+
Steroid/triterpenoid	CHCl ₃ , Asam asetat anhidrat, dan H ₂ SO ₄ pekat	Cincin kecoklatan	Cincin kecoklatan	+	+
Alkaloid	Mayer Dragendorf Bourchardat	Tidak terbentuk endapan	Tidak terbentuk endapan	-	-

Tabel diatas menunjukkan hasil uji tabung kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak buah adas mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Hasil ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Sastrawan (2013) tentang kandungan kimia yang dimiliki oleh buah adas yaitu flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid. Gambar identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak buah adas dapat dilihat pada lampiran 6.

9. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi terhadap jamur *Candida albicans* dilakukan dengan tujuan untuk memastikan bahwa jamur yang digunakan dalam pengujian adalah benar. Identifikasi jamur *Candida albicans* dilakukan melalui identifikasi makroskopis, mikroskopis, dan fermentasi karbohidrat.

9.1. Hasil identifikasi makroskopik. Identifikasi makroskopik *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan menanam biakan murni *Candida albicans* ATCC 10231 pada media SGA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Hasil identifikasi menunjukkan terbentuknya koloni bulat memanjang, berwarna krem, timbul, halus, licin, dan memiliki bau khas ragi. Hasil ini menunjukkan bahwa jamur yang digunakan adalah benar jamur *Candida albicans* sesuai dengan Jawetz (2007).

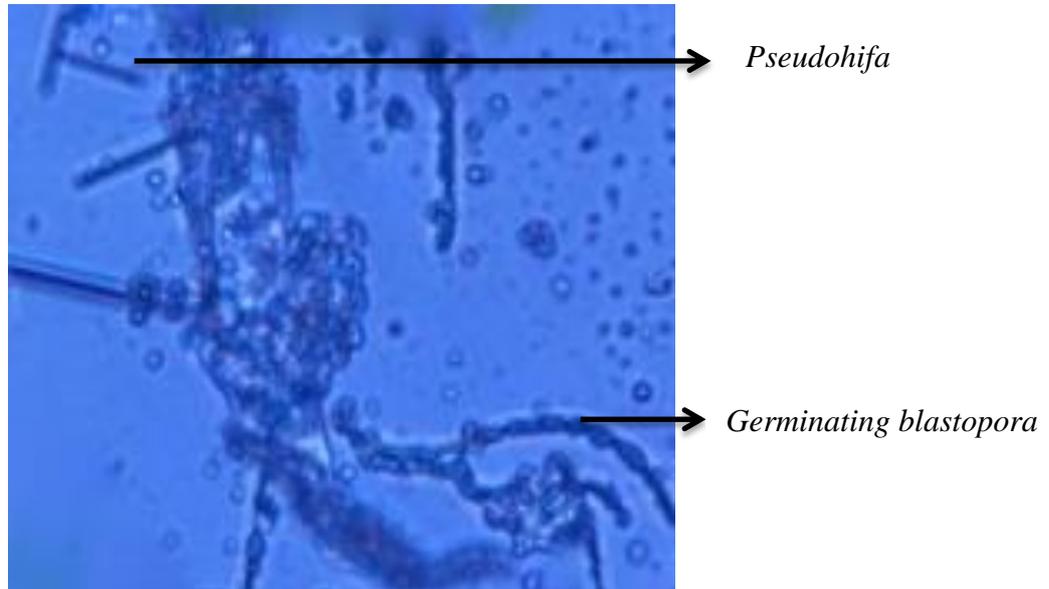


Gambar 5. Identifikasi makroskopis *Candida albicans* ATCC 10231 pada media SGA

9.2. Hasil identifikasi mikroskopik. Identifikasi mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan menggunakan metode germ tube yaitu dengan menanam koloni jamur yang diduga sebagai *Candida albicans* kedalam serum manusia kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 jam. Lakukan identifikasi mikroskopis dengan mengamati biakan yang telah diwarnai dengan LCB (*Lactophenol Cotton Blue*) dibawah mikroskop. Hasil identifikasi mikroskopis menunjukkan adanya pseudohifa dan *germinating blastopora* atau *germ tube* yang nampak bulat lonjong seperti tabung blastopora sesuai dengan Murray (2003).

Pewarnaan menggunakan LCB membuat *Candida albicans* nampak berwarna biru. Warna ini diperoleh dari komponen *cotton blue* yang terdapat dalam LCB. Komponen fenol dari LCB berfungsi sebagai disinfektan dan

komponen asam laktat berfungsi untuk mempertajam struktur *Candida albicans* (Basava *et al* 2016).



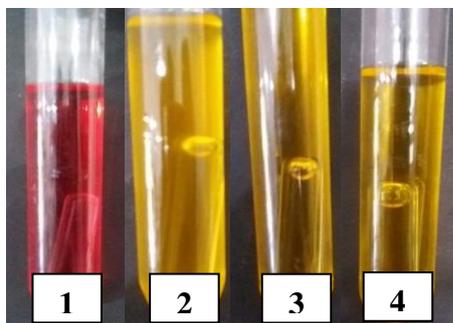
Gambar 6. Identifikasi mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10231

9.3. Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat. Identifikasi fermentasi karbohidrat terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan melalui proses fermentasi menggunakan media *lactose broth*, *glucose broth*, *maltose broth*, dan *sucrose broth*. Identifikasi fermentasi karbohidrat dilakukan dengan menambahkan satu ose biakan *Candida albicans* ke dalam media dalam tabung reaksi dengan tabung durham pada posisi terbalik untuk mengetahui pembentukan gas dan dilakukan inkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

Candida albicans merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel pada suasana aerob dan anaerob. Hasil fermentasi karbohidrat yang berada dalam larutan gula pada suasana aerob menghasilkan CO₂ dan H₂O, sedangkan hasil fermentasi pada suasana anaerob adalah berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan dalam proses oksidasi dan pernafasan. *Candida albicans* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel pada proses asimilasi (Tjampakasari 2006).

Identifikasi fermentasi karbohidrat dilakukan dengan mengamati kemampuan jamur dalam fermentasi. Sumber karbohidrat dalam media

dimanfaatkan oleh *Candida albicans* untuk melakukan metabolisme sel dengan mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Identifikasi fermentasi karbohidrat *Candida albicans* ATCC 10231

Keterangan : 1 : *Lactose Broth*
 2 : *Maltose Broth*
 3 : *Sucrose Broth*
 4 : *Glucose Broth*

Tabel 9. Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat *Candida albicans* ATCC 10231

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

Keterangan :

F+ : Terjadi fermentasi (Perubahan warna)

G+ : Terbentuk gas pada

F- : Tidak terjadi fermentasi (Tidak terjadi perubahan warna)

G- : Tidak terbentuk gas pada tabung durham

Hasil identifikasi fermentasi karbohidrat *Candida albicans* ditunjukkan dengan adanya perubahan warna media menjadi kuning akibat adanya reaksi asimilasi dan fermentasi serta adanya gas pada tabung durham yang menunjukkan adanya reaksi perubahan *pH* menjadi asam.

Berdasarkan tabel diatas, dapat diketahui bahwa pada medium *lactose broth* tidak terjadi proses fermentasi karbohidrat menjadi asam organik yang ditandai dengan tidak adanya perubahan warna merah menjadi kuning serta tidak terbentuk gas yang ditandai dengan tidak terbentuknya ruang kosong pada tabung durham. Hasil pengujian dengan menggunakan *maltose broth*, *sucrose broth*, dan *glucose broth* menunjukkan terjadi proses fermentasi karbohidrat menjadi asam organik dengan adanya perubahan warna merah dari indikator *phenol red* 1%

menjadi warna kuning dan terbentuk gas pada tabung durham akibat perubahan karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O pada saat metabolisme sel. Hasil identifikasi secara biokimia *Candida albicans* ATCC 10231 sesuai dengan ciri-ciri pada Jawetz (2007).

10. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara difusi

Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi bertujuan untuk mengetahui aktivitas zat uji sehingga dapat diketahui zat uji yang memiliki aktivitas paling efektif terhadap *Candida albicans*.

Konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari ekstrak buah adas yang digunakan adalah 5, 10, dan 20%. Flukonazol digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 5% digunakan sebagai kontrol negatif. Perhitungan pembuatan larutan uji dapat dilihat pada lampiran 14.

Pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi dilakukan dengan menggunakan metode cakram *disk* yang diisi larutan uji sebanyak 25 µm menggunakan mikropipet. Cakram *disk* yang telah berisi larutan zat uji kemudian diletakkan ke media SGA yang telah diinokulasikan suspensi jamur uji. Suspensi jamur yang digunakan dalam pengujian dibuat dengan dibandingkan kekeruhannya terhadap standar Mc Farland 0,5. Media yang telah diinokulasikan jamur dan diletakkan cakram berisi larutan uji diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Hasil uji difusi adalah zona bening disekitar cakram yang merupakan hasil penghambatan larutan uji terhadap pertumbuhan jamur uji. Zona bening yang terbentuk diukur dengan menggunakan jangka sorong dalam satuan milimeter (mm) sebagai hasil daya hambat zat uji yang disebut diameter zona hambat. Hasil pengujian aktivitas antijamur dengan menggunakan metode difusi dapat dilihat pada tabel 10.

Tabel 10. Hasil diameter hambat uji aktivitas antijamur buah adas terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Sampel	Konsentrasi	Diameter zona hambat (mm)			Rata-rata ± SD
		Replikasi			
		I	II	III	
Ekstrak	20%	17,00	17,10	16,75	16,95 ± 0,18
	10%	14,00	14,25	14,25	14,17 ± 0,14
	5%	10,80	11,10	11,00	10,97 ± 0,15
Fraksi <i>n</i> -heksan	20%	12,75	12,30	12,60	12,55 ± 0,23
	10%	12,20	11,80	11,90	11,97 ± 0,21
	5%	8,75	9,25	9,00	9,0 ± 0,25
Fraksi etil asetat	20%	19,10	18,75	18,90	18,92 ± 0,17
	10%	15,75	16,25	16,00	16 ± 0,25
	5%	13,50	13,70	13,75	13,65 ± 0,13
Fraksi air	20%	22,65	21,60	22,75	22,33 ± 0,64
	10%	19,90	19,10	19,25	19,42 ± 0,42
	5%	18,25	18,40	18,00	18,22 ± 0,20
Flukonazole	0,2 %	27,25	26,75	26,75	26,92 ± 0,29
DMSO	5%	0	0	0	0 ± 0,00

Berdasarkan hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi, larutan zat uji ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari buah adas memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* yang ditunjukkan dengan adanya zona bening disekitar cakram. Diameter zona hambat hasil uji difusi dianalisis dengan menggunakan Analitik Statistik SPSS untuk melihat adanya perbedaan efektivitas masing-masing zat uji dengan konsentrasi berbeda sehingga menghasilkan perbedaan bermakna. Data yang diperoleh terlebih dahulu dilakukan uji normalitas menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov*. Data yang terdistribusi normal adalah data yang memiliki nilai signifikansi $> 0,05$. Data yang telah terdistribusi normal dapat dilanjutkan analisis menggunakan metode ANOVA *two way*.

Hasil uji distribusi data menggunakan metode *Kolmogorov Smirnov* adalah $0,736 > 0,05$ maka H_0 diterima dan data dinyatakan terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan analisis dengan menggunakan ANOVA *two way*. Pengujian ini digunakan untuk membandingkan ada tidaknya perbedaan yang

signifikan dari masing-masing zat uji pada setiap konsentrasi. Hasil yang ditunjukkan pada tabel *tukey test* menunjukkan adanya perbedaan signifikan diameter zona hambat dari ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air buah adas yang ditunjukkan dengan tanda (*) pada kolom *mean difference*.

Adanya perbedaan signifikan pada masing-masing zat uji juga ditunjukkan pada tabel homogeneous subset yang dapat dilihat pada tabel 11. Perbedaan signifikan zat uji ditunjukkan dengan tidak adanya zat uji berbeda yang berada dalam satu kolom atau subset. Zat uji yang berada dalam kolom terdekat dengan kolom kontrol positif berupa flukonazol menandakan bahwa zat uji tersebut memiliki aktivitas antijamur paling efektif jika dibandingkan zat uji lainnya. Fraksi air berada pada kolom 5 dan kontrol positif flukonazol berada pada kolom 6, sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi air adalah zat uji yang memiliki efektivitas paling baik dalam menghambat jamur *Candida albicans* walaupun aktivitasnya tidak sebanding dengan flukonazol sebagai kontrol positif. Hasil analisis data zona hambat zat uji menggunakan metode ANOVA *two way* dapat dilihat pada lampiran 17.

Tabel 11. Hasil uji homogeneous subset

Zat	N	Subset					
		1	2	3	4	5	6
DMSO	3	,0000					
Fraksi <i>n</i> -heksan	9		11,1722				
Ekstrak	9			14,0278			
Fraksi etil asetat	9				16,1889		
Fraksi air	9					19,9444	
Flukonazol	3						26,9167
Sig		1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Sediaan uji yang memiliki efektivitas paling baik adalah fraksi air jika dibandingkan dengan ekstrak, fraksi *n*-heksan, dan etil asetat dari buah adas. Hal ini dapat dilihat dari diameter zona hambat yang dihasilkan dari masing-masing larutan uji pada tabel 10. Diameter zona hambat yang dihasilkan dari fraksi air konsentrasi 5, 10, dan 20% berturut-turut adalah 18,22; 19,42; dan 22,33 mm, sedangkan diameter zona hambat yang dihasilkan dari flukonazol sebagai kontrol positif adalah 26,92 mm. DMSO 5% sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan aktivitas sebagai antijamur yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening disekitar cakram. Hal ini menunjukkan bahwa hasil diameter zona hambat yang

dihasilkan dari masing-masing zat uji tidak dipengaruhi oleh aktivitas DMSO 5% sebagai pelarut dalam pembuatan larutan stok zat uji.

Fraksi air memiliki aktivitas paling baik dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, hal ini kemungkinan disebabkan karena kandungan zat aktif dari buah adas yang berupa asam galat, kuersetin-3-O-galaktosida, kaempferol-3-O-rutinoside, kaempferol-3-O-glikosida, kuersetin-3-O-rutinoside dan kuersetin-3-O- β -glukosida yang memiliki aktivitas sebagai antimikroba (Al-Snafi 2018). Senyawa tersebut merupakan senyawa yang bersifat polar. Air merupakan senyawa yang bersifat polar sehingga air dapat menarik senyawa-senyawa polar dari ekstrak buah adas dengan aktivitas antijamur. Gambar hasil uji difusi dapat dilihat pada lampiran 11.

Rutin memiliki aktivitas antijamur melalui mekanisme merusak dinding sel jamur (Oliveira 2016). Asam galat memiliki aktivitas antijamur dengan menghambat biosintesis ergosterol dengan mengurangi aktivitas sterol 14 α -demethylase P450 (CYP51) dan squalene epoxidase pada masing-masing membran (Liu *et al* 2017).

11. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara dilusi

Pengujian aktivitas antijamur juga dilakukan dengan menggunakan metode dilusi. Metode dilusi dilakukan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) zat uji dengan seri konsentrasi tertentu. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) adalah konsentrasi terkecil zat uji yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231, sedangkan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) merupakan konsentrasi terkecil zat uji yang dapat membunuh pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231. Zat uji yang digunakan dalam pengujian ini adalah fraksi teraktif dari buah adas yaitu fraksi air. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,6; 0,3; dan 0,15%. Kontrol positif yang digunakan pada uji dilusi adalah jamur uji dalam media SGC (*Sabaroud Glucose Cair*) dan kontrol negatif berupa larutan fraksi air. Jamur uji yang digunakan adalah suspensi jamur yang telah diencerkan (1:100) menggunakan media SGC.

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan melihat kekeruhan media pada tabung dengan konsentrasi zat uji tertentu. Media yang nampak jernih menunjukkan kemampuan zat uji dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) fraksi air dari buah adas tidak dapat ditentukan karena zat uji yang berwarna. Pengujian dilanjutkan dengan menginokulasikan media yang telah berisi jamur dan zat uji pada media SGA untuk menentukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi air ditentukan dengan melihat ada tidaknya pertumbuhan *Candida albicans* pada media SGA. Hasil Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi air dari buah adas adalah 2,5 %. Hasil uji aktivitas antijamur fraksi air dari buah adas dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 12. Gambar uji dilusi dapat dilihat pada lampiran 12.

Tabel 12 . Hasil uji dilusi penentuan nilai Konsentrasi Bunuh Minimum fraksi air buah adas terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

No	Konsentrasi (%)	Fraksi air Replikasi		
		I	II	III
1.	20	-	-	-
2.	10	-	-	-
3.	5	-	-	-
4.	2,5	-	-	-
5.	1,25	+	+	+
6.	0,6	+	+	+
7.	0,3	+	+	+
8.	0,15	+	+	+
9.	K (+)	+	+	+
10.	K (-)	-	-	-

Keterangan :

(+) : terdapat pertumbuhan jamur

(-) : tidak terdapat pertumbuhan jamur

Berdasarkan tabel diatas, semakin besar konsentrasi sediaan uji menunjukkan kemampuan membunuh pertumbuhan *Candida albicans* yang semakin baik, hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada media. Semakin kecil konsentrasi sediaan uji menunjukkan penurunan kemampuan penghambatan pertumbuhan *Candida albicans* yang semakin menurun, hal ini ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan jamur pada media.

12. Hasil identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif secara Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi kandungan kimia menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dilakukan terhadap fraksi teraktif yang memiliki aktivitas sebagai antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 yaitu fraksi air. Identifikasi ini dilakukan untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam fraksi air sehingga dapat menghasilkan aktivitas antijamur yang paling efektif. Identifikasi dilakukan dengan menggunakan fase gerak dan penampak bercak yang sesuai dengan senyawa yang uji. Gambar identifikasi senyawa pada fraksi teraktif secara KLT dapat dilihat pada lampiran 7.

12.1. Identifikasi senyawa flavonoid secara KLT. Identifikasi flavonoid dengan KLT dilakukan dengan menggunakan menggunakan baku pembanding rutin. Deteksi pada sinar UV 254 berwarna gelap karena terjadi peredaman fluoresensi sedangkan pada UV 366 nm berfluoresensi biru, kuning, dan ungu gelap setelah diuapi amonia. Rutin menghasilkan fluoresensi berwarna kuning cerah setelah diuapi dengan amonia. Fase gerak yang digunakan dalam identifikasi flavonoid adalah metanol : kloroform (1 : 1) (Harborne 1987).

Tabel 13 . Hasil identifikasi flavonoid secara KLT

Sampel	RF	Hasil		
		UV 254	UV 366	Visual uap amonia
Ekstrak	0,32	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning
	0,66	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning
	0,96	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning
Fraksi air	0,34	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning
	0,66	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning
Baku rutin	0,96	Peredaman	Berfluoresensi biru	Kuning

Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi air buah adas mengandung senyawa flavonoid yang ditunjukkan dengan bercak dari ekstrak dan fraksi air dengan nilai Rf serupa yaitu 0,66 dan baku rutin menghasilkan nilai Rf 0,96 serta adanya bercak berwarna kuning setelah diuapi dengan amonia, sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi air dan ekstrak buah adas mengandung flavonoid. Mekanisme rutin sebagai antijamur adalah dengan cara melisis dinding sel jamur sehingga menyebabkan rusaknya dinding sel jamur (Oliveira 2016).

12.2. Identifikasi senyawa saponin secara KLT. Identifikasi saponin dengan KLT dilakukan dengan menggunakan baku pembanding sapogenin. Pereaksi semprot yang digunakan adalah anisaldehyd-asam sulfat sehingga menghasilkan bercak berwarna biru, violet, atau kadang-kadang kekuningan jika diamati pada sinar tampak. Fase gerak yang digunakan dalam identifikasi saponin adalah kloroform : metanol : air (64 : 50 : 10) (Harborne 1987).

Tabel 14 . Hasil identifikasi saponin secara KLT

Sampel	RF	Hasil		
		UV 254	UV 366	Visual anisaldehyd-asam sulfat
Ekstrak	0,38	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,94	Peredaman	Berfluoresensi biru	Violet
	0,96	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
Fraksi air	0,18	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,94	Peredaman	Berfluoresensi biru	Violet
Baku sapogenin	0,94	Peredaman	Berfluoresensi biru	Violet

Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi air buah adas mengandung senyawa saponin yang ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna violet setelah dilakukan penyemprotan menggunakan anisaldehyd-asam sulfat jika dilihat secara visual. Nilai Rf yang dihasilkan pada bercak baku sapogenin adalah 0,94 yang sebanding dengan Rf yang dihasilkan ekstrak dan fraksi air, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi air buah adas mengandung saponin. Sapogenin memiliki aktivitas antijamur melalui mekanisme interaksi dengan sterol sehingga dapat mengganggu permeabilitas membran terluar jamur (Liberto *et al* 2010).

12.3. Identifikasi senyawa tanin secara KLT. Identifikasi tanin dengan KLT dilakukan dengan menggunakan baku pembanding asam galat dan pereaksi semprot yang digunakan adalah FeCl_3 . Bercak yang dihasilkan jika dilihat pada UV 254 berwarna gelap karena terjadi peredaman fluoresensi, berfluoresensi ungu pada UV 366 dan berwarna hitam jika dilihat secara visual setelah disemprot dengan FeCl_3 . Fase gerak yang digunakan identifikasi tanin adalah butanol : asam asetat : air (14 : 1 : 5) (Harborne 1987).

Tabel 15 . Hasil identifikasi tanin secara KLT

Sampel	RF	Hasil		
		UV 254	UV 366	Visual FeCl ₃
Ekstrak	0,28	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,34	Peredaman	Berfluoresensi biru	Hitam
	0,58	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,68	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,34	Peredaman	Berfluoresensi biru	Hitam
Baku asam galat	0,26	Peredaman	Berfluoresensi biru	Hitam

Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak dan fraksi air buah adas mengandung senyawa tanin dengan adanya bercak ungu jika dilihat pada UV 366 dan bercak berwarna hitam setelah dilakukan penyemprotan dengan FeCl₃ jika dilihat secara visual. Nilai Rf yang dihasilkan pada bercak ekstrak dan fraksi air adalah 0,34 sedangkan Rf baku asam galat adalah 0,24, sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak dan fraksi buah adas mengandung tanin.

Golongan tanin merupakan senyawa fenolik yang cenderung larut dalam air sehingga cenderung bersifat polar. Tanin dapat bereaksi dengan protein dan membentuk senyawa kompleks larut menjadi tidak larut (Harborne 1987). Asam galat memiliki aktivitas antijamur dengan menghambat biosintesis ergosterol dengan mengurangi aktivitas sterol 14 α -demethylase P450 (CYP51) dan squalene epoxidase pada masing-masing membran (Liu *et al* 2017).

12.4. Identifikasi minyak atsiri secara KLT. Identifikasi minyak atsiri dengan KLT dilakukan menggunakan baku pembanding eugenol dan pereaksi semprot anisaldehyd asam sulfat. Bercak yang setelah dilakukan penyemprotan dengan anisaldehyd asam sulfat adalah bercak berwarna biru, violet ungu atau merah jika dilihat pada sinar tampak. Fase gerak yang digunakan untuk identifikasi minyak atsiri adalah toluen:etil asetat (93 : 7) (Harborne 1987).

Tabel 16 . Hasil identifikasi minyak atsiri secara KLT

Sampel	RF	Hasil		
		UV 254	UV 366	Visual Anisaldehyd- asam sulfat
Ekstrak	0,26	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,36	Peredaman	Berfluoresensi merah	-
	0,48	Peredaman	Berfluoresensi biru	-
	0,92	Peredaman	Berfluoresensi hijau	Ungu
	0,96	Peredaman	Berfluoresensi merah	-
Fraksi air	-	-	-	-
Baku eugenol	0,92	Peredaman	Berfluoresensi hijau	Ungu

Hasil uji KLT menunjukkan bahwa ekstrak buah adas mengandung minyak atsiri yang ditunjukkan dengan adanya bercak berwarna ungu setelah dilakukan reaksi semprot sehingga dihasilkan bercak dengan Rf ekstrak dan baku eugenol 0,96. Fraksi air menunjukkan hasil negatif minyak atsiri, karena fraksi air memiliki sifat polar sedangkan minyak atsiri memiliki sifat non polar, sehingga minyak atsiri tidak dapat ditarik dan larut dengan pelarut air. Minyak atsiri memiliki aktivitas antimikroba dengan mengganggu integritas membran sehingga menyebabkan kebocoran elektrolit dan hilangnya isi membran seperti protein dan gula pereduksi (Diao *et al* 2014).