

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI
EKSTRAK ETANOLIK DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**



Diajukan oleh :

**Maya Ayuningtyas
19133832A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI
EKSTRAK ETANOLIK DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**



SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S.Farm.)*

*Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh :

**Maya Ayuningtyas
19133832A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI
EKSTRAK ETANOLIK DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**

Oleh :

**Maya Ayuningtyas
19133832A**

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : 08 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Prof. Dr. H. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt

Pembimbing Utama

Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.
Pembimbing Pendamping

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Penguji :

1. Dra. Kartinah W., SU.

2. Ghani Nurfiana F.S, M.Farm., Apt.

3. Dr. Supriyadi, M.Si.

4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

1.

3.

2.

4.

PERSEMBAHAN

Dengan penuh syukur, skripsi ini saya persembahkan untuk:

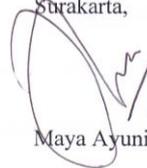
1. Allah SWT, terima kasih untuk hidup
dan selalu menjadi tempatku meminta
2. Keluargaku tersayang

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta,



Maya Ayuningtyas

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Allah SWT atas segala limpahan nikmat dan karunia-Nya yang begitu besar yang selalu menyertai penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antijamur Fraksi *N*-Heksan, Etil Asetat Dan Air Dari Ekstrak Etanolik Daun Ungu (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) Terhadap *Candida Albicans* ATCC 10231”. Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan dan penulisan skripsi ini terdapat hal-hal yang kurang sempurna, sehubungan dengan keterbatasan penulis. Walaupun demikian, penulis telah berusaha semaksimal mungkin agar isi dalam skripsi ini dapat bermanfaat bagi penulis dan pembaca.

Penulis juga menyadari skripsi ini dapat terselesaikan tentu tidak terlepas dari bimbingan, pengarahan, saran, dan bantuan dari berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terimakasih kepada yang terhormat :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R. A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt, selaku dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Mamik Ponco Rahayu, M.Si.,Apt, selaku pembimbing utama yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, waktu dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

4. Dr. Ana Indrayati, M.Si., selaku pembimbing pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, masukan, waktu dan ilmunya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
5. Dosen penguji yang telah meluangkan waktu serta memberikan kritik dan saran sehingga skripsi ini menjadi lebih baik.
6. Segenap dosen, staff, laboran dan asisten laboratorium Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan bantuan selama penelitian.
7. Teman-teman yang tidak bisa disebutkan satu persatu, selalu mendukung dan membantu hingga skripsi ini selesai.
8. Semua pihak yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Tuhan memberikan limpahan berkat kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa dalam skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan dan masih terdapat banyak kekurangan serta kesalahan yang tidak disadari penulis. Penulis mengharapkan saran dan kritik dari pembaca, demi perbaikan penulisan selanjutnya dimasa yang akan datang. Penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dalam bidang kefarmasian.

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
INTISARI.....	xiii
ABSTRACT	xiv
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Kegunaan Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Tanaman Daun Ungu	4
1. Sistematika tanaman.....	4
2. Nama daerah.....	4
3. Morfologi tanaman	4
4. Kegunaan.....	4
5. Kandungan kimia.....	5
5.1. Alkaloid.....	5
5.2. Tanin	5
5.3. Steroid	6
5.4.Saponin.....	6
5.5. Flavonoid.....	7
B. Simplisia	7
1. Pengertian simplisia	7
2. Pengambilan simplisia	7
3. Pengeringan simplisia.....	8
C. Ekstraksi.....	8
4. Pengertian ekstraksi.....	8
5. Maserasi.....	9
6. Fraksinasi.....	9
7. Pelarut.....	10
7.1.Etanol	10

7.2. N-Heksan.....	11
7.3. Etil asetat.....	11
7.4. Air	11
D. Kromatografi Lapis Tipis	12
E. Sterilisasi	13
F. Kandidiasis Vulvovaginitis	13
G. <i>Candida albicans</i>	14
1. Sistematika <i>Candida albicans</i>	14
2. Morfologi	14
3. Karakteristik	15
4. Patogenesis	15
H. Antijamur	16
1. Pengertian	16
2. Mekanisme antijamur	16
I. Uji Aktivitas Antijamur	17
1. Metode difusi.....	17
2. Metode dilusi	18
J. Media.....	18
K. Ketokonazole.....	19
L. Landasan Teori.....	19
M. Hipotesis.....	21
BAB III METODE PENELITIAN	22
A. Populasi dan Sampel	22
B. Variabel Penelitian	22
1. Identifikasi Variabel Utama	22
2. Klasifikasi Variable Utama	22
3. Definisi Operasional Variabel Utama	23
C. Bahan dan Alat	24
1. Bahan	24
2. Alat	24
D. Jalannya Penelitian	24
1. Determinasi dan Identifikasi daun Ungu	24
2. Penyiapan bahan	25
3. Penetapan kadar air.....	25
4. Pembuatan ekstrak etanolik daun ungu	25
5. Pembuatan fraksi ekstrak etanolik daun ungu	26
6. Pengujian kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak dan fraksi daun ungu	26
6.1. Tanin	26
6.2. Alkaloid.....	27
6.3. Saponin.....	27
6.4. Steroid	27
6.5 Flavonoid.....	27
7. Uji bebas etanol	27
8. Sterilisasi alat dan bahan	28

9. Identifikasi jamur uji	28
10. Pembuatan suspensi jamur uji	29
11. Pengujian aktivitas antijamur secara difusi	29
12. Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi	30
13. Identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif secara Kromatografi Lapis Tipis	31
13.1. Identifikasi Saponin	31
13.2. Identifikasi Tanin	32
13.3. Identifikasi Alkaloid	32
13.4. Identifikasi Steroid	32
13.5. Identifikasi Flavonoid	32
E. Analisis Data	33
F. Skema Jalannya Penelitian	34
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	39
1. Determinasi tanaman	39
2. Pembuatan serbuk daun ungu	39
2.1. Pengumpulan bahan	39
2.2. Pengeringan dan penyerbukan daun ungu	39
3. Penetapan kadar air serbuk daun ungu	40
4. Pembuatan ekstrak etanolik daun ungu	40
5. Fraksinasi ekstrak etanolik daun ungu	41
6. Identifikasi serbuk, ekstrak dan fraksi etil asetat	42
7. Uji bebas etanol	43
8. Identifikasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	43
9. Pengujian aktivitas antijamur metode difusi	43
10. Pengujian aktivitas antijamur metode dilusi	46
11. Identifikasi fraksi teraktif dengan KLT	48
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	51
A. Kesimpulan	51
B. Saran	51
DAFTAR PUSTAKA	52
LAMPIRAN	59

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil bobot kering terhadap bobot basah daun ungu	40
Tabel 2. Hasil penetapan kadar air	40
Tabel 3. Hasil rendemen ekstrak etanolik daun ungu	41
Tabel 4. Hasil rendemen fraksi ekstrak daun ungu	41
Tabel 5. Hasil identifikasi serbuk dan ekstrak daun ungu	42
Tabel 6. Hasil identifikasi fraksi etil asetat	42
Tabel 7. Hasil uji difusi	44
Tabel 8. Hasil uji dilusi fraksi etil asetat dan ketokonazol	47
Tabel 9. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat secara KLT	48

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema jalannya penelitian.....	34
Gambar 2. Skema pembuatan suspensi jamur uji 1: 1000	35
Gambar 3. Skema identifikasi jamur secara makroskopis	36
Gambar 4. Skema pengujian antijamur metode difusi	37
Gambar 5. Skema pengujian antijamur metode dilusi	38
Gambar 6. Profil kromatogram senyawa flavonoid	49

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Hasil determinasi	59
Lampiran 2. Daun Ungu (<i>Graptophyllum Pictum</i> (L.) Griff)	60
Lampiran 3. Foto <i>Sterling Bidwell</i> , inkubator dan evaporator.....	61
Lampiran 4. Maserasi dan Fraksi <i>n</i> -heksan dan etil asetat.....	62
Lampiran 5. Foto ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air	63
Lampiran 6. Foto hasil identifikasi	64
Lampiran 7. Hasil perhitungan rendeman bobot kering terhadap bobot basah daun ungu.....	66
Lampiran 8. Hasil persentase penetapan kadar air.....	67
Lampiran 9. Hasil perhitungan rendemen ekstrak etanolik daun ungu.....	68
lampiran 10. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi.....	69
lampiran 11. Perhitungan pembuatan seri konsentrasi metode difusi.....	70
Lampiran 12. Perhitungan pembuatan konsentrasi metode dilusi	71
Lampiran 13. Perhitungan pembuatan konsentrasi dan dilusi ketokonazol	72
Lampiran 14. Pembuatan media	74
Lampiran 15. Foto hasil pengujian antijamur metode difusi	76
Lampiran 16. Foto hasil pengujian antijamur fraksi etil asetat metode dilusi	79
Lampiran 17. Foto hasil pengujian antijamur ketokonazol metode dilusi	80
Lampiran 18. Perhitungan Rf KLT	81
Lampiran 19. Hasil analisis ANOVA	82

INTISARI

AYUNINGTYAS, M., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI *n*-HEKSAN, ETIL ASETAT DAN AIR DARI EKSTRAK ETANOLIK DAUN UNGU (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Perkembangan infeksi jamur di Indonesia yang merupakan negara tropis mendapat perhatian khusus. Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) secara tradisional dapat menghilangkan gejala hemoroid. Daun ungu mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari ekstrak etanolik daun ungu terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Pembuatan ekstrak etanol daun ungu dengan maserasi serbuk dan pelarut etanol 96% kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% untuk mengetahui fraksi teraktif. Fraksi teraktif kemudian diuji dilusi untuk mengetahui nilai KHM dan KBM menggunakan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,391%, 0,196%, 0,098%. Analisis statistik menggunakan ANOVA *oneway* untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antar sediaan uji.

Hasil penelitian daun ungu menunjukkan semua fraksi dan ekstrak mempunyai aktivitas antijamur. Hasil diameter uji difusi ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air untuk konsentrasi 50% adalah 13 mm, 15 mm, 28 mm, dan 22 mm. Fraksi etil asetat konsentrasi 50% merupakan fraksi paling aktif dengan diameter hambat 28 mm dan dengan uji dilusi mampu menunjukkan KBM sampai 12,5%. Analisis kandungan golongan senyawa fraksi etil asetat secara KLT menunjukkan adanya flavonoid.

Kata kunci : daun ungu, *Graptophyllum pictum* (L.) Griff, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat, fraksi air, *Candida albicans*.

ABSTRACT

AYUNINGTYAS, M., 2017, ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF FRACTION N-HEKSAN, ETIL ACETAT AND WATER FROM ETANOLIC UNGU LEAVES (*Graptophyllum Pictum* (L.) Griff) ON *Candida albicans* ATCC 10231. SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

The development of fungal infections in Indonesia which is a tropical country gets special attention. The ungu leaf (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) Can traditionally relieve hemorrhoid symptoms. ungu leaves contain flavonoids, saponins, tannins, alkaloids, steroids. This research was aimed to find out the antifungal activity of *n*-hexane, ethyl acetate and water fraction of ethanolic extract of ungu leaves on *Candida albicans* ATCC 10231.

Preparation of ungu leaves ethanol extract with maceration powder and 96% ethanol solvent then fractionated using *n*-hexane, ethyl acetate and water solvent. Test of antifungal activity using diffusion method of concentration 50%, 25% and 12,5% To find out the most active fraction. The most active fractions were then diluted to determine the values of MIC and MBC using concentrations of 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.563%, 0.781%, 0.391%, 0.196%, 0.098%. Statistical analysis using ANOVA *oneway* to determine whether there is significant difference between test preparation.

The result of ungu leaves show that all fractions and extracts have antifungal activity. The results of extract diffusion test diameter, *n*-hexane, ethyl acetate and air fractions for concentrations of 50% were 13 mm, 15 mm, 28 mm, and 22 mm. The 50% ethyl acetate fraction is the most active fraction with a 28 mm in diameter and with dilution test capable of showing MBC to 12.5%. TLC shows the presence of flavonoids.

Keywords : ungu leaf, *Graptophyllum pictum* (L.) Griff, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, water fraction, *Candida albicans*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit yang disebabkan oleh *Candida* dikenal dengan kandidiasis, yaitu suatu penyakit jamur yang bersifat akut dan sub-akut yang dapat mengenai mulut, vagina, kulit, kuku, paru-paru dan saluran pencernaan. Penyakit ini ditemukan di seluruh dunia dan dapat menyerang semua umur, baik laki-laki maupun perempuan (Budimulya dkk., 1983). Perkembangan infeksi jamur di Indonesia yang merupakan negara dengan iklim tropis disebabkan oleh udara yang lembab, sanitasi yang kurang, lingkungan yang padat penduduk dan tingkat sosial ekonomi yang rendah. Untuk itu masalah mengenai penyakit jamur perlu mendapat perhatian yang khusus di Indonesia (Suprihatin, 1982).

Seiring perkembangan zaman yang semakin canggih, pemakaian dan pendayagunaan obat tradisional di Indonesia mengalami kemajuan yang sangat pesat. Obat-obatan tradisional kembali digunakan masyarakat sebagai salah satu alternatif pengobatan, di samping obat-obatan modern yang berkembang di pasar (Ivan, 2003). Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan alami murni memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia (Muhlisah, 2005).

Tanaman yang berpotensi sebagai antijamur *Candida albicans* salah satunya adalah daun ungu dimana secara tradisional digunakan sebagai peluruh kencing, mempercepat pemasakan bisul, pencahar ringan, dan pelembut kulit (emoliens), sedangkan bunganya berkhasiat sebagai pelancar haid (Dalimartha, 1999). Daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) diketahui mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid (Arifatin, 1999). Penelitian yang dilakukan oleh Wahyuningtyas (2008) tentang pengaruh ekstrak daun ungu terhadap pertumbuhan candida albicans pada plat gigi tiruan resin akrilik menggunakan angka jamur kontrol sebesar 340×10^3 diperoleh KHM pada ekstrak *Graptophyllum pictum* 5% sebesar 51,32% dan konsentrasi 40% sebesar 99,68%.

Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak daun ungu 40% mempunyai daya hambat yang besar terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Metode yang dapat digunakan untuk menguji aktivitas dari *Candida albicans* salah satunya menggunakan metode difusi dan dilusi. Menurut Ganiswara (1995), dasar pengamatan pada metode ini adalah dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan (daerah bening yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan jamur) yang terbentuk disekeliling zat antijamur. Metode dilusi berguna untuk mencari Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroorganisme (Bonang & Koeswardono 1982).

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut dapat dirumuskan masalah dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, apakah ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun ungu memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231?

Kedua, manakah dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan airdari ekstrak daun ungu yang paling aktif terhadap *C. albicans* ATCC 10231?

Ketiga, berapakah nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun ungu terhadap *C. albicans* ATCC 10231?

C. Tujuan Penelitian

Pertama, untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun ungu terhadap *C. albicans* ATCC 10231.

Kedua, mengetahui antara ketiga fraksi (*n*-heksan, etil asetat dan air) dari ekstrak daun ungu yang menghasilkan aktivitas antijamur teraktif.

Ketiga, mengetahui nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun ungu terhadap *C. albicans* ATCC 10231.

D. Kegunaan Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar ilmiah penggunaan daun ungu sebagai obat tradisional antijamur terutama terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan menambah informasi serta wawasan tentang obat dari bahan alam tumbuhan yang terdapat di Indonesia.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tanaman Daun Ungu

1. Sistematika tanaman

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan menurut (DepKes RI,2000), ungu diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi	: Spermatophyta
Sub divisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Bangsa	: Solanales
Suku	: Acanthaceae
Marga	: Graptophyllum
Species	: <i>Graptophyllum pictum</i> (L.) Griff

2. Nama daerah

G. pictum memiliki nama yang berbeda-beda di setiap daerah di Indonesia yaitu daun wungu (Jawa), pudin (Sumatera), temen (Bali), kadi-kadi (Ternate) dan dongo-dongo (Tidore) (DepKes RI,2000)

3. Morfologi tanaman

Daun ungu merupakan tumbuhan perdu yang tegak. Tinggi tumbuhan ini adalah 1,5 - 8 meter. Batangnya termasuk batang berkayu, beruas, permukaannya licin dengan warna ungu kehijauan. Daunnya tunggal, bertangkai pendek, bentuknya bulat, https://id.wikipedia.org/wiki/Daun_ungu - cite note-FOOTNOTENala200333-2 pertulangannya menyirip, permukaan atasnya mengkilap, dan tepinya rata. Bunganya majemuk, keluar di ujung batang, dengan rangkaian tandan yang berwarna keunguan dengan panjang 3-12 cm. Buahnya berbentuk kotak yang lonjong, berwarna ungu kecoklatan. Bijinya bulat dan putih dan berkulit tebal. Akarnya berjenis tunggal dan berwarna coklat muda. (Nala Abu, 2003)

4. Kegunaan

Tanaman daun ungu secara tradisional dapat digunakan sebagai peluruh kencing, mempercepat pemasakan bisul, pencahar ringan, dan pelembut kulit (emoliens). Sedangkan bunganya berkhasiat sebagai pelancar haid (Dalimartha, 1999). Dari studi literatur, telah diteliti bahwa di dalam rebusan daun ungu dapat menghilangkan gejala hemoroid eksternum derajat II (Sardjono O, dkk, 1995).

Umi Kalsum, dkk juga telah meneliti peran senyawa alkaloida yang terdapat dalam ekstrak etanol daun tumbuhan ungu yang memiliki efek analgesik/anti inflamasi dan penghambat pembentukan prostaglandin. Namun demikian penelitian mengenai daun tumbuhan ungu sampai saat ini hanya uji efek farmakologisnya saja (Umi Kalsum, dkk, 1996).

5. Kandungan kimia

Pada penelitian komponen kimia daun ungu, didapatkan senyawa steroid, alkaloid, dan tanin (Achmad H dan Soedigdo S., Litbang PT Kimia Farma dan Departemen Kimia ITB). Daun wungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) diketahui mengandung flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, steroid. (Arifatin, 1999).

5.1 Alkaloid. Alkaloid adalah suatu golongan senyawa yang tersebar luas hampir pada semua jenis tumbuhan. Semua alkaloid mengandung paling sedikit satu atom nitrogen yang biasanya bersifat basa dan membentuk cincin heterosiklik (Harborne, 1984). Alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting dan kulit kayu dari tumbuh-tumbuhan. Kadar alkaloid dari tumbuhan dapat mencapai 10-15%. Alkaloid kebanyakan bersifat racun, tetapi ada pula yang sangat berguna dalam pengobatan. Alkaloid merupakan senyawa tanpa warna, sering kali bersifat optik aktif, kebanyakan berbentuk kristal tetapi hanya sedikit yang berupa cairan (misalnya nikotin) pada suhu kamar (Sabirin, *et al.*, 1994)

5.2 Tanin. Tanin merupakan senyawa polyphenol dengan bobot molekul tinggi (1000-20000) yang mengandung gugus hidroksil dan gugus lainnya (misalnya karboksil) untuk membentuk kompleks yang kuat dengan protein dan molekul lain seperti karbohidrat, membran sel bakteri, dan enzim pencernaan (Cannas, 2001; Norton, 2000). Ajizah (2004) menjelaskan, aktivitas antibakteri senyawa tanin adalah dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel,

sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati.

5.3 Steroid. Merupakan salah satu golongan senyawa metabolit sekunder yang cukup penting dalam bidang medis. Beberapa jenis senyawa steroid yang digunakan dalam dunia obat-obatan antara lain estrogen merupakan jenis steroid hormon seks yang digunakan untuk kontrasepsi sebagai penghambat ovulasi, progestin merupakan steroid sintetik digunakan untuk mencegah keguguran dan uji kehamilan, glukokortikoid sebagai anti inflamasi, alergi, demam, leukemia dan hipertensi serta kardenolida merupakan steroid glikosida jantung digunakan sebagai obat diuretik dan penguat jantung (Doerge, 1982).

Senyawa steroid yaitu β -sitosterol, 10 telah diisolasi dari tumbuhan *A. chaplasha*. β -sitosterol ini diperoleh juga dari *A. communis*. Semua kerangka steroid mempunyai kerangka steran, yaitu siklopentano-fenantrena yang terhidrogenasi penuh. Biasanya cincin rangka ini diberi nama A, B, C dan D. Penomoran atom karbonnya mempunyai konformasi kursi pada steroid yang berada di alam. Cincin B, C dan D selalu trans terhadap lainnya, sedangkan cincin A dan B dapat trans atau cis (Soewolo, 1996).

5.4 Saponin. Saponin merupakan senyawa yang tersebar luas dalam tanaman, bersifat mirip sabun dan mudah membentuk busa. Saponin memiliki struktur mirip steroid sehingga penggunaan yang berlebihan dapat menyebabkan gejala-gejala serupa akibat penggunaan steroid yang berlebih, seperti hipertensi dan trombosis (Heinrich *et al.* 2005) Saponin mempunyai efek membranolitik yaitu membentuk kompleks dengan kolesterol di membran sel protozoa. Saponin mempunyai efek antibakteri dan antijamur yang bagus. Efek antijamur dan antibakteri terganggu dengan adanya gugus monosakarida dan turunannya. Saponin dapat berfungsi sebagai detergen. Detergen memiliki struktur yang dapat berikatan dengan molekul hidrofilik dan molekul-molekul organik non polar (lipofilik) sehingga mampu merusak membran sitoplasma dan membunuh mikroba (Cheeke 2000).

5.5 Flavonoid. Flavonoid yang berasal dari biosintesis gabungan terdiri atas unit-unit yang diturunkan dari asam sikimat dan jalur poliketida. Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter. Sebagai glikosida maupun aglikon, senyawa flavonoid tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan, glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Heinrich *et al.* 2005). Kemungkinan aktivitasnya dikarenakan kemampuan flavonoid membentuk ikatan dengan protein lalu mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel jamur lisis. Akibatnya sel tersebut masuk ke dalam inti sel jamur sehingga jamur tidak berkembang.

B. Simplisia

1. Pengertian simplisia

Simplisia merupakan istilah yang dipakai untuk menyebut bahan-bahan obat alam yang berada dalam wujud aslinya atau belum mengalami perubahan bentuk (Gunawan dan Mulyani, 2004). Pengertian simplisia menurut (DepKes RI) adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan.

Secara umum pemberian nama atau penyebutan simplisia didasarkan atas gabungan nama spesies diikuti dengan nama bagian tanaman. Sebagai contoh, merica dengan nama spesies *Piperis albi* maka nama simplisianya disebut Piperis albi fructus. Fructus menunjukkan nama bagian tanaman yang digunakan yaitu buahnya (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2. Pengambilan simplisia

Pengumpulan bahan baku merupakan tahapan penting dalam menentukan kualitas bahan baku yang akan digunakan. Dalam tahap ini faktor yang berperan penting adalah waktu panen. Waktu panen simplisia sangat berkaitan dengan senyawa aktif yang terkandung di dalam bagian tanaman yang akan di panen. Waktu panen yang tepat adalah ketika bagian tanaman yang akan digunakan mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang maksimal (Depkes 1985).

3. Pengeringan simplisia

Pengeringan merupakan kegiatan yang paling penting dalam pengolahan tanaman obat, kualitas produk yang digunakan sangat dipengaruhi oleh proses pengeringan yang dilakukan (Mahapatra *et al*, 2009). Terdapat berbagai metode dalam pengeringan yaitu antara lain pengeringan dengan sinar matahari langsung, pengeringan dengan oven, dan kering angin. Pengeringan dengan matahari langsung merupakan proses pengeringan yang paling ekonomis dan paling mudah dilakukan, akan tetapi dari segi kualitas alat pengering buatan (oven) akan memberikan produk yang lebih baik. Sinar ultra violet dari matahari juga menimbulkan kerusakan pada kandungan kimia bahan yang dikeringkan (Pramono, 2006). Pengeringan dengan oven dianggap lebih menguntungkan karena akan terjadi pengurangan kadar air dalam jumlah besar dalam waktu yang singkat (Muller *et al*, 2006), akan tetapi penggunaan suhu yang terlampaui tinggi dapat meningkatkan biaya produksi selain itu terjadi perubahan biokimia sehingga mengurangi kualitas produk yang dihasilkan sedang metode kering angin dianggap murah akan tetapi kurang efisien waktu dalam pengeringan simplisia (Pramono, 2006). Mikroba patogen harus negatif dan kandungan aflatoksin tidak lebih dari 30 bagian per juta (bpj). Tandanya simplisia sudah kering adalah mudah meremah bila diremas atau mudah patah. Menurut persyaratan obat tradisional pengeringan dilakukan sampai kadar air tidak lebih dari 10%.

C. Ekstraksi

1. Pengertian ekstraksi

Ekstraksi merupakan salah satu metode pemisahan dua atau lebih komponen dengan menambahkan suatu pelarut yang tepat. Ekstraksi meliputi distribusi zat terlarut diantara dua pelarut yang tidak saling bercampur. Pelarut yang umum dipakai adalah air dan pelarut organik lain seperti kloroform, eter, dan alkohol (Sudjadi, 1988).

Metode ekstraksi yang digunakan untuk mengisolasi suatu senyawa dari bahan alam tergantung pada tekstur, kandungan senyawa, dan sifat senyawa yang diisolasi. Pada penelitian ini metode yang digunakan yaitu metode maserasi. Teknik ini digunakan karena kandungan senyawa organik yang ada dalam bahan cukup tinggi dan telah diketahui jenis pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang diisolasi. Metode maserasi sangat menguntungkan karena pengaruh suhu dapat dihindari, suhu yang tinggi memungkinkan terdegradasinya senyawasenyawa metabolit sekunder. Pemilihan pelarut yang digunakan untuk proses maserasi akan memberikan efektivitas yang tinggi dengan memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut akibat kontak langsung dan waktu yang cukup lama dengan sampel (Djarwis, 2004).

Salah satu kekurangan dari metode maserasi adalah membutuhkan waktu yang lama untuk mencari pelarut organik yang dapat melarutkan dengan baik senyawa yang akan diisolasi dan harus mempunyai titik didih yang tinggi pula sehingga tidak mudah menguap (Manjang, 2004).

2. Maserasi

Biasanya metode ekstraksi dipilih berdasarkan beberapa faktor seperti sifat dari bahan mentah obat dan daya penyesuaian dengan tiap macam metode ekstraksi dan kepentingan dalam proses memperoleh ekstrak yang sempurna atau mendekati sempurna dari obat (Ansel, 1989). Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dengan yang diluar sel. Maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel. Keuntungan cara penyarian dengan maserasi adalah cara pengerjaan dan peralatan sederhana dan mudah diusahakan sedangkan kerugian cara maserasi adalah pengerjaannya lama dan penyariannya kurang sempurna (Depkes, 1986).

3. Fraksinasi

Fraksinasi adalah proses pemisahan kuantitas tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi komposisi perubahan menurut kelandaian). Pembagian atau pemisahan ini didasarkan pada bobot dari tiap fraksi, fraksi yang lebih berat akan berada paling dasar sedangkan fraksi yang lebih ringan akan berada di atas. Fraksinasi bertingkat biasanya menggunakan pelarut organik seperti eter, aseton, benzena, etanol, diklorometana atau campuran pelarut tersebut. Asam lemak, resin, lilin, tanin dan zat warna adalah bahan penting dan dapat diekstraksi dengan pelarut organik (Soegiharjo, 2013).

Fraksinasi digunakan ekstraksi cair-cair yang bersifat sederhana, bersih, cepat dan mudah. Ekstraksi cair-cair adalah suatu teknik bila suatu larutan dibuat bersentuhan dengan suatu pelarut kedua (biasanya organik), yang pada hakekatnya tak tercampurkan dengan pelarut pertama dan menimbulkan perpindahan satu atau lebih zat terlarut (solute) ke dalam pelarut yang kedua. Pemisahan dilakukan dengan mengocok-ngocok dalam sebuah corong pemisah selama beberapa menit. Faktor yang mempengaruhi dalam kesempurnaan ekstraksi adalah jenis pelarut dimana pelarut polar akan melarutkan lebih baik zat polar dan pelarut non polar juga akan melarutkan lebih baik untuk zat yang bersifat non polar. Volume pelarut, jumlah ekstraksi, dan pH juga mempengaruhi kesempurnaan dalam ekstraksi. Zat aktif yang digunakan pada umumnya bersifat asam lemah dan basa lemah dimana kelarutannya dipengaruhi oleh pH larutannya (Basset *et al.* 1994).

4. Pelarut

Pelarut umumnya adalah suatu cairan yang dapat berupa zat murni ataupun campuran. Zat yang terlarut dapat berupa gas, cairan lain, atau padat. Pemilihan pelarut penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut penyari yang baik harus memiliki kriteria yaitu murah dan mudah diperoleh, stabil secara fisika

dan kimia, beraksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif yakni hanya menarik zat aktif yang dikehendaki, tidak mempengaruhi zat aktif, serta diperbolehkan oleh peraturan. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi dipilih berdasarkan pada daya larut zat aktif dan zat yang tidak aktif (Ansel 1989). Pelarut yang digunakan adalah sebagai berikut:

4.1. Etanol. Etanol merupakan larutan yang jernih, tidak berwarna, volatil dan dengan bau khas. Dalam konsentrasi tinggi, akan menyebabkan rasa terbakar saat kontak dengan kulit. Etanol merupakan kelompok alkohol, dimana molekulnya mengandung gugus hidroksil (-OH) yang berikatan dengan atom karbon. Etanol dibuat sejak jaman dahulu dengan cara fermentasi gula. Proses ini banyak digunakan di industri dengan bahan mentah berupa gula. Secara garis besar penggunaan etanol adalah sebagai pelarut organik maupun anorganik, bahan dasar industri asam cuka, ester, spirtus, asetaldehid, dan bahan baku pembuatan etil dan etil ester.

4.2. *n*-Heksan. *n*-heksan adalah hasil penyulingan minyak tanah yang telah bersih terdiri dari suatu campuran rangkaian hidrokarbon, tidak berwarna atau pucat, transparan, bersifat volatile, mudah terbakar, bau karakteristik, tidak dapat larut dengan air, dapat larut dengan alkohol, benzen, kloroform, eter (Tiwari *et al.* 2011). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksan yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti lemak dan asam lemak tinggi, steroid, terpenoid, triterpenoid, dan karotenoid (Depkes 1987).

4.3. Etil asetat. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, mudah terbakar dan menguap, maka disimpan dalam wadah tertutup rapat dan terhindar dari panas. Etil asetat merupakan suatu cairan jernih, tidak berwarna, bau khas seperti buah, larut dalam 15 bagian air, dapat bercampur dalam eter, etanol dan kloroform (Depkes 1986). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah golongan alkaloid, flavonoid dan polifenol (Harborne 1987).

4.4. Air. Air merupakan pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa organik polar sehingga cocok untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Air dapat melarutkan garam alkaloid, tanin, saponin, gula, gom, pati, protein, enzim, zat warna dan asam organik. Penggunaan air sebagai cairan

penyari kurang menguntungkan selain zat aktif ikut tersari juga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian. Air dipertimbangkan sebagai pelarut sebab murah dan mudah diperoleh, stabil, tidak mudah menguap, tidak mudah terbakar, tidak beracun, dan alamiah. Air dapat melarutkan enzim sehingga enzim yang terlarut dengan adanya air akan menyebabkan reaksi enzimatik, yang mengakibatkan penurunan mutu, tetapi adanya air akan mempercepat proses hidrolisis (Depkes 1986).

D. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan metode pemisahan fisikokimia. Campuran yang akan dipisahkan berupa larutan ditutulkan berupa bercak atau pita. Setelah pelat ditaruh dalam bejana yang tertutup rapat dan berisi larutan pengembang yang cocok (fase gerak), pemisahan terjadi selama perambatan kapiler selanjutnya senyawa yang tidak berwarna harus ditampakkan. Prinsip KLT yaitu perpindahan analit pada fase diam karena pengaruh fase gerak. Proses ini biasa disebut elusi. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kerja KLT dalam hal efisiensi dan resolusinya (Gritter,1991).

Pada kromatografi lapis tipis perlu diperhatikan polaritas fase gerak yang mengelusi zat terlalu cepat tidak dapat memisahkan komponen dengan baik, sebaliknya fase gerak yang terlalu lambat mengelusi akan memberikan waktu elusi yang terlalu lama. Contoh beberapa pereaksi semprot adalah sebagai berikut:

No	Pereaksi semprot	Senyawa
1	<i>Vanilin / Sulfuric acid</i>	Merupakan pereaksi universal, salah satunya dapat digunakan untuk senyawa terpen dengan memberi warna merah & 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>Dragendrof's</i>	Alkaloid tetapi juga dapat digunakan untuk nonalkaloid seperti iridoids dan beberapa flavonoid. Alkaloid berwarna <i>orange</i> gelap kemerahan
7	<i>2,4 Dinitro-phenyl-hydrazine,</i>	Aldehid dan keton memberi warna kuning kemerahan
8	<i>Perchloric acid</i>	Merupakan peraksi 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

Sterilisasi adalah segala proses dimana suatu objek, material atau lingkungan dijadikan steril. Steril adalah kondisi benda atau objek yang bebas dari segala jenis sel hidup, spora dan virus. Metode sterilisasi dapat di kategorikan menjadi 3, yaitu metode fisik, metode kimia, dan kombinasi fisik dan kimia. Metode fisik antara lain mencakup pemanasan, pembakaran, penyaringan, penggunaan radiasi, dan pengguna gelombang ultrasonik. Pemanasan adalah metode yang paling lazim digunakan. Efek mematikan panas adalah mendenaturasi protein dari suatu organisme. Pada suhu sterilisasi, membran akan menjadi labil, asam amino akan terdeaminasi, terdepurinasi atau terdegradasi. Metode sterilisasi kimia menggunakan disinfektan atau mikrosida untuk membunuh mikrobia. Disinfektan tersebut antar lain alkohol, etilen oksida, klor dan formaldehid. Penggunaan dan dosis disinfektan ini bervariasi tergantung jenis mikrobia yang akan dibunuh.

(Yalun, 2009) menyatakan bahwa teknik sterilisasi berbeda-beda tergantung pada jenis materialnya. Tujuannya agar setiap alat yang disterilkan, semua bagian alatnya sudah dapat dipastikan bebas dari mikroorganisme yang tumbuh disekitarnya.

F. Kandidiasis Vulvovaginitis

Candida sp dikenal sebagai jamur dimorfik yang secara normal ada pada saluran pencernaan, saluran pernafasan bagian atas dan mukosa genital pada manusia tetapi populasi yang meningkat dapat menimbulkan masalah. Jamur *C.*

albicans dianggap sebagai spesies patogen dan menjadi penyebab utama kandidiasis. *C. albicans* merupakan jamur opportunistik penyebab sariawan, lesi pada kulit, vaginitis, candida pada urin, gastrointestinal kandidiasis yang dapat menyebabkan borok usus, atau bahkan dapat menjadi komplikasi kanker (Kurniawan, 2009)

C. albicans merupakan penyebab paling umum dari vaginitis. Hilangnya pH asam merupakan predisposisi timbulnya vulvovaginitis candida. Dalam keadaan normal pH yang asam dipertahankan oleh bakteri vagina. Diabetes Melitus, kehamilan, progesteron atau antibiotik merupakan predisposisi penyakit ini. Biasanya sering terdapat pada penderita DM karena kadar gula darah dan urin yang tinggi dan pada wanita hamil karena penimbunan glikogen dalam epitel vagina. Vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal dan pengeluaran sekret. Pada kasus yang berat terdapat pula rasa panas, nyeri sesudah miksi dan dispareunia. Fluor albus pada kandidiasis vagina berwarna kekuningan. Tanda yang khas ialah disertai gumpalan-gumpalan berwarna putih kekuningan. Gumpalan tersebut berasal dari massa yang terlepas dari dinding vulva terdiri atas nekrotik, sel-sel epitel dan jamur (Simatupang 2009).

G. *Candida albicans*

1. Sistematika *Candida albicans*

Klasifikasi *Candida albicans* adalah (Frobisher & Fuert's 1983):

Kingdom	: Fungi
Divisi	: Thallophyta
Sub divisi	: Eumycotina
Kelas	: Ascomycetes
Ordo	: Deuteromycetes
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

2. Morfologi

C. albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan

berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5\mu \times 3-6\mu$ hingga $2-5,5\mu \times 5-28\mu$ (Tjampakasari,2006). Menurut Vidotto,*et al.*, (2003) patogenitas *C. albicans* dipengaruhi oleh genetik, lingkungan dan fenotip dimana faktor - faktor seperti pH, suhu, kondisi anaerob dan faktor gizi dalam jaringan pencernaan berperan dalam meningkatkan penetrasi *C. albicans* melalui sel mukosa.

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

3. Karakteristik

Pada kondisi anaerob dan aerob, *C. albicans* mampu melakukan metabolisme sel. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali. Proses peragian (fermentasi) pada *C. albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO_2 dan H_2O dalam suasana aerob. Dalam suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO_2 (Silamba 2014).

4. Patogenesis

C. albicans berada dalam tubuh manusia sebagai saprofit dan infeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi baik endogen maupun eksogen. Faktor endogen meliputi perubahan fisiologi, umur dan imunologi. Perubahan fisiologi seperti kehamilan (karena perubahan pH dalam vagina), kegemukan (banyak

keringat), Diabetes mellitus dan penggunaan obat tertentu (antibiotik, kortikosteroid dan sitostatik). Faktor usia juga mempengaruhi patogenitas *C. albicans*, orang tua dan bayi lebih mudah terkena infeksi karena status imunologinya tidak sempurna. Faktor imunologi contohnya adalah penyakit genetik. Faktor eksogen meliputi pengaruh iklim yang panas dan kelembaban yang menyebabkan respirasi meningkat, kebersihan kulit dan kontak dengan penderita (Simatupang 2009; Tjampakasari 2006) .

Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. Blastospora berkembang menjadi hifa semu yang dapat merusak jaringan. Virulensi ditentukan oleh kemampuan jamur merusak jaringan. Enzim-enzim yang berperan sebagai faktor virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase, dan fosfolipase (Tjampakasari 2006).

H. Antijamur

1. Pengertian

Antifungi/antimikroba adalah suatu bahan yang dapat mengganggu pertumbuhan dan metabolisme mikroorganisme. Pemakaian bahan antimikroba merupakan suatu usaha untuk mengendalikan bakteri maupun jamur, yaitu segala kegiatan yang dapat menghambat, membasmi, atau menyingkirkan mikroorganisme. Tujuan utama pengendalian mikroorganisme adalah untuk mencegah penyebaran penyakit dan infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan dan kerusakan oleh mikroorganisme. Ada beberapa hal yang harus dipenuhi oleh suatu bahan antimikroba, seperti mampu mematikan mikroorganisme, mudah larut dan bersifat stabil, tidak bersifat racun bagi manusia dan hewan, tidak bergabung dengan bahan organik, efektif pada suhu kamar dan suhu tubuh, tidak menimbulkan karat dan warna, berkemampuan menghilangkan bau yang kurang sedap, murah dan mudah didapat (Pelczar & Chan 1988)

2. Mekanisme kerja antijamur

Mekanisme antijamur dapat dikelompokkan sebagai gangguan pada membran sel, gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur, ini adalah komponen sterol yang sangat penting sangat mudah diserang oleh antijamur. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur, mekanisme ini merupakan mekanisme yang disebabkan oleh senyawa turunan imidazol karena mampu menimbulkan ketidakaturan 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 (Sholichah 2010).

I. Uji Aktivitas Antijamur

Pengujian aktivitas antijamur sama artinya dengan menentukan kerentanan jamur terhadap suatu zat antijamur. Beberapa faktor yang mempengaruhi aktivitas antijamur *in vitro* antara lain adalah pH lingkungan, komponen media, stabilitas zat antijamur, ukuran inokulum, masa inkubasi, dan aktivitas metabolisme mikroorganisme (Asmaedy, 1991).

1. Metode difusi

Menurut Ganiswara (1995), metode pengujian aktivitas antijamur *in vitro* dapat dilakukan dengan metode difusi. Pada metode ini zat antijamur ditentukan aktivitasnya berdasarkan kemampuannya berdifusi pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan jamur uji. Dasar pengamatannya adalah dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan (daerah bening yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan jamur) yang terbentuk disekeliling zat antijamur. Metode ini dapat

dilakukan dengan kertas cakram. Cakram kertas saring yang mengandung suatu zat antijamur dengan kekuatan tertentu yang diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan jamur uji, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 7 sampai 14 hari. Pengamatan dilakukan terhadap daerah bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambatan pertumbuhan jamur.

Cara sumuran yaitu, pada lempeng agar yang telah diinokulasi oleh jamur uji dibuat sebidang sumur. Sumur kemudian diisi dengan zat uji, diinkubasi 37°C selama 7 sampai 14 hari. Pengamatan dilakukan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling sumur.

2. Metode pengenceran/dilusi

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

J. Media

Media adalah suatu bahan atau campuran bahan yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakan mikroba. Media yang digunakan harus dalam keadaan steril, tidak ditumbuhi mikroba lain yang tidak diharapkan (Suriawiria 1986). Media tumbuh mikroba harus mengandung semua nutrisi yang mudah digunakan mikroba, mempunyai tekanan osmose, tegangan permukaan dan

pH yang sesuai, media tidak mengandung zat-zat penghambat dan media harus steril (Suryono 1995).

Media biakan yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme dalam bentuk padat, semi padat, dan cair. Media padat diperoleh dengan cara menambahkan agar. Media semi padat biasanya digunakan untuk menguji ada tidaknya motilitas pergerakan mikroba maupun kemampuan fermentasi sedangkan media cair dapat digunakan untuk berbagai keperluan, seperti pembiakan organisme dalam jumlah besar dan fermentasi (Pratiwi 2008).

K. Ketokonazol

Ketokonazol bekerja menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama untuk mempertahankan integritas membran sel jamur. Ketokonazol bekerja dengan cara menginhibisi enzim sitokrom P-450, C-14- α -demethylase yang bertanggungjawab mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Hal ini mengakibatkan dinding sel jamur menjadi lebih permeabel dan terjadi penghancuran sel jamur. (Kuswadi, 2001)

Ketokonazol mempunyai spektrum luas dan efektif terhadap *Blastomyces dermatitidis*, *Candida* spesies, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Malassezia furfur*, *Paracoccidioides brasiliensis*. Ketokonazol juga efektif terhadap dermatofit tetapi tidak efektif terhadap *Aspergillus* sp. dan *Zygomycetes*. (Smith EB, 2000).

L. Landasan Teori

Tanaman daun ungu secara tradisional dapat digunakan sebagai peluruh kencing, mempercepat pemasakan bisul, pencahar ringan, dan pelembut kulit (emoliens). Bunga daun ungu dapat berkhasiat sebagai pelancar haid (Dalimartha, 1999). Dari studi literatur, telah diteliti bahwa rebusan daun ungu dapat menghilangkan gejala hemoroid eksternum derajat II (Sardjono *et al.*, 1995).

Penelitian yang dilakukan oleh Endang W. (2008) menunjukkan ekstrak etanolik daun ungu memiliki potensi terhadap *C.albicans* dengan perhitungan KHM dengan menggunakan angka jamur kontrol sebesar 340×10^3 dan angka jamur pada masing – masing konsentrasi diperoleh KHM pada ekstrak daun ungu

5% sebesar 51,32%, dan konsentrasi 40% sebesar 99,68%. Metode ekstraksi yang digunakan terhadap daun ungu adalah maserasi. Hasil dari ekstraksi kemudian dilanjutkan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi yang aktif.

Fraksinasi adalah proses pemisahan bahan tertentu dari campuran (padat, cair, terlarut, suspensi atau isotop) dibagi dalam beberapa jumlah kecil (fraksi komposisi perubahan menurut kelandaian) (Soegiharjo, 2013). Pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, *n*-heksan, etil asetat, dan air. Etanol dapat melarutkan senyawa seperti flavonoid, saponin, tanin, alkaloid, triterpenoid, minyak atsiri dan glikosida. Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksan yaitu senyawa yang bersifat non polar seperti lemak dan asam lemak tinggi, steroid, terpenoid, triterpenoid, dan karotenoid (Depkes 1987). Etil asetat merupakan pelarut semi polar dan senyawa yang dapat larut dalam pelarut ini adalah golongan alkaloid, flavonoid dan polifenol (Harborne 1987). Air adalah pelarut polar dan senyawa yang dapat larut dalam air yaitu garam alkaloid, tanin, saponin, gula, gom, pati, protein, enzim, zat warna dan asam organik (Depkes 1986).

Daun jeruju termasuk dalam famili Acanthaceae yang juga merupakan satu famili dengan daun ungu. Dalam satu family yang sama, biasanya tanaman satu dengan yang lain memiliki kandungan kimia yang hampir sama, dan kandungan senyawa kimia yang sama dapat memberikan sifat yang sama yaitu sebagai antijamur. Kandungan senyawa yang bersifat antijamur adalah glikosida flavonoid. Penelitian Bose, *et al.* (2008), aktivitas ekstrak kloroform daun jeruju pada *C. albicans* menghasilkan daya hambat sebesar 26 mm. Penelitian yang dilakukan Djamil (2010) terhadap isolasi daun jeruju fase *n*-butanol dari ekstrak metanol daun jeruju terdapat senyawa flavonoid dengan golongan antara lain flavon, auron atau khalkon. Begitu juga dengan penelitian daun ungu yang dilakukan oleh Isnawati (2003) menunjukkan percobaan pemisahan golongan flavonoid dengan kromatografi kertas preparative setelah dikarakterisasi dengan spektrofotometer ultra violet dapat diduga bahwa flavonoid pada daun ungu adalah flavon atau flavonol. Senyawa flavonoid larut kedalam pelarut yang bersifat semi polar, sehingga dari penelitian ini menjadikan fraksi etil asetat

sebagai fraksi yang paling efektif untuk memberikan daya hambat, karena etil asetat memiliki sifat pelarut yang bersifat semi polar.

Metode yang digunakan untuk menguji aktivitas *C. albicans* adalah metode difusi dan dilusi. Metode difusi dapat digunakan untuk mengetahui daerah hambat yang terbentuk mengelilingi obat berupa warna jernih yang dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap mikroba yang diperiksa (Jawetz *et al.* 2007). Sebagai kontrol positif dalam penelitian ini dapat digunakan ketokonazole yang merupakan sintetik azol menghambat jamur dengan menghambat biosintesis lipid jamur, terutama ergosterol pada membran sel (Gunawan 2007). Metode dilusi berguna untuk mencari KHM dan KBM dengan mengetahui kadar obat terendah yang dapat menghambat dan membunuh pertumbuhan mikroba (Bonang & Koeswardono 1982). Larutan uji senyawa antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya KHM tersebut dikultur pada media agar tanpa penambahan jamur uji ataupun senyawa antijamur, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media agar yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan jamur setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

M. Hipotesis

Berdasarkan landasan teori di atas, hipotesis dalam penelitian ini adalah :

Pertama, ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun ungu memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231.

Kedua, fraksi etil asetat ekstrak daun ungu merupakan fraksi yang paling aktif terhadap *C. albicans* ATCC 10231.

Ketiga, dapat menentukan nilai KHM dan KBM dari fraksi teraktif ekstrak daun ungu terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dapat ditentukan.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi dalam penelitian ini adalah daun ungu yang diperoleh dari B₂P₂TOOT daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun ungu yang sudah kering dari B₂P₂TOOT daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah pada bulan November 2016.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama penelitian ini yang pertama adalah ekstrak etanol dan fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun ungu.

Variabel utama yang kedua adalah aktivitas antijamur dari ekstrak serta fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air terhadap *C. albicans* ATCC 10231.

2. Klasifikasi variabel utama

Pengklasifikasian variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu digolongkan dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel terkontrol dan variabel tergantung.

Variabel bebas penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun ungu, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air. Variabel terkontrol dalam penelitian ini adalah media, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sterilisasi dan kondisi laboratorium.

Variabel tergantung dalam penelitian adalah diameter zona hambat yang terbentuk dari pemberian ekstrak serta fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air daun ungu.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, daun ungu diambil dari B₂P₂TOOT daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun ungu diayak dengan ayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak daun ungu adalah hasil ekstraksi serbuk daun ungu dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi.

Keempat, fraksi *n*-heksan adalah ekstrak daun ungu yang kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksan.

Kelima, fraksi etil asetat adalah residu fraksi *n*-heksan dari daun ungu yang kemudian difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat.

Keenam, fraksi air adalah residu fraksi etil asetat dari daun ungu.

Ketujuh, *C. albicans* adalah jamur *C. albicans* yang di peroleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi.

Delapan, uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode difusi adalah metode yang digunakan untuk mengukur zona hambat pertumbuhan jamur yang terbentuk. Metode dilusi adalah metode yang digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dengan membuat berbagai seri konsentrasi dengan cara penapisan sampai konsentrasi akhir.

C. Bahan dan Alat

I. Bahan

Bahan untuk ekstraksi dan fraksinasi adalah serbuk daun wungu. Daun wungu diambil dari B₂P₂TOOT daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah, etanol 96%, *n*-heksan, etil asetat, DMSO 5%, aquadest steril, HCl 2N, Mg, *Lieberman-Buchard*, toluen, asam formiat, Anhidrida asetat, H₂SO₄ pekat, Kloroform, Anisaldehyd, FeCl₃ 1%, Sitroborat, Dragendrof, Mayer, Wagner dan Fenol red. Bahan yang digunakan untuk melakukan uji aktivitas antijamur adalah *C. albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, *Sabouroud Glucose Agar* (SGA), *Sabouroud Glucose Cair* (SGC), kloramfenikol.

2. Alat

Alat yang digunakan untuk melakukan penyarian dengan adalah botol kaca gelap, timbangan analitis, evaporator, gelas ukur, erlemeyer, tabung durham, *Sterling-Bidwell*. Alat-alat yang digunakan untuk uji aktivitas antijamur adalah tabung reaksi, cawan petri, inkas, jarum ose, pinset, lampu spiritus, rak tabung, oven, autoklaf, mikro pipet, pipet tetes, incubator, dan boor prop.

D. Jalannya Penelitian

1. Determinasi dan identifikasi daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff)

Tahap pertama yang dilakukan pada penelitian ini adalah melakukan determinasi dan identifikasi daun ungu. Hal ini dimaksudkan untuk menetapkan kebenaran sampel yang digunakan dalam penelitian merupakan daun ungu yang

akan diuji. Determinasi dan identifikasi daun ungu dilakukan di laboratorium B₂P₂TOOT.

2. Penyiapan bahan

Daun ungu diambil simplisia dari B₂P₂TOOT daerah Tawangmangu, Karanganyar, Jawa Tengah. Penyerbukan daun ungu dilakukan dengan cara simplisia daun wungu diserbuk dengan cara diblender setelah itu diayak menggunakan ayakan no. 40.

3. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk daun ungu dilakukan menggunakan alat *Sterling Bidwell*. Metode ini dilakukan dengan cara menimbang serbuk daun ungu 20 gram dimasukkan dalam labu destilasi dan ditambahkan pelarut xylen sampai serbuk terendam kemudian memasang alat *Sterling Bidwell*. Panaskan labu dengan hati-hati, dipanaskan dengan api kecil setelah mendidih api dibesarkan. Pemanasan dihentikan jika pada tetesan sudah tidak ada air yang menetes. Kemudian diukur kadar airnya dengan menggunakan alat *Sterling Bidwell* dengan melihat volume pada skala alat tersebut. Kadar air dihitung dalam % v/b

4. Pembuatan ekstrak etanolik daun ungu.

Serbuk daun ungu ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik, metode ekstraksi yang digunakan ialah maserasi. Sebanyak 500 g sampel serbuk dimasukkan dalam alat maserasi berupa botol kaca gelap. Kemudian larutan etanol 96% sebanyak 1L dituangkan secara perlahan-lahan ke dalam alat maserasi yang berisi sampel, lalu diaduk-aduk hingga merata. Larutan penyari dituangkan hingga 1 cm di atas permukaan sampel. Diaduk sekali-sekali, setiap 3x24 jam

filtrat disaring dan pelarut diganti dengan yang baru sambil sekali-sekali diaduk. Setelah itu ekstrak dikumpulkan dan diuapkan dengan rotary evaporator pada tekanan rendah dengan temperatur 40°C sampai didapatkan ekstrak etanol yang kental.

5. Pembuatan fraksi ekstrak etanolik daun ungu.

Ekstrak daun ungu yang sudah ditimbang dilarutkan dengan aquadest : etanol (1:1) 75 ml kemudian masukkan dalam corong pisah dengan *n*-heksan sebanyak 3 kali 75 ml. Hasil fraksinasi dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C kemudian hasil ditimbang dan disebut sebagai fraksi *n*-heksan.

Residu dari fraksinasi *n*-heksan dimasukkan dalam corong pisah lagi dengan penambahan etil asetat sebanyak 3 kali 75 ml. Hasil fraksinasi dipekatkan dengan evaporator pada suhu 40°C kemudian hasil ditimbang dan disebut sebagai fraksi etil asetat.

Residu dari fraksi etil asetat dipekatkan menggunakan waterbath suhu \pm 50°C kemudian hasil ditimbang dan disebut fraksi air. Skema pembuatan ekstrak etanolik dan fraksi daun ungu bisa dilihat pada gambar 1.

6. Pengujian kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun ungu

6.1. Tanin. Identifikasi tannin dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif kedalam 10 ml aquadest, saring dan filtrat ditambah 3 tetes FeCl₃ 1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk warna hijau kehitaman

6.2. Alkaloid. Identifikasi alkaloid dilakukan metode Mayer, Wagner, dan Dragendorff dengan melarutkan 0,1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif ditambah 1 ml HCl 2N dan 9 ml aquadest kemudian panaskan \pm 2 menit, dinginkan dan disaring. Filtrat dibagi 3 bagian, tiap filtrat ditambah pereaksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk endapan putih, terbentuk warna coklat kemerahan, terbentuk jingga

6.3. Saponin. Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif dilarutkan air panas dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat-kuat selama \pm 10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil

6.4. Steroid. Identifikasi saponin dilakukan dengan melarutkan 0,1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif dilarutkan dalam 0,5 mL kloroform, kemudian tambahkan 0,5mL anhidra asetat dan meneteskan campuran dengan 2mL H₂SO₄ pekat melalui dinding tabung. Bila terbentuk warna hijau kebiruan menunjukkan adanya steroid dan bila terbentuk warna merah hijau atau violet-biru menunjukkan adanya terpenoid (Jones & Kinghorn 2006).

6.5.Flavonoid. 0,1 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif dilarutkan dalam metanol panas dan ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCl pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk warna jingga (Setyowati *et al.* 2014).

7. Uji bebas etanol

Sebelum diuji daya antijamur ekstrak daun ungu terlebih dahulu harus diyakinkan bahwa ekstrak tersebut sudah tidak mengandung etanol. Uji bebas etanol dilakukan agar tidak terjadi kesalahan apakah jamur mati atau terhambat

karena kandungan kimia dari daun ungu atau dari etanol yang masih ada sewaktu proses penyarian. Uji bebas metanol dilakukan dengan cara esterifikasi etanol, ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1987).

8. Sterilisasi alat dan bahan

Alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian harus dalam kondisi yang steril. Cawan petri, pipet volume, tabung reaksi, dan pinset disterilkan dengan autoklaf. Jarum ose disterilkan dengan pembakaran, yaitu dengan membakarnya sampai berwarna kemerahan dengan lampu spiritus. Media disterilisasi menggunakan otoklaf dengan suhu mencapai 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1-2 atm.

9. Identifikasi jamur uji

Identifikasi *Candida albicans* dari biakan murni ditanam pada media SGA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam akan terbentuk koloni lunak berwarna krem, yang mempunyai bau seperti ragi. Identifikasi biokimia, dilakukan pemeriksaan asam dan fermentasi terhadap biakan pada perbenihan karbohidrat (glukosa, maltosa, sukrosa, laktosa) yang telah ditambahkan indikator fenol red 1% menjadi warna kuning menunjukkan terbentuknya asam pada reaksi fermentasi tersebut. Tabung durham digunakan untuk mengetahui pembentukan gas yang diletakkan secara terbalik dalam tabung reaksi. Gas yang terbentuk akan tampak sebagai ruang kosong pada tabung durham. Identifikasi *Candida albicans* diambil berdasarkan reaksi fermentasi karbohidrat dan terbentuknya gas dalam tabung. Spesies *Candida albicans* memperlihatkan hasil reaksi fermentasi dan gas

pada glukosa dan maltosa, terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada sukrosa dan tidak terjadi proses fermentasi pada medium laktosa (Jawetz *et al.* 1986).

10. Pembuatan suspensi jamur uji

C. albicans ATCC 10231 diambil dari suatu biakan murni sebanyak beberapa ose, kemudian digoreskan pada media SGA kemudian diinkubasi 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok jamur uji *C. albicans* ATCC 10231.

Beberapa ose biakan *C. albicans* ATCC 10231 diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml SGC, campuran dikocok sampai homogen diinkubasi 5-8 jam kemudian dilihat kekeruhan sesuai dengan standart Mc Farland 0,5. Suspensi yang didapat diencerkan dengan perbandingan 1:1000 pada sebuah tabung menggunakan SGC (Bonang & Koeswardono 1982).

11. Pengujian aktivitas antijamur secara difusi

Sediaan ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dari daun ungu diuji aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 menggunakan metode difusi. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air dibuat masing-masing tiga konsentrasi yaitu 50 %, 25% dan 12,5% menggunakan pelarut DMSO 5%.

Jamur uji diinokulasi pada media SGA 30ml yang berada dalam cawan petri yang telah memadat dengan menggunakan kapas lidi steril. Kapas lidi digoreskan pada seluruh media hingga merata secara aseptis, kemudian didiamkan 5 menit agar suspensi biakan terdifusi ke media. Dibuat lubang pada media yang

telah terdifusi jamur dengan menggunakan boor prop. Kemudian sebanyak 30 μ l larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air, dipipet ke dalam lubang yang telah dibuat dan diamkan sesaat selama 5 menit. Pada media diletakkan kontrol positif, yaitu ketokonazol dan sebagai kontrol negatif ditetesi pada lubang sumuran dengan DMSO 5% dan *n*-heksan. Replikasi dilakukan tiga kali. Masa inkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk. Pengujian aktivitas antijamur ditunjukkan pada gambar 4.

12. Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi

Metode dilusi digunakan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari sediaan yang dapat menghambat jamur uji. Metode ini menggunakan 1 deretan tabung reaksi dari 10 tabung steril dengan interval pengenceran dua kali secara aseptis. Metode dilusi dilakukan dengan bahan uji dimasukkan dalam masing-masing tabung reaksi kecuali kontrol positif. Pembuatan larutan stok fraksi teraktif menggunakan pelarut DMSO 5%. Medium SGC 0,5 ml dimasukkan dalam masing-masing tabung uji secara aseptis kecuali tabung pertama. Larutan stok fraksi teraktif sebanyak 1 ml dimasukkan dalam tabung pertama, dari tabung pertama diambil 0,5 ml dimasukkan tabung kedua, dari tabung kedua diambil 0,5 ml dimasukkan tabung ketiga dan begitu seterusnya sampai tabung ke delapan. Ambil 0,5 ml dari tabung delapan kemudian dibuang. Suspensi jamur dalam medium SGC dimasukkan dalam tiap tabung uji sebanyak 0,5 ml kecuali kontrol negatif. Kontrol negatif berisi 1 ml bahan uji dan kontrol positif berisi 1 ml

suspensi jamur. Semua tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, kemudian amati kekeruhannya.

KHM ditentukan dengan cara menentukan konsentrasi terendah larutan uji dari tabung yang jernih. Tabung yang jernih diinokulasi secara goresan pada media selektif diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam. Mengamati ada atau tidaknya koloni lunak berwarna krem, yang mempunyai bau seperti ragi. KBM ditunjukkan oleh konsentrasi terendah pada media SGA yang tidak menunjukkan adanya koloni jamur yang tumbuh.

13. Identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif secara Kromatografi

Lapis Tipis

Fraksi teraktif ekstrak etanolik daun ungu dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian totolkan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari sisi bawah lempeng KLT. Jenuhkan bak kromatografi dengan fase gerak yang sesuai, ditandai dengan kertas saring terbasahi semuanya. Setelah totolan kering, masukkan lempeng KLT pada bak kromatografi yang sudah dijenuhkan, elusi dilakukan sampai jarak tertentu. Deteksi noda di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta pereaksi tertentu. Bercak yang terdeteksi kemudian ditentukan harga R_f -nya dan penampakan warnanya.

13.1. Identifikasi Saponin. Identifikasi adanya senyawa saponin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya kloroform : metanol : air (65 : 35 : 2). Di deteksi dibawah sinar UV 254 nm berwarna kuning dan dibawah sinar UV 366 nm berwarna hijau. Pereaksi semprot

menggunakan anisaldehyd dengan hasil berwarna ungu dan dibawah bercak sinar biasa berwarna biru (Harbone 1987).

13.2. Identifikasi Tanin. Identifikasi adanya senyawa tanin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya menggunakan *n*-heksan : etil asetat (3:7). Di deteksi dibawah sinar UV 366 nm berwarna hitam (Saputri 2014).

13.3. Identifikasi Alkaloid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak yang digunakan etil asetat : metanol : air (90:9:1) dengan pereaksi semprot Dragendrof. Senyawa alkaloid akan terlihat bercak jingga sampai merah tua setelah disemprot sengan pereaksi Dragendrof. Alkaloid akan menunjukkan peredaman pada sinar UV 254 nm dan beberapa alkaloid akan berfluorensi kuning atau biru (Harborne 1987).

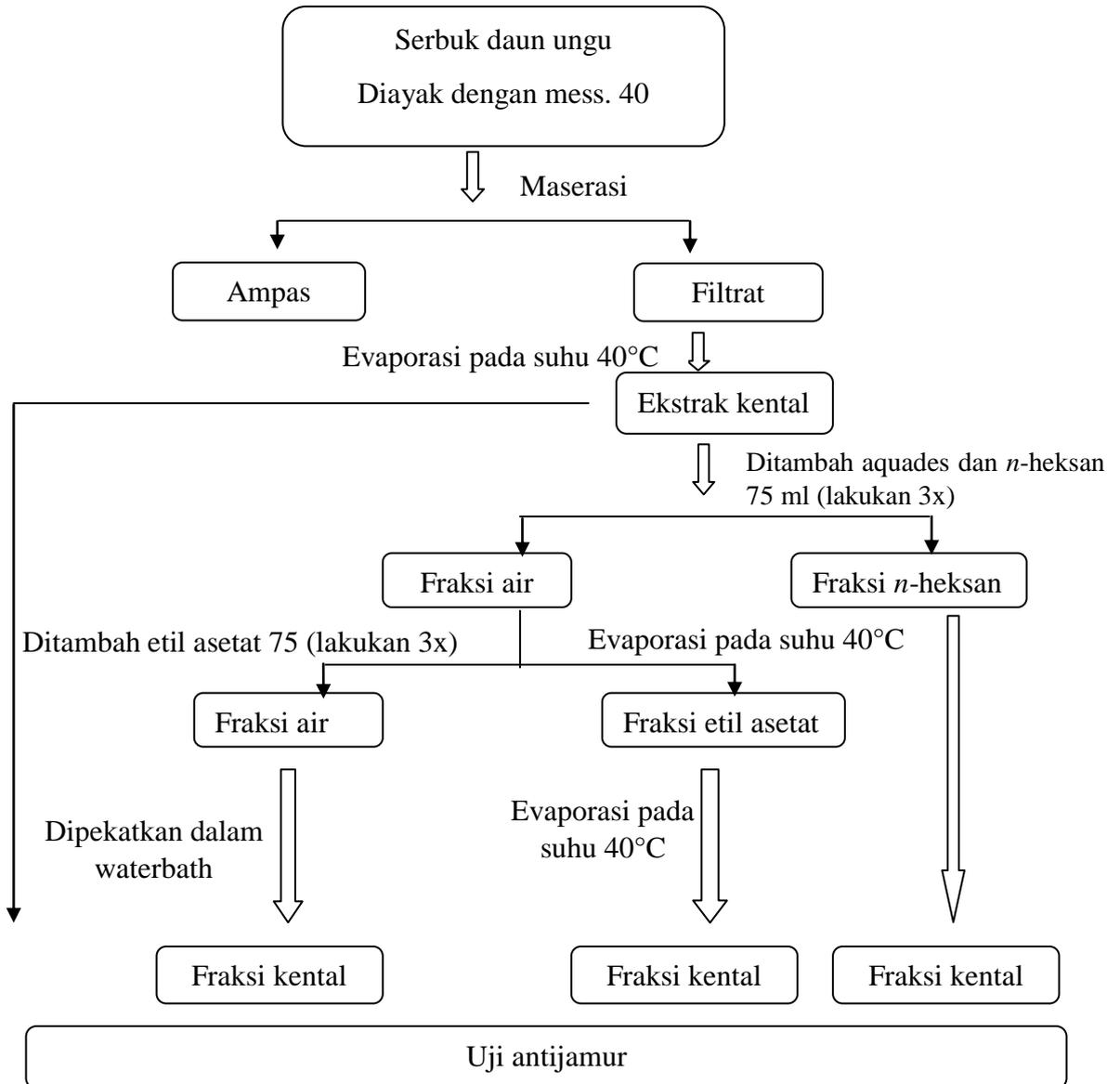
13.4. Identifikasi Steroid. Menggunakan uji Lieberman-Burchard (anhidrida asetat-H₂SO₄ pekat) yang memberikan warna hijau-biru. (Harborne 1987).

14.1. 13.5. Identifikasi Flavonoid. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak kloroform : metanol (5:5). Pereaksi penampak sitroborat. Flavonoid akan berfluorensi pada sinar UV 366 nm. Hasil positif jika terbentuk fluorensi kuning, biru dan ungu pada UV 366 nm (Harborne 1987).

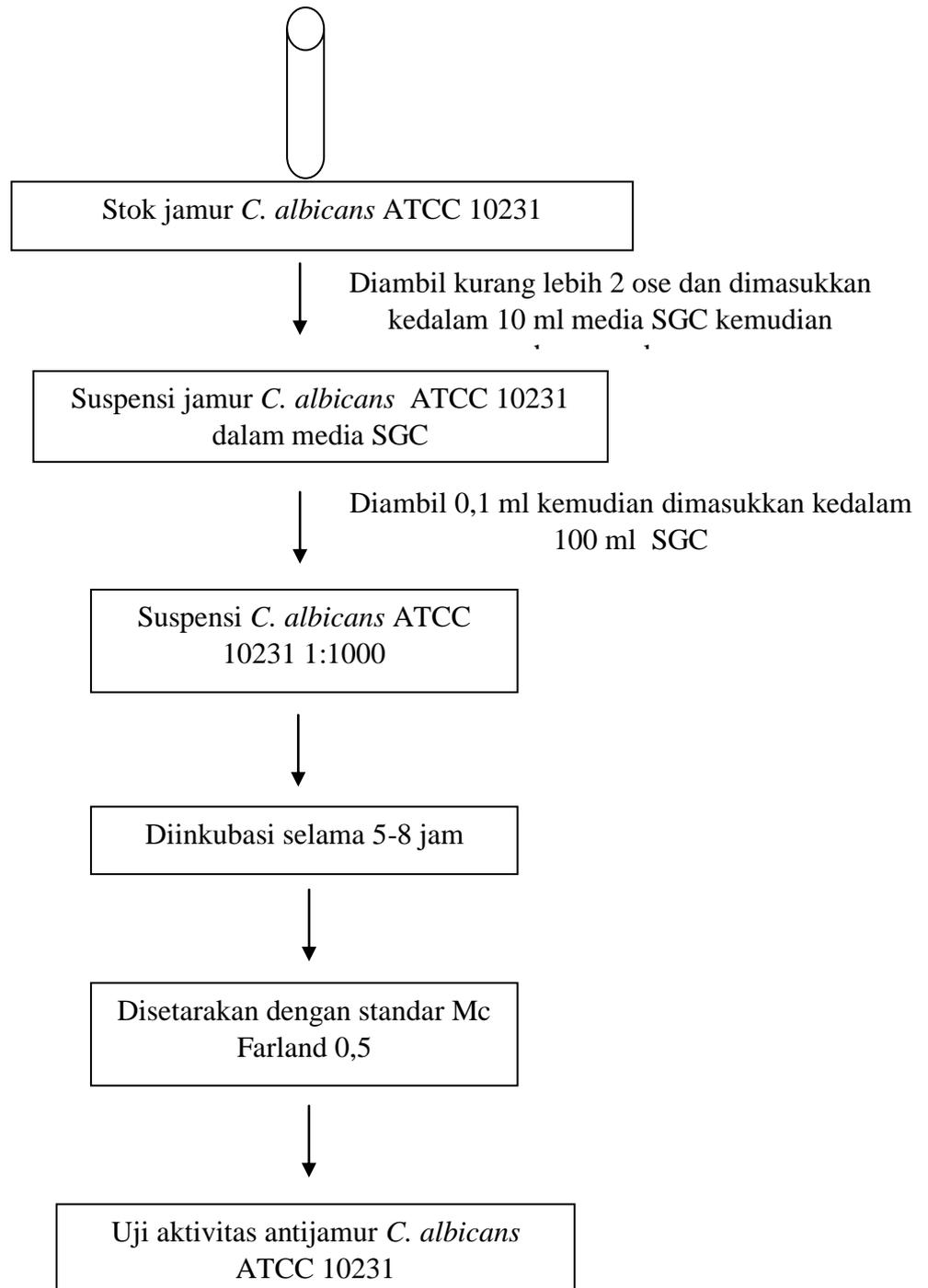
D. Analisis Data

Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak daun daun ungu terhadap *C. albicans* menggunakan metode difusi dinyatakan dengan nilai zona hambat yang terbentuk. Hasil data yang diperoleh dianalisis menggunakan statistik metode *one way anova*.

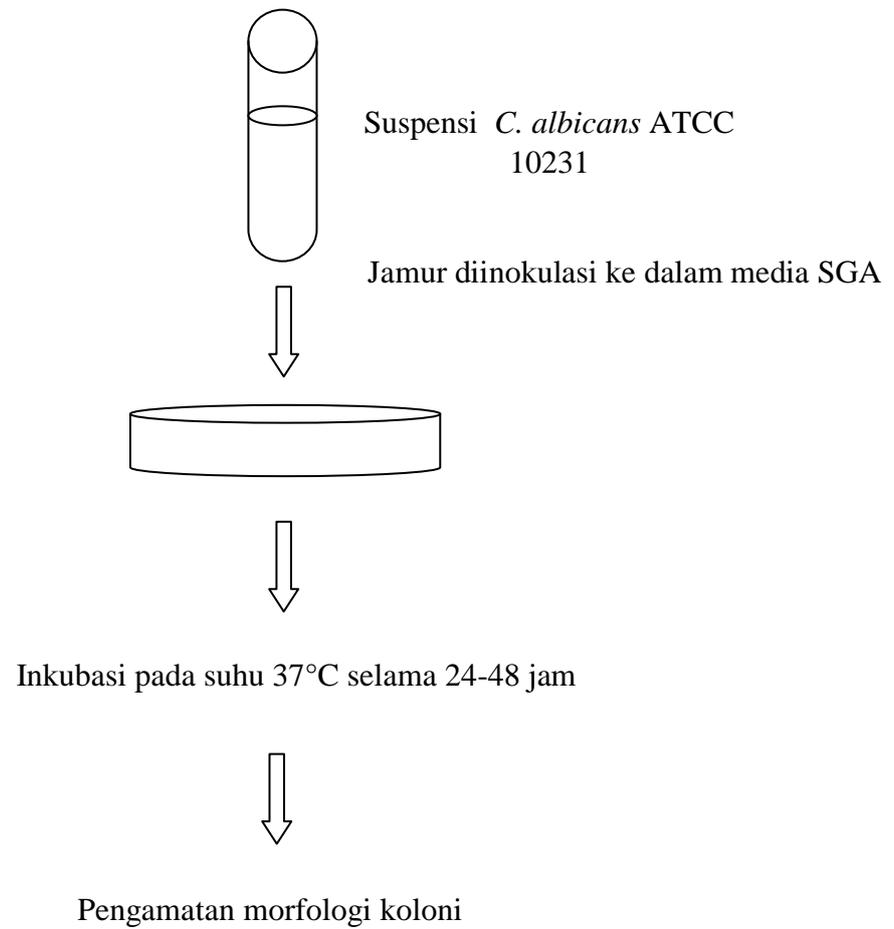
E. Skema Jalannya Penelitian



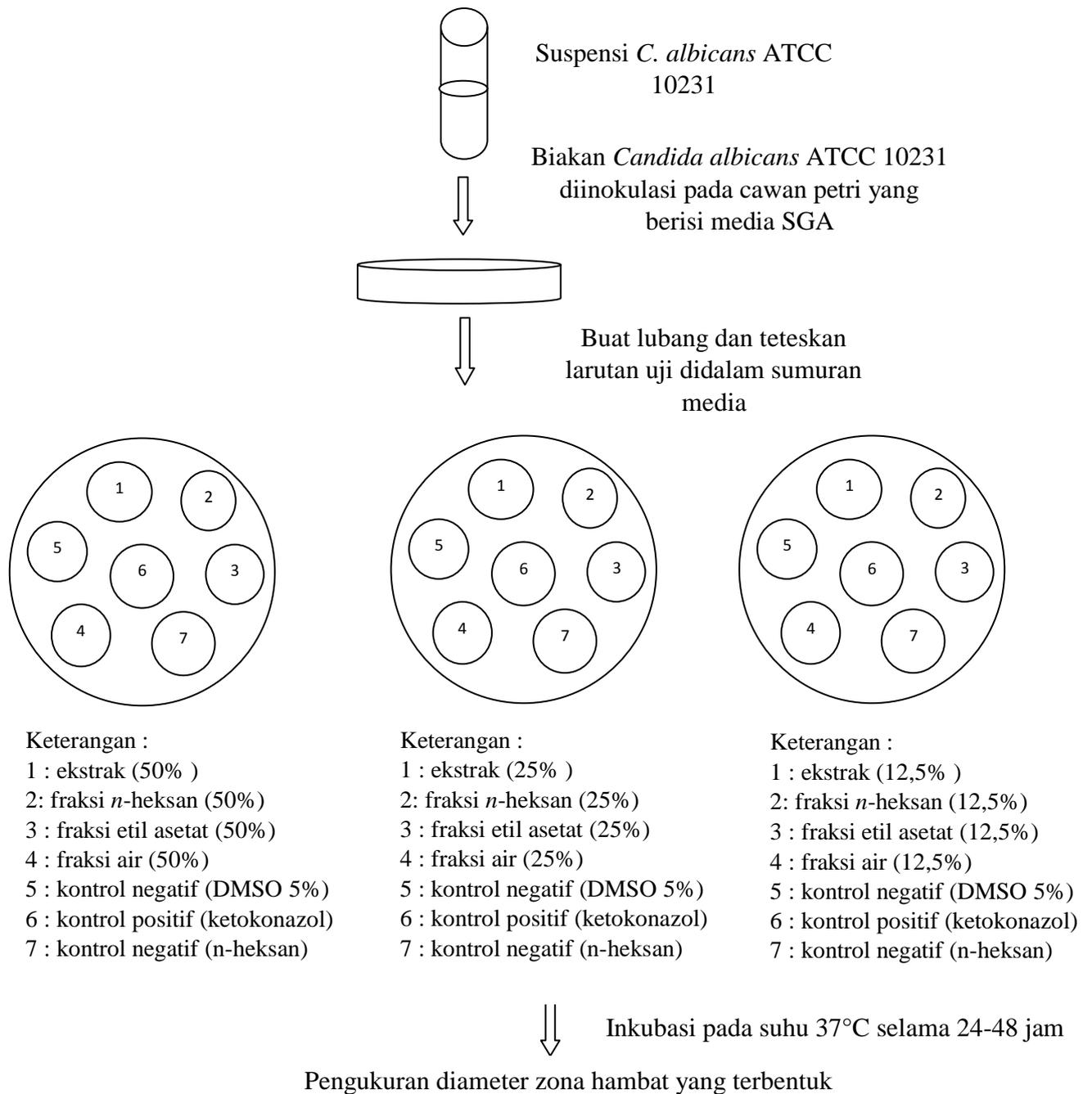
Gambar 1. Skema pembuatan ekstrak etanolik dan fraksinasi daun ungu



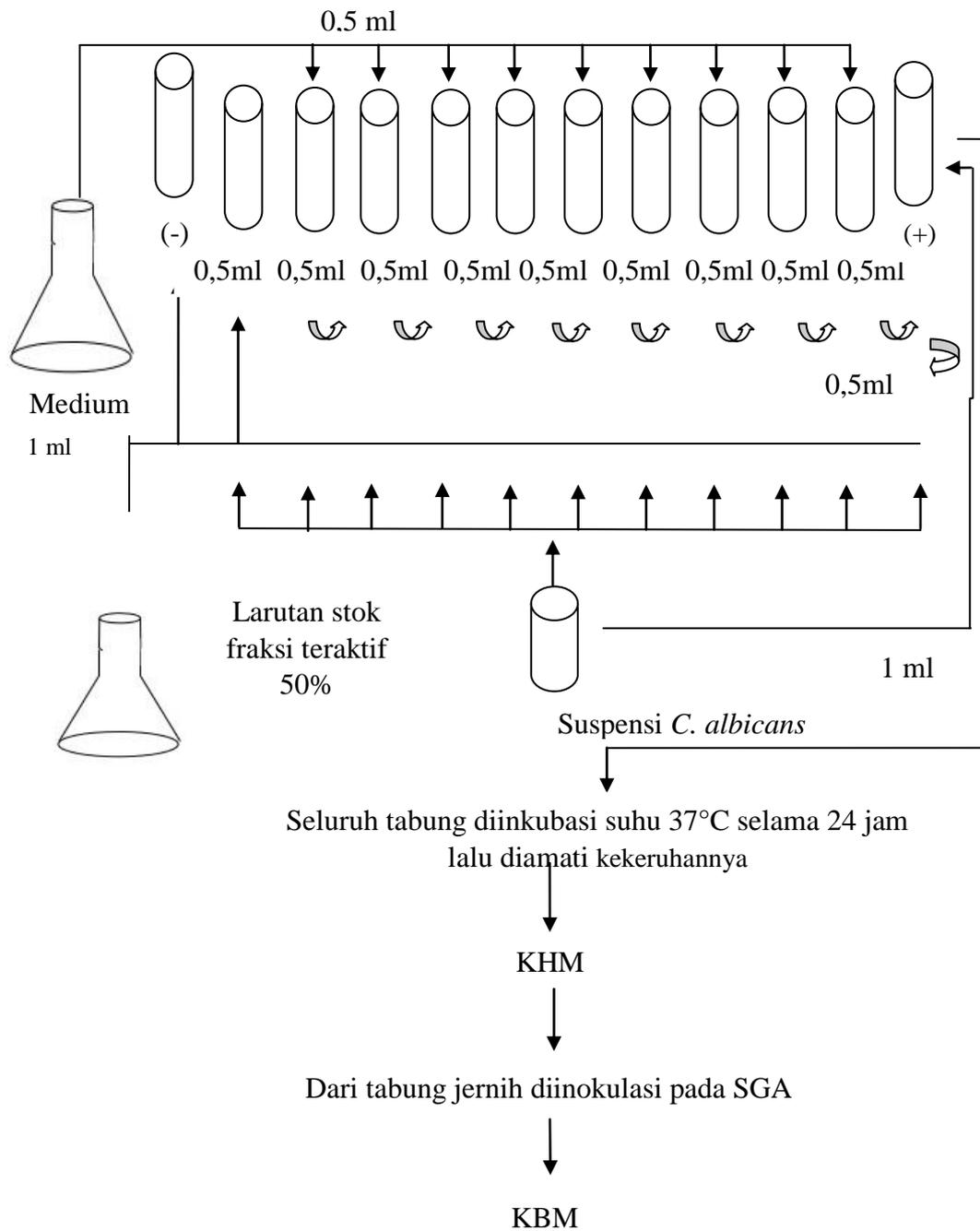
Gambar 2. Skema pembuatan suspensi jamur uji



Gambar 3. Skema identifikasi jamur secara makroskopis



Gambar 4. Skema kerja uji aktivitas daun ungu terhadap *C. albicans* ATCC 10231 secara difusi.



Gambar 5. Skema kerja uji aktivitas fraksi teraktif ekstrak daun ungu terhadap *C. albicans*

ATCC 10231 secara dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Determinasi tanaman

Proses determinasi tanaman daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) dilakukan di Laboratorium Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT). Perlu dilakukannya determinasi untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam penelitian agar terhindarnya kesalahan dalam pengumpulan bahan penelitian. Hasil determinasi berdasarkan : Backer dan Van Den Brink (1965)

1a_2b_7b_32b_33a_____43.*Graptophyllum*1_____
_____ ***Graptophyllum pictum* (L.) Griff.**

Berdasarkan hasil determinasi, tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar daun daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun ungu

2.1. Pengumpulan Bahan. Daun ungu yang diambil adalah daun kering yang telah berbentuk simplisia. Simplisia menurut (DepKes RI, 1985) adalah bahan alami yang digunakan untuk obat dan belum mengalami perubahan proses apa pun, dan kecuali dinyatakan lain umumnya berupa bahan yang telah dikeringkan. Daun ungu kering diperoleh dari Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TOOT) Tawangmangu, yang diambil pada bulan November 2016.

2.2. Pengeringan dan Penyerbukan Daun Ungu. Daun ungu dicuci bersih dengan air mengalir, lalu dikeringkan. Pengeringan bertujuan untuk mengurangi kadar air dalam daun ungu, sehingga dapat mencegah terjadinya kerusakan simplisia oleh jamur dan mikroorganisme lainnya. Daun ungu yang sudah kering kemudian dibuat serbuk dengan tujuan memperkecil ukuran partikel sehingga mempermudah pelarut dan penyarian yang berlangsung secara efektif.

Serbuk yang digunakan adalah serbuk halus yang diayak menggunakan ayakan no. 40 agar serbuk daun ungu terbebas dari pengotor. Hasil rendemen pengeringan

daun ungu dapat dilihat pada tabel 1. Perhitungan pengeringan daun ungu dapat dilihat pada lampiran 7.

Tabel 1. Persentase bobot kering terhadap bobot basah daun ungu

Bobot Basah (gram)	Bobot Kering (gram)	Rendemen (%)
30.000	3000	30

3. Penetapan kadar air serbuk daun ungu

Sterling Bidwell merupakan metode yang digunakan dalam penetapan kadar air serbuk daun ungu. Penetapan kadar air dimaksudkan untuk mengetahui persentase kadar air yang terkandung dalam daun ungu sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan mikroorganisme lain yang dapat merusak kualitas bahan uji. *Sterling Bidwell* dilakukan dengan memanaskan serbuk daun ungu yang dilarutkan dalam xylene dalam labu alas bulat. Pada pemanasan tersebut, keluar uap dari campuran serbuk dan xylene yang mengembun kembali dengan pendinginan. Airnya memisah karena berat jenis air lebih besar dari berat jenis pelarut sehingga air terdapat pada lapisan bawah yang kemudian diukur sebagai kadar air. Persentase kadar air yang baik adalah kurang dari 10%. Hasil penetapan kadar air dapat dilihat pada tabel 2. Perhitungan penetapan kadar air dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 2. Penetapan kadar air serbuk daun ungu

Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
20	1,8	9,0
20	1,6	8,2
20	1,6	8,2
Rata - rata		8,33%

Hasil rata-rata persentase penetapan kadar air serbuk daun ungu yang didapat adalah 8,33%, memenuhi syarat (Depkes RI 1979) yaitu kurang dari 10% sehingga serbuk daun ungu dapat digunakan untuk penelitian.

4. Pembuatan ekstrak etanol daun ungu

Metode yang digunakan dalam ekstraksi ini adalah maserasi. Metode maserasi digunakan karena daun ungu memiliki senyawa yang tidak tahan terhadap pemanasan. Maserasi dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan terlarut karena adanya perbedaan

konsentrasi antara larutan zat aktif dalam sel dengan diluar sel. Maka larutan yang terpekat akan terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Depkes, 1986). Cairan penyari yang digunakan adalah etanol 96% karena etanol merupakan pelarut yang dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan non polar. Hasil rendemen ekstrak etanolik daun ungu dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak daun ungu

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	72	14,4
1000	117,1	11,71
1000	120,3	12,03

5. Fraksinasi ekstrak etanol daun ungu

Hasil ekstrak etanolik daun ungu selanjutnya dilakukan fraksinasi yang bertujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritas senyawa. Dalam proses fraksinasi penelitian ini digunakan pelarut *n*-heksan, etil asetat dan air. Masing-masing pelarut mempunyai sifat yang berbeda. *N*- heksan bersifat non polar, etil asetat bersifat semi polar, serta air memiliki sifat yang polar. Fraksinasi *n*-heksan dan etil asetat direplikasi sebanyak 3 kali agar senyawa tertarik sempurna kedalam masing masing pelarutnya. Hasil dari fraksi *n*-heksan dan etil asetat terletak diatas sedangkan fraksi air terletak dibawah, karena air memiliki berat jenis yang lebih besar dibanding *n*-heksan dan etil asetat. Hasil fraksinasi daun ungu dapat dilihat pada tabel 4.

Perhitungan rendemen fraksinasi dapat dilihat pada lampiran 10.

Tabel 4. Hasil fraksi ekstrak daun ungu

Senyawa	Bobot ekstrak (gram)	Bobot fraksi (gram)	Rendemen (%)
<i>n</i> -heksan	340	121,490	35,642
Etil Asetat	340	14,191	4,163
Air	340	139,648	40,969

Hasil diatas menunjukkan rendemen yang dihasilkan dari setiap fraksinasi berbeda-beda dikarena sifat masing-masing pelarut yang berbeda dalam melarutkan senyawa kimia. Hasil fraksi yang paling banyak adalah air bersifat polar dan kandungan senyawa daun ungu banyak yang bersifat polar.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif daun ungu

Identifikasi senyawa kimia untuk mengetahui senyawa yang terkandung dalam daun ungu dilakukan terhadap serbuk, ekstrak dan fraksi dari daun ungu. Hasil identifikasi serbuk dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil identifikasi senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun ungu

Kandungan senyawa kimia	Serbuk	Ekstrak	Keterangan	
			Serbuk	Ekstrak
Saponin	Busa stabil	Busa stabil	+	+
Steroid	hijau kehitaman	Hijau hitam	+	+
Flavonoid	Jingga	Terbentuk warna jingga terang	+	+
Alkaloid	Mayer : endapan putih	Mayer : endapan putih	+	+
	Dragendorff : jingga	Dragendorff : jingga	+	+
Tanin	hijau kehitaman	hijau kehitaman	+	+

Tabel diatas menunjukkan hasil yang sesuai dengan penelitian Thomas (1992) tentang kandungan kimia yang dimiliki daun ungu antara lain adalah flavonoid, tanin, alkaloid, steroid, saponin. Hasil dari fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air digunakan untuk menguji kandungan senyawa kimia. Fraksi *n*-heksan terbukti menarik senyawa golongan steroid. Untuk fraksi etil asetat dapat menarik steroid, alkaloid dan flavonoid. Fraksi air dapat menarik senyawa golongan saponin, tannin dan alkaloid pada senyawa dragendorff. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dapat dilihat pada tabel 6.

Tabel 6. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi

Kandungan senyawa kimia	Hasil			Keterangan		
	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksan	Etil asetat	Air
Saponin	terbentuk busa	terbentuk busa	Busa stabil	-	-	+
Tanin	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	Hitam	-	-	+
Flavonoid	Hijau tua	jingga	jingga	-	+	-
Alkaloid	Mayer : kuning muda	Mayer : tidak ada endapan	Mayer : endapan putih	-	+	-
	Dragendorff : endapan hijau	putih Dragendorff : jingga	Dragendorff : jingga	-	+	+
Steroid	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman	jingga	+	+	-

7. Uji bebas etanol ekstrak daun ungu

Uji bebas etanol bertujuan untuk membuktikan bahwa ekstrak etanolik daun ungu sudah benar-benar bebas dari etanol, sehingga saat dilakukan uji terhadap jamur dapat dipastikan bukan etanol yang membunuh jamur. Uji bebas etanol dilakukan dengan cara esterifikasi etanol, ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak ada etanol (Depkes 1987). Hasil uji menunjukkan bahwa ekstrak sudah tidak mempunyai bau etanol sehingga ekstrak dapat digunakan untuk uji antijamur.

8. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi jamur *Candida albicans* dilakukan untuk meyakini bahwa jamur yang digunakan adalah benar. Identifikasi *Candida albicans* dari biakan murni ditanam pada media SGA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam yang akan terbentuk koloni berwarna krem, timbul diatas permukaan media, permukaan koloni halus dan licin, dan berbau khas ragi dari sel tunas yang berkembang . (Jawetz, 2004). Hasil identifikasi secara makroskopis dapat dilihat pada lampiran 6.

Pada proses identifikasi biokimia dengan proses fermentasi, dilakukan pemeriksaan asam dan fermentasi, jamur ini menunjukkan hasil terbentuknya gas dan asam pada glukosa dan maltosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak terbentuknya asam dan gas pada laktosa yang diamati pada tabung durham. (Jawetz *et al.* 1986). Hasil uji biokimia dapat dilihat pada lampiran 6. Berdasarkan dari hasil pengujian identifikasi yang telah dilakukan kemudian dibandingkan dengan pustaka menunjukkan bahwa jamur yang digunakan adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

9. Pengujian aktivitas antijamur secara difusi

Ekstrak dan fraksi dari daun ungu, diuji aktivitas antijamurnya terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Pengujian aktivitas antijamur tersebut dilakukan dengan metode difusi dan dilusi. Metode difusi dilakukan untuk mengetahui zona hambat yang dapat dibentuk oleh ekstrak dan fraksi dari daun ungu. Pada uji difusi digunakan beberapa konsentrasi, yaitu ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air masing-masing dengan konsentrasi 50%, 25%, dan 12,5%. Sebagai kontrol positif digunakan ketokonazole 2% dan DMSO 5% serta *n*-heksan sebagai kontrol

negatif. Ketokonazol bekerja dengan cara menginhibisi enzim sitokrom P-450, C-14- α -demethylase yang bertanggungjawab mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Hal ini mengakibatkan dinding sel jamur menjadi lebih permeabel dan terjadi penghancuran sel jamur (Kuswadi, 2001).

Kekeruhan suspensi jamur uji disesuaikan dengan standard Mc Farland 0,5. Metode difusi dilakukan dengan menggunakan metode sumuran, dengan membuat lubang sumuran pada media SGA menggunakan boor prop. Dengan menggunakan pipet mikro sebesar 50 μ l, ditetaskan ekstrak dan fraksi dengan konsentrasi tertentu kedalam lubang sumuran yang telah dibuat. Kemudian inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C, hasil yang diperoleh akan menghasilkan zona hambat disekitar daerah sumuran yang dihitung diameternya dalam ukuran mm. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media agar (Pratiwi, 2008). Hasil uji aktivitas antijamur metode difusi dapat dilihat pada tabel 8. Foto hasil metode difusi dapat dilihat pada lampiran 15.

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

Sediaan uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) \pm SD
		Replikasi			
		1	2	3	
Ekstrak	50%	13	12	12	12,3 \pm 0,57
	25%	11	9	11	10,33 \pm 1,15
	12,5%	6	5	9	6,67 \pm 2,08
Fraksi <i>n</i> -heksan	50%	13	12	15	13,3 \pm 1,53
	25%	12	9	11	10,7 \pm 1,527
	12,5%	9	7	7	7,67 \pm 1,15
Fraksi etil asetat	50%	23	25	28	25,3 \pm 2,52
	25%	18	22	20	20 \pm 2
	12,5%	14	10	15	13 \pm 2,64
Fraksi air	50%	18	19	22	19,67 \pm 2,08
	25%	14	13	17	14,67 \pm 2,08
	12,5%	12	9	11	10,67 \pm 1,53
Ketokonazol	2%	35	32	34	33,67 \pm 1,53
DMSO	5%	0	0	0	0 \pm 0
N-heksan		0	0	0	0 \pm 0

Hasil pengujian aktivitas anti jamur menunjukkan bahwa ekstrak etanolik, fraksi *n*-heksan, etil asetat, serta air dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231. Hal ini ditunjukkan dari terbentuknya zona hambat yang jernih di

sekeliling daerah lubang sumuran. Fraksi etil asetat konsentrasi 50% memiliki daya hambat yang paling aktif diantara fraksi lainnya dan ekstrak etanolik daun ungu.

Hasil difusi antijamur dianalisis secara statistik Analisis of Varian (ANOVA) *oneway*. Metode tersebut digunakan untuk membandingkan fraksi, ekstrak dan kontrol yang diujikan pada *Candida albicans* ATCC 10231. Analisis data dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan yang signifikan antara fraksi, ekstrak, dan kontrol yang diuji aktivitas antijamurnya. Hasil uji *One-Sample Kolmogorove-Sminov* menunjukkan untuk ekstrak dan fraksi konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% mempunyai nilai signifikansi $> 0,05$ sehingga H_0 diterima, dan data tersebut terdistribusi normal sehingga dapat dilanjutkan uji ANOVA.

Uji ANOVA konsentrasi 50% pada tabel Homogeneity, didapatkan sig. sebesar $0,293 > 0,05$ sehingga menunjukkan bahwa konsentrasi 50% adalah *homogeny*. Dan dari tabel *Tukey*, hasil menunjukkan adanya tanda * pada *Mean Difference* yang menunjukkan perbedaan yang signifikan pada ekstrak terhadap fraksi etil dan fraksi air konsentrasi 50% atau sebaliknya, tetapi tidak adanya perbedaan yang signifikan antara ekstrak 50% dengan fraksi n-heksan 50%. Pada uji ANOVA konsentrasi 25% dan 12,5% tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara ekstrak 25%, 12,5% terhadap fraksi n-heksan dan fraksi air konsentrasi 25% dan 12,5%, tetapi semua fraksi dan ekstrak konsentrasi 25%, 12,5% memiliki perbedaan yang signifikan bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat. Hasil analisis *Tukey test* dan *Bonferroni test* dapat dilihat pada lampiran 19.

Hasil uji ANOVA menunjukkan adanya daya hambat yang dihasilkan berbeda-beda. Fraksi etil asetat dinilai paling aktif terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 beberapa senyawa yang dapat bersifat sebagai antijamur. Dari hasil identifikasi senyawa dengan menggunakan tabung, diketahui bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, alkaloid dan steroid. Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga dapat meningkatkan permeabilitas membran sel jamur. Denaturasi protein yang terjadi menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga dapat merubah komposisi komponen protein. Fungsi membran sel yang terganggu dapat mentebabkan meningkatnya

permeabilitas sel, sehingga mengakibatkan kerusakan sel jamur. Kerusakan tersebut menyebabkan kematian sel jamur *Candida albicans*.

Fraksi *n*-heksan memiliki daya hambat yang kurang optimum pada jamur uji, kemungkinan disebabkan karena senyawa yang terlarut oleh *n*-heksan yaitu steroid sehingga aktivitas antijamur masih rendah. Pada fraksi air terlarut senyawa saponin, tannin dan alkaloid. Menurut Hopkins (1999), saponin mempunyai kerja merusak membran plasma jamur. Senyawa saponin dapat merusak sel membran sitoplasma *Candida Albicans* dengan cara meningkatkan permeabilitas membran jamur. Saponin dapat terkondensasi pada permukaan suatu benda atau cairan dikarenakan memiliki gugus hidrokarbon yang larut lemak, sehingga dapat menyebabkan sel-sel pada sitoplasma lisis. Dan seperti yang dijelaskan oleh Agnol *et. al.*, (2003) bahwa tanin telah dibuktikan dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin (suatu protein lengkap), yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel.

DMSO 5% dan *n*-heksan digunakan sebagai kontrol negatif karena pelarut ini sebagai pelarut yang digunakan untuk pembuatan seri konsentrasi fraksi dan ekstrak. *N*-heksan tidak dapat menghambat pertumbuhan *Candida Albicans*. Konsentrasi DMSO kurang dari 2% tidak efektif dalam mempreservasi mikroalga, sedangkan menurut Day & Brand (2005) apabila konsentrasi DMSO lebih dari 12% akan menyebabkan toksik bagi mikroalga. Sehingga DMSO 5% terbukti tidak membentuk daya hambat dalam penggunaannya sebagai pelarut dalam pembuatan seri konsentrasi.

10. Pengujian Aktivitas Antijamur secara Dilusi

Dari hasil pengujian difusi, diambil konsentrasi paling aktif untuk dilakukan pengujian antijamur secara dilusi. Fraksi paling efektif adalah fraksi etil asetat konsentrasi 50%. Metode dilusi berguna untuk mencari KHM dan KBM menggunakan sediaan fraksi paling aktif yaitu fraksi etil asetat daun ungu. Seri konsentrasi yang digunakan yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,563%, 0,781%, 0,391%, 0,196%, 0,098%, kontrol (+) dan kontrol (-). Digunakan pembandingan pada uji dilusi yaitu ketokonazol. Konsentrasi ketokonazol yang

digunakan dalam uji dilusi adalah 2%,1%, 0,5%, 0,25%, 0,125%, 0,0625%, 0,031%, 0,015%, 0,007%, 0,03%, kontrol (+) dan kontrol (-).

Hasil uji dilusi yang terdapat dalam tabung, diamati kekeruhannya. KHM dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih,tetapi akan sulit untuk menentukan kekeruhan karena warna dari media SGC yang berwarna coklat. Sehingga untuk menentukan KBM sampel larutan uji dilakukan penggoressan pada media SGA yang diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 10. Foto hasil uji dilusi fraksi etil asetat dapat dilihat pada lampiran 16 dan uji dilusi ketokonazol pada lampiran 17.

Tabel 9. Hasil uji dilusi fraksi etil asetat daun ungu dan ketokonazol

No	Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat Replikasi			Konsentrasi (%)	Ketokonazol Replikasi		
		I	II	III		I	II	III
1	50	-	-	-	2	-	-	-
2	25	-	-	-	1	-	-	-
3	12,5	-	-	-	0,5	-	-	-
4	6,25	+	+	+	0,25	-	-	-
5	3,125	+	+	+	0,125	-	-	-
6	1,56	+	+	+	0,0625	-	-	-
7	0,78	+	+	+	0,017	-	-	-
8	0,39	+	+	+	0,08	-	-	-
9	0,19	+	+	+	0,04	-	-	-
10	0,09	+	+	+	0,02	+	+	+
11	K (+)	+	+	+	K (+)	+	+	+
12	K (-)	-	-	-	K (-)	-	-	-

Keterangan:

(+) = terdapat pertumbuhan jamur

(-) = tidak terdapat pertumbuhan jamur

Tabel diatas menunjukkan bahwa fraksi daun ungu dapat menghambat aktivitas *Candida albicans* ATCC 10231 sampai dengan konsentrasi 12,5%, sedangkan ketokonazol mampu membunuh hingga konsentrasi 0,04 %. Sesuai dengan yang dikemukakan oleh Pelczar & Chan (1998) bahwa keefektifan suatu senyawa antijamur dipengaruhi beberapa faktor diantaranya adalah konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi semakin meningkat pula daya antimikroba, sebab dengan konsentrasi tinggi memungkinkan penyebaran zat-zat dalam menghambat atau membunuh mikroorganisme semakin efektif.

Ketokonazole mampu menghambat pertumbuhan jamur hingga konsentrasi 0,04% karena ketokonazol termasuk kedalam antibiotik spektrum luas yang memiliki toksisitas tinggi terhadap mikroba tetapi tidak toksik untuk manusia dan sudah melewati uji klinis. Sehingga tidak diragukan lagi aktivitas antijamur ketokonazol bila dibandingkan dengan fraksi etil asetat. Dan fraksi asetat konsentrasi tinggi belum dapat menyamai aktivitas ketokonazol konsentrasi kecil.

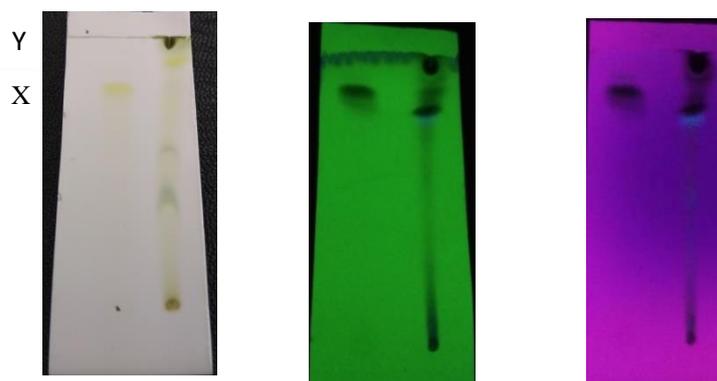
Hasil uji difusi dan dilusi menunjukkan bahwa fraksi etil asetat merupakan fraksi paling aktif meskipun mempunyai hasil rendemen yang lebih sedikit dibandingkan dengan fraksi n-heksan dan air. Sehingga dapat diketahui bahwa rendemen fraksi yang didapatkan tidak linear dengan aktivitas antijamur yang dihasilkan.

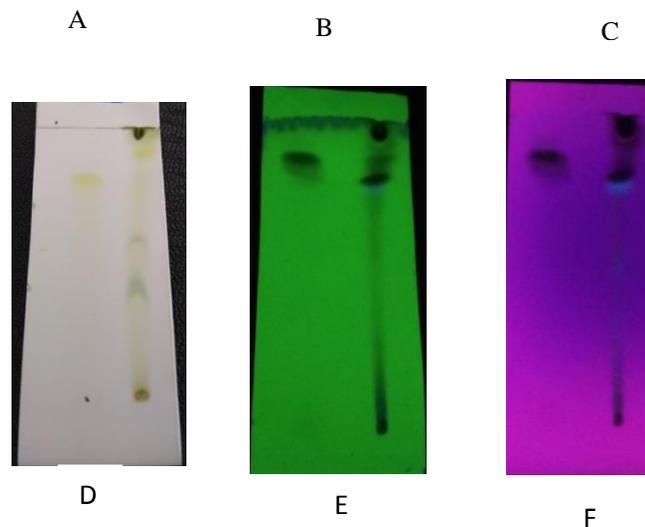
11. Hasil Identifikasi Fraksi Teraktif dengan KLT

Fraksi yang terbukti paling efektif kemudian dianalisa senyawa yang terkandung didalamnya dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Prinsip KLT yaitu perpindahan analit pada fase diam karena pengaruh fase gerak. Proses ini biasa disebut elusi. Identifikasi KLT dilakukan terhadap senyawa flavonoid yang benar terbukti mempunyai aktivitas antijamur. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat dapat dilihat pada gambar 9.

Tabel 10. Hasil identifikasi flavonoid daun ungu fraksi etil asetat secara KLT

Sampel cuplikan	Rf	UV ₂₅₄	UV ₃₆₆	Pereaksi Sitroborat	Fluorsensi	Ket.
quercetin	0,8	Meredam	Meredam	Kuning		+
Sampel	0,78	Meredam	Kuning	Kuning kecoklatan	Biru	+





Gambar 6. Profil kromatogram senyawa flavonoid, a) sinar tampak; b) UV 254 sebelum disemprot; c) UV 366 sebelum disemprot; d) sesudah disemprot sitroborat; e) UV 254 sesudah disemprot; f) UV 366 sesudah disemprot; x) standart quercetin; y) fraksi etil asetat

Identifikasi senyawa flavonoid dengan KLT diamati pada UV_{254} dan UV_{366} sebelum dan sesudah disemprot dengan sitroborat. Sitroborat yang terbuat dari asam borat dan asam sitrat dalam etanol, menghasilkan bercak warna biru pada UV_{366} yang sebelum penyemprotan tak tampak. Pada UV_{254} tidak terjadi perubahan warna kuning yang menunjukkan adanya peredaman.

Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254 (Merck) karena pada umumnya silika digunakan untuk memisahkan senyawa asam-asam amino, fenol, alkaloid, asam lemak, sterol dan terpenoid. Eluen yang baik ialah eluen yang bisa memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak yang ditandai dengan munculnya noda. Noda yang terbentuk tidak berekor dan jarak antara noda satu dengan yang lainnya jelas (Harborne, 1987). Eluen yang digunakan adalah etil : n-heksan : asam formiat (1 : 3 : 4 tetes) dengan pembanding quersetin. Penampakan bercak warna kuning sesuai dengan pembanding dengan nilai R_f 0,78. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid secara KLT dinyatakan

positif karena terdapat kesamaan hasil pengamatan dengan pustaka (Harborbe 1987).

Identifikasi flavonoid dengan KLT diatas menunjukkan bahwa dalam daun ungu positif mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan golongan terbesar dari senyawa polifenol. Flavonoid bekerja dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membrane sel. Denaturasi menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein (Wahyuningtyas, 2008). Flavonoid dapat bertindak sebagai antijamur karena mempunyai fenol yang dapat mendenaturasi protein dan dapat merusak membrane sel yang bersifat irreversible (Dewi, 2009). Semakin lipofilik suatu flavonoid maka akan semakin mudah melekat pada dinding sel jamur dan dapat mengakibatkan kerusakan dinding sel (Walson, dkk., 2007)

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian aktivitas antijamur yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, etil asetat dan air dari daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, fraksi etil asetat 50% dari ekstrak etanolik daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 sampai 28mm.

Ketiga, fraksi etil asetat mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan nilai KBM 12,5%.

B. Saran

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat ekstrak etanolik daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang aktivitas antijamur atau antibakteri dari fraksi etanolik daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.)

DAFTAR PUSTAKA

- Agnol R, Ferraz A, Bernardi AP, Albring D, Nor C, Sarmiento L, Lamb L, Hass M. 2003. Antimicrobial Activity of some *Hypericum* species. *Journal of Phytomedicine* 10: 141-147.
- Ajizah, A. 2004. *Sensitivitas Salmonelly Typhimurium terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L.* Bioscientiae Vol 1, pp : 8-31.
- Ansel HC. 1989. *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV. Jakarta: Universitas Indonesia Press. Jakarta.
- Arifatin, L.R. 1999. *Kajian Flavonoid Daun Graptophyllum pictum Griff (DaunWungu) Sebagai Analgesik danAntiinflamasi Pada Tikus (Rattus rattus strain Wistar)*. Skripsi.Jurusan Biologi FMIPA Unibraw.
- Asmaedy, S. 1991. *Uji Mikroorganisme Terhadap Lengkuas Yang Digunakan Sebagai Antijamur*. Pusat Penelitian Universitas Andalas, Padang, hal 14- 35
- Basset, J, et al. 1994. *Buku Ajar Vogel: Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.
- Bonang, Koeswardono ES. 1982. *Mikrobiologi Kedokteran Untuk Laboratorium dan Klinik*. Jakarta: Fakultas Kedokteran Unika Atmajaya, PT Gramedia.
- Bose, S. 2008. *Antimicrobial Activity of Acanthus ilicifolius (L.)*. Department of Pharmacognosy, Gupta College of Technological Sciences, College of Pharmacy Ashram More, G. T. Road, Asansol-713 301. India.
- Budimulja, U., Sunoto dan A.Tjokronegoro. 1983. *Penyakit Jamur: Klinis Epidemiologi Diagnosis dan Terapi*. Jakarta: Fakultas Kedokteran UI
- Burow, M.E, et al. 2001. *Phytochemical Glycoellins, Isolated from Soy, Mediate Antihormonal Effects Through Estrogen Receptor α and β* . *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. Vol. 86. No. 4. U.S.A. p. 1750-1757.
- Cannas, A. 2001. *Tannins*. Animal Science at Cornell University.

- Cheeke P. R. 2000. Actual and potential applications of *Yucca schidigera* and *Quillaja saponaria* saponins in human and animal nutrition. *Proceedings of the American Society of Animal Science, American Society of Animal Science* 1-10.
- [Depkes Kesehatan RI]. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes Kesehatan RI]. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes Kesehatan RI]. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid 1. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia. Jilid 1*. Penerbit Trubus Agriwijaya. Jakarta.
- Day, J, G.,E.E. Benson & R. A. Fleck. 1999. In Vitro Culture and Conservation of Microalgae: Application for aquaculture, biotechnology and Environmental research. *I Vitro Cell. Dev Biol.* Plant 35: 127—136.
- Depkes, 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*: Jakarta. Departemen Kesehatan RI.
- Depkes. 2008. *Daun Ungu (Graptophyllum Pictum (L) Griff), dalam Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol. 14. Bogor.
- Dewi, R.C. 2009. *Uji aktivitas antijamur ekstrak buah pare belut (trichosanthes anguina L)*. Universitas sebelas Maret.
- Djamil, Ratna, Desfonda, Lissa. 2010. “*Isolasi Dan Identifikasi Jenis Senyawa Flavonoid Dalam Fase N-Butanol Dari Ekstrak Metanol Daun Daruju (Acanthus Illicifolius Linn.), Acanthaceae*”. Faculty Of Pharmacy Pancasila Universitas Jakarta.
- Djarwis, D. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan Berkelanjutan*. FMIPA Universitas Andalas Padang.

- Doerge, Robert F. 1982. *Buku Teks Wilson and Gisvold Kimia Farmasi dan Medisinal Organik II Edisi 8*. IKIP Semarang Press Semarang. Hal: 858.
- Donald, I. Patt & Gail, R. Patt. 1975. *An Introduction to Modern Genetics*. Philippines: Addison-Wesley. p179
- Frobisher & Fuersts. 1983. *Microbiology in Health and Diseases* Ed 15th. International Edition
- Ganiswara, G., S. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Gaya Baru. Jakarta.
- Gunawan, D. dan S. Mulyani. 2004. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)* Jilid 1. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Gunawan SG. 2007. *Farmakologi dan Terapi*. ED. 5. UI Press, Jakarta.
- Gritter, Roy, J, dkk. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Bandung : ITB
- Harborne JB. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Kosasis P, Iwang S. Penerjemah; Sofia N, editor. Bandung: ITB. Terjemahan dari: Phytochemical Methods.
- Heinrich, *et al.* 2005. *Farmakognosi dan Fisioterapi*. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran.
- Hopskin, W.G. 1999. *Introduction to Plant Physiology*. Toronto : John Wiley and Sons, Inc.
- Isnawati, Ani. 2003. *Pemeriksaan Senyawa – Senyawa Turunan Fenol Daun Handeuleum (Grraptophyllum Pictum (L) Griff.* Media Litbang Kesehatan Volume XIII Nomor 1 Tahun 2003.
- Ivan P. E. P. 2003. *Khasiat & Manfaat Sambiloto. Raja Pahit Penakluk Aneka Penyakit*. Jakarta : Agromedia. P. 1 – 15.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2005. *Mikologi Kedokteran*. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga , 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2004. *Mikrobiologi Kedokteran Ed. 23*, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta, hal 233,235.

- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2005. *Mikologi Kedokteran*. Dalam: Sjabana D editor. *Mikrobiologi Kedokteran. 1st ed*. Jakarta: Salemba Medika;. p. 313-59 [Kementrian Kesehatan RI]. 2013. *Suplemen III Farmakope Herbal Indonesia edisi I*. Jakarta: Kementrian Kesehatan Republik Indonesia. Hlm 100-101.
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2007. *Medical Mikrobiology 2thEd*. The McGraw Hill Companies, USA.
- Jones, W. P. dan Kinghorn, A. D. 2006. *Extraction of Plant Secondary Metabolites*. In: Sarker, S. D. editors. *Natural Products Isolation, Second Edition*. New Jersey : Humana Press. P. 341-342.
- Kurniawan, D. W., T.N. Saifullah. 2009. *Teknologi Sediaan Farmasi*. Graha Ilmu. Yogyakarta.
- Kuswadji, Widaty S. 2001. *Obat Anti Jamur, Studi Dermatmikosis Indonesia*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta.
- Lenny S. 2006. *Senyawa Flavanoida, Fenilpropanoida dan Alkaloida*. Karya Ilmiah Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lenny S. 2006. *Senyawa flavonoida, fenilpropanoida dan alkaloida [karya ilmiah]*. Medan. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sumatera Utara.
- Mahapatra, A.K. and C.N. Nguyen. 2009. *Drying Of Medical Plant*. ISHS Acta Horticulturae 756: Internasional Symposium on Medical and Neutraceutical Plants
- Manjang, Y. 2004. *Teknik Penelitian Kimia Organik Bahan Alam, Workshop Peningkatan Sumber Daya Manusia Penelitian dan Pengelolaan Sumber Daya Hutan Berkelanjutan*. FMIPA Universitas Andalas Padang.
- Muhlisah, F. 2005. *Tanaman Obat Keluarga*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Muller, J and Heindl. 2006. *Drying Of Medical Plants In R.J. Bogers, L.E. Cracer, and D> Lange (eds)*, Medical and Aromatic Plant, springer, The Netherland, p.237-252
- Nala, Abu (2003). *Manfaat Apotik Hidup* (dalam Indonesia). Temanggung: Bina Karya.

- Pramono, S. 2006. *Penanganan Pasca Panen Dan Pengaruhnya Terhadap Efek Terapi Obat Alami*. Prosiding Seminar nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXVIII, Bogor, 15-18 Sept.2005. Hal 1-6
- Pratiwi ST. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Penerbit Airlangga.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jilid 2. Penerjemah Ratna Siri hadioetomo, dkk. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Rachmaniar, P., Cabeza, M, Barteoff, G. Garcia. 2004. *Reductase Inhibition Activity of Steroids Isolated from Marine Soft Corals*. Steroids.
- Robinson T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tingkat Tinggi*. Kosasih Padwawinata, penerjemah, Bandung, Institut Teknologi Bandung.
- Santoso, S. 2005. *Metodelogi penelitian kuantitatif & kualitatif*. Jakarta. Prestasi Pustaka Publisher.
- Saputri IK. 2014. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kelapa Sawit (*Elais guineensis* Jacq) Dan Fraksi–Fraksinya Terhadap *Pseudomonas aeruginosa* Serta Profil KLTnya. Surakarta : Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sardjono, et al. 1995. *Depkes RI, Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi Balitbangkes, Tinjauan Hasil Penelitian Tanaman Obat di Berbagai Institusi*. Jilid III. Cetakan Pertama
- Setyowati, W.A.E, dkk. 2014. *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanil Kulit Durian (Durio Zibethinus Murr.) Varietas Petruk*. Jurnal Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia VI.
- Silamba NS. 2014. *Daya Hambat Tanaman Sarang Semut (Myrmecodia pendens) terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans [Skripsi]*. Makasar: Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Hassanudin.
- Siti Dumilah Suprihatin. *Candida dan Kandidiasis pada Manusia*. FKUI. Jakarta.1982
- Simatupang MM. *Candida albicans*. USU Repository; 2009.

- Smith EB. *The treatment of dermatophytosis : Safety considerations*. Journal of the American Academi of Dermatology, November 2000, part 3,volume 43, number 5.
- Soegihardjo. 2013. *Herbal Nusantara 1001 Ramuan Tradisional Asli Indonesia*. Yogyakarta.
- Soewolo. 1996. *Pengaruh Antibiotik Steroid terhadap Pembentukan Otot dan Kesehatan*. Chimera 1 hal 13-24.
- Stahl E. 1985.*Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Sodin, Bandung Penerbit ITB.
- Sudjadi.1988.*Metode Pemisahan*.Yogyakarta:Konsius
- Suhargo, Listijani. 2003. *Kajian Histologi Aktivitas Estrogenik Ekstrak Daun Handeuleum {Graptophyllum pictum (L.) Griff} Pada Saluran Reproduksi Mencit Betina*. Terovarietomi. Lembaga Penelitian Unair.
- Suriawiria, U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Suyoso Sunarso. 2013. *Kandidiasis Mukosa*. Departement/SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga dan RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- Suryono DR Bambang. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteriologi Klinik*. Kediri: AAK Bhakti Wiyata.
- Tjampakasari,C.R. 2006. *Karakteristik Candida albicans*. *Cermin Dunia Kedokteran No. 151*, 2006:33
- Thomas ANS. 1992. *Tanaman obat tradisional II*. Kanisius. Yogyakarta.h 9-10.
- Umi Kalsum, dkk. 1996. *Depkes RI, Penelitian Tanaman Obat di Beberapa Perguruan Tinggi di Indonesia*. Jakarta.
- Unandar Budimulya,(Ed.). 1983. *Penyakit Jamur Klinis Epidemiologi Diagnosis dan Terapi*. FKUI. Jakarta. Hal 25-31.

Vidotto, et al. 2003. *Adherence Of Candida Albicans and Candida Dubliniensis to Buccal and Vaginal Cells*. Rev Iberoam Micol., Torino.

Voight, R. 1971. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Yogyakarta : UGM pp. 560.

Wahyuningtyas, Endang. 2008. *Pengaruh Ekstrak Graptophyllum Pictum Terhadap Pertumbuhan Candida Albicans Pada Plat Gigi Tiruan Resin Akrilik*. Indonesian Journal Of Dentistry. 15(3): 187-191.

Walson, R.R., Preedy, V.R., 2007, *Botanical Medicine in Clinical Practice*, Cromwell Press, Cambridge.

Waluyo L. 2005. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammmadiyah Malang.

Yalun. 2009. *Teknik – Teknik Sterilisasi Bagian I Cairan dan Padatan*.

Lampiran 1. Hasil determinasi daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.)

DETERMINASI

Species : *Graptophyllum pictum* (L.) Griff
 Familia : Acanthaceae

Kunci determinasi (Backer dan van Den Brink, 1965):

1a_2b_7b_32b_33a _____ 43. *Graptophyllum*
 1 _____ *Graptophyllum pictum* (L.) Griff.

Pertelaan:

Perawakan semak atau perdu, tegak, tinggi mencapai 3 meter. Batang berkayu, cabang bersudut tumpul, berbentuk galah dengan berbuku-buku nyata. Daun tunggal, letak bersilang dan berhadapan, bentuk helaian bulat memanjang atau lanset, pangkal segitiga terbalik (pasak), ujung meruncing, tepi bergelombang, panjang helaian daun 8-20 cm, lebar 3-13 cm, warna daun ungu kehijauan, ungu bercak hijau, ungu bercak putih, atau hijau, panjang tangkai daun $\frac{1}{2}$ -1 cm. Bunga majemuk bentuk malai, letak di ujung cabang, panjang tangkai bunga $\frac{1}{2}$ - $\frac{3}{4}$ cm, kelopak berbagi 5, panjang 3 mm, segmen sempit, tabung mahkota melebar di bagian ujung, panjang 2-3 cm, segmen 5, warna merah tua.

Pawamangu, November 2016
 Penanggungjawab Determinasi,



Dyah Subositi, M.Sc
 NIP. 198308152006042003

Lampiran 2. Tanaman dan serbuk daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff.).



Lampiran 3. *Sterling-bidwell*, Inkubator, dan Evaporator



Sterling-bidwell



Evaporator



Inkubator

Lampiran 4. Maserasi dan hasil fraksi *n*-heksan dan etil asetat.

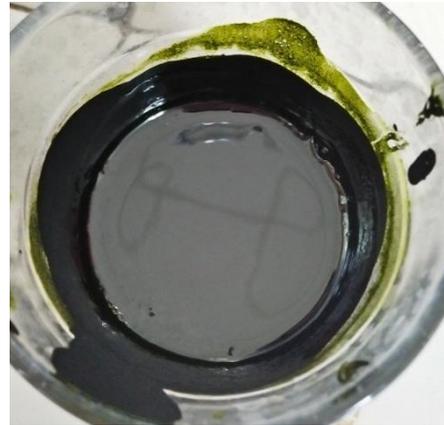


Fraksi etil asetat

Lampiran 5. Foto ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air



Ekstrak



Fraksi *n*-heksan



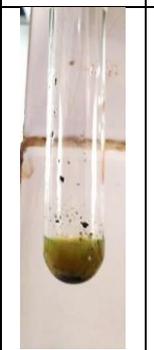
Fraksi etil asetat



Fraksi air

Lampiran 6. Foto hasil identifikasi

a. Identifikasi kandungan senyawa Serbuk, Ekstrak, dan fraksi

	saponin	tanin	alkaloid		flavonoid	steroid
			Dragendroff	Mayer		
Serbuk						
Ekstrak						
Fraksi n- heksan						

Fraksi etil asetat						
Fraksi air						

b. Identifikasi Makroskopi dan Biokimia *Candida Albicans* ATCC 10231



koloni berwarna
krem, bau
seperti ragi



Keterangan :
1. Glukosa
2. Maltosa
3. Sukrosa
4. Laktosa

Lampiran 7. Hasil perhitungan rendemen bobot kering terhadap bobot basah daun ungu

Bobot Basah	Bobot Kering	Rendemen
30 kg	3 kg	30%

$$\begin{aligned}\text{Perhitungan prosentase bobot kering} &= \frac{\text{bobot kering (kg)}}{\text{bobot basah (kg)}} \times 100\% \\ &= \frac{3}{30} \times 100\% \\ &= 30\% \text{ b/b}\end{aligned}$$

Lampiran 8. Hasil prosentase penetapan kadar air daun ungu dengan metode sterling bidwell

Bobot serbuk (gram)	Volume air (ml)	Kadar air
20	1,8	9,0%
20	1,6	8,2%
20	1,6	8,2 %
Rata - rata		8,33%

Perhitungan prosentase penetapan kadar air = $\frac{\text{volume air (ml)}}{\text{bobot serbuk}} \times 100\%$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air I} &= \frac{1,8}{20} \times 100\% \\ &= 9,0\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadar air II} &= \frac{1,6}{20} \times 100\% \\ &= 8,2\% \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Kadae air III} &= \frac{1,6}{20} \times 100\% \\ &= 8,2\% \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata prosentase kadar air} = \frac{9,0\%+8,2\%+8,2\%}{3} = 8,33\%$$

Lampiran 9. Rendemen ekstrak etanolik daun ungu

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	72	14,4
1000	117,1	11,71
1000	120,3	12,03

$$\% \text{ Rendemen I} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{72}{500} \times 100\%$$

$$= 14,4\%$$

$$\% \text{ Rendemen II} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{117,1}{1000} \times 100\%$$

$$= 11,71\%$$

$$\% \text{ Rendemen III} = \frac{\text{bobot ekstrak (g)}}{\text{bobot serbuk (g)}} \times 100\%$$

$$= \frac{120,3}{1000} \times 100\%$$

$$= 12,03\%$$

Lampiran 10. Hasil perhitungan rendemen fraksinasi yang didapat.

Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
340	Etil asetat = 14,191	$\frac{14,191}{340,86} \times 100\% = 4,163\%$
	n-heksan = 121,490	$\frac{121,490}{340,86} \times 100\% = 35,642\%$
	Air = 139,648	$\frac{139,648}{340,86} \times 100\% = 40,969\%$

Lampiran 11. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air metode difusi

1. Konsentrasi 50%

Menimbang 1 g ekstrak daun ungu, dilarutkan dengan DMSO 5% sampai 2 ml

2. Konsentrasi 25%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

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

$$V_1 \cdot 50\% = 25\%$$

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

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

Dipipet 0,5 ml dari sediaan konsentrasi 50%, ditambahkan DMSO 5% sampai 1 ml.

3. Konsentrasi 12,5%

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

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

$$V_1 \cdot 25\% = 12,5\%$$

$$V_1 = \frac{12,5\%}{25\%}$$

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

Dipipet 0,5 ml dari sediaan konsentrasi 25%, ditambahkan DMSO 5% sampai 1 ml.

Lampiran 12. Pembuatan konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi

Fraksi etil asetat daun ungu

Menimbang 3 gram fraksi etil asetat dalam vial larutkan dengan 6 ml DMSO 5%.

Tabel perhitungan seri konsentrasi fraksi etil asetat metode dilusi

No	Konsentrasi (%)	V1	N1	V2	N2	Keterangan
1	50	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	50	-	-	-	-	1 ml larutan stok
3	25	0,5	50	1	25	0,5 ml dari tab. 2 + SGC ad 1 ml
4	12,5	0,5	25	1	12,5	0,5 ml dari tab. 3 + SGC ad 1 ml
5	6,25	0,5	12,5	1	6,25	0,5 ml dari tab. 4 + SGC ad 1 ml
6	3,125	0,5	6,25	1	3,12	0,5 ml dari tab. 5 + SGC ad 1 ml
					5	
7	1,56	0,5	3,125	1	1,56	0,5 ml dari tab. 6 + SGC ad 1 ml
8	0,78	0,5	1,56	1	0,78	0,5 ml dari tab. 7 + SGC ad 1 ml
9	0,39	0,5	0,78	1	0,39	0,5 ml dari tab. 8 + SGC ad 1 ml
10	0,19	0,5	0,39	1	0,19	0,5 ml dari tab. 9 + SGC ad 1 ml
11	0,09	0,5	0,19	1	0,09	0,5 ml dari tab. 10 + SGC ad 1 ml
12	-	-	-	-	-	1 ml suspensi jamur

Keterangan : Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 3 = konsentrasi 25%

$$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$$

$$V1 \cdot 25\% = 1 \text{ ml} \cdot 12,5\%$$

$$V1 = 0,5 \text{ ml}$$

Tabung 11 diperoleh dari 0,5 ml tabung 10 + SGC 0,5 ml kemudian di homogenkan dan dibuang 0,5 ml.

Tabung 12 = kontrol positif (suspensi jamur 1 ml).

Tabung 2 - 11 ditambah 0,5 ml suspensi jamur.

Lampiran 13. Pembuatan konsentrasi dan dilusi ketokonazole

Pembuatan kontrol positif (ketokonazole) 2 %

Perhitungan :

Berat tablet ketokonazole = 330 mg (mengandung 200 mg ketokonazole)

$$\text{Tablet yang diperlukan} = \frac{a}{b} \times c$$

a = berat ketokonazole yang diperlukan

b = ketokonazole tiap tablet

c = berat rata-rata ketokonazole

$$\frac{200 \text{ mg}}{200 \text{ mg}} \times 330 \text{ mg} = 330 \text{ mg}$$

$$\begin{aligned} 2 \% &= 2 \text{ g} / 100 \text{ ml} \\ &= 2000 \text{ mg} / 100 \text{ ml} \\ &= 200 \text{ mg} / 10 \text{ ml} \end{aligned}$$

Pembuatan ketoconazole 2% = Satu tablet ketokonazole digerus halus kemudian
tambahkan aquadest steril 10 ml.

No	Konsentrasi (%)	V1	N1	V2	N2	Keterangan
1	2	-	-	-	-	1 ml larutan stok
2	2	-	-	-	-	1 ml larutan stok
3	1	0,5	2	1	1	0,5 ml dari tab. 2 + SGC ad 1 ml
4	0,5	0,5	1	1	0,5	0,5 ml dari tab. 3 + SGC ad 1 ml
5	0,25	0,5	0,5	1	0,25	0,5 ml dari tab. 4 + SGC ad 1 ml
6	0,125	0,5	0,25	1	0,125	0,5 ml dari tab. 5 + SGC ad 1 ml
7	0,0625	0,5	0,125	1	0,0625	0,5 ml dari tab. 6 + SGC ad 1 ml
8	0,017	0,5	0,0625	1	0,017	0,5 ml dari tab. 7 + SGC ad 1 ml
9	0,008	0,5	0,017	1	0,008	0,5 ml dari tab. 8 + SGC ad 1 ml
10	0,004	0,5	0,008	1	0,004	0,5 ml dari tab. 9 + SGC ad 1 ml
11	0,002	0,5	0,004	1	0,002	0,5 ml dari tab. 10 + SGC ad 1 ml

Keterangan :

Tabung 1 = kontrol negatif

Tabung 3 = konsentrasi 1%

$V1 \cdot N1 = V2 \cdot N2$

$V1 \cdot 2\% = 1 \text{ ml} \cdot 1\%$

$V1 = 0,5 \text{ ml}$

Tabung 11 diperoleh dari 0,5 ml tabung 10 + SGC 0,5 ml kemudian di homogenkan dan dibuang 0,5 ml.

Tabung 12 = kontrol positif suspensi jamur 1 ml

Tabung 2 - 11 ditambah 0,5 ml suspensi jamur

Lampiran 14. Cara Pembuatan Media SGA dan SGC

1. Sabouraud Glukosa Agar (SGA)

Komposisi : SGA 65 g/L

Aquadest 1 L

Kloramfenikol 400 mg/L

- a. Ditimbang 65 gram SGA, dilarutkan dalam 1L aquadest, dipanaskan sampai larut. Ditambahkan kloramfenikol 200mg aduk sampai homogen.
- b. Dimasukkan dalam tabung @15 ml, tutup dengan kapas dan disterilkan dengan autoklaf selama 1 jam.
- c. Dinginkan hasil sterilisasi, dipindahkan ke dalam cawan petri besar @ 30 ml dan cawan petri kecil @15 ml.

2. Sabouraud Glucose Cair (SGC)

Komposisi : SGC 100 g/L

Aquades 1 L

- a. Ditimbang 100 gram SGC, dilarutkan dalam 1L aquadest, lalu panaskan sampai larut.
- b. Ditambahkan 200 mg kloramfenikol aduk sampai homogen.
- c. Dipindahkan dalam tabung @ 15 ml, tutup dengan kapas kemudian sterilkan dengan autoklaf selama 1 jam.

3. Fermentasi dan asimilasi

Komposisi : Meat extract 3 g/L

Pepton 5 g/L

Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa 5 g/L

- a. Ditimbang semua bahan, dilarutkan dengan aquadest @ 40 ml dalam beaker glass, ditambahkan 1 tetes fenol red lalu pindahkan dalam 4 tabung yang berisi tabung durham @ 10 ml, kemudian disterilkan dengan autoklaf selama 1 jam dan tunggu hingga dingin.

- b. Ditambahkan 1-2 ose *Candida albicans*, kemudian diinkubasi 24-48 jam.
- c. Diamati adanya gas pada reaksi fermentasi dan perubahan warna dari merah menjadi kuning yang menandakan suatu asam pada fermentasi dan asimilasi.

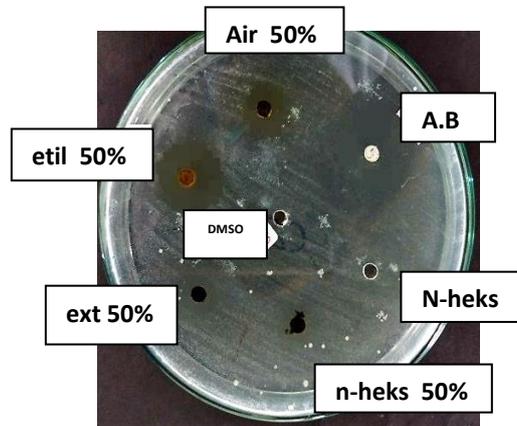
Perhitungan :

Meat extract 3 g/L	= 3 g/1000 ml x 40 ml
	= 0,12 g
Pepton 5 g/L	= 5 g/1000 ml x 40 ml
	= 0,2 g
Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa 5 g/L	= 5 g/1000 ml x 40 ml
	= 0,2 g

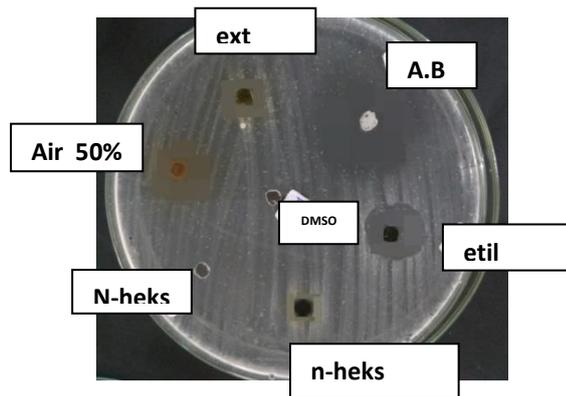
Lapiran 15. Foto hasil uji aktivitas antijamur metode difusi

Foto difusi konsentrasi 50 %

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

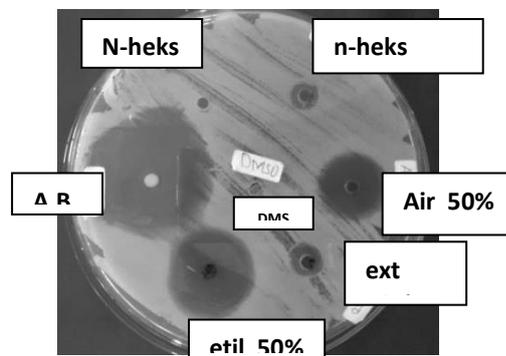
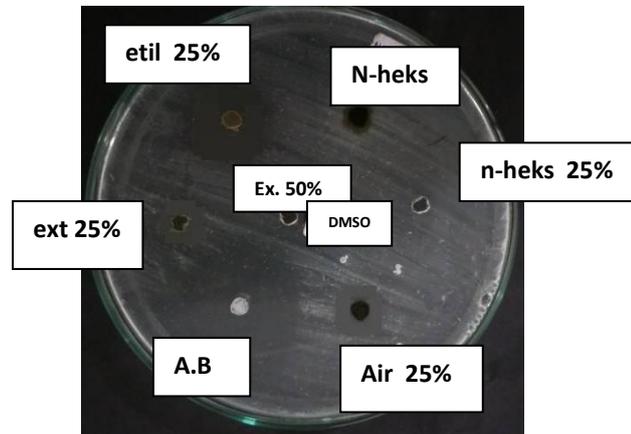
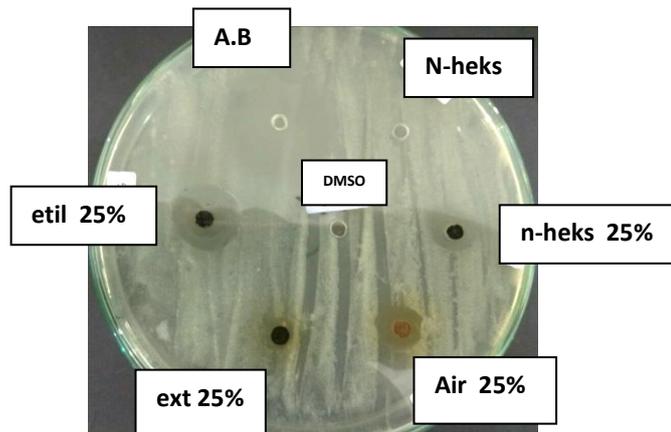


Foto difusi konsentrasi 25%

Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

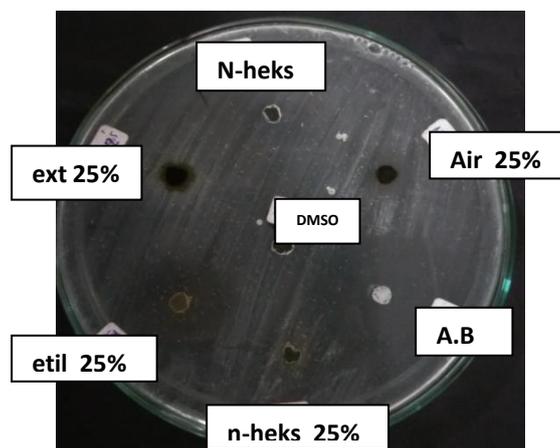
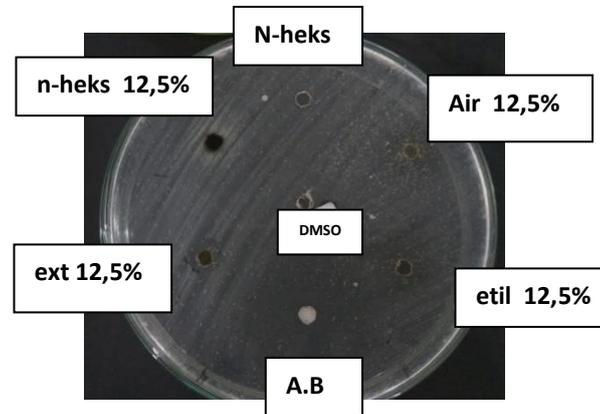
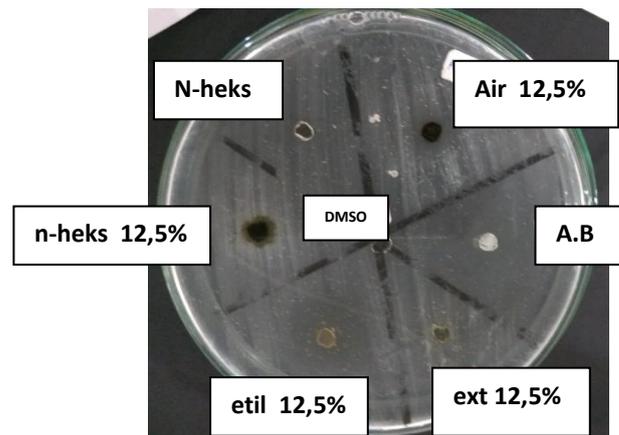


Foto difusi konsentrasi 12,5%

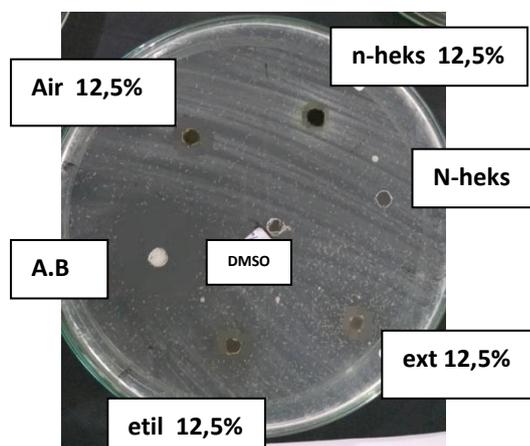
Replikasi 1



Replikasi II



Replikasi III

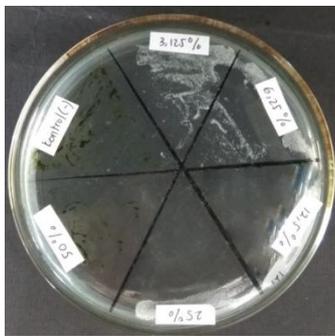


Lampiran 16. Foto hasil uji aktivitas antijamur fraksi etil asetat dilusi

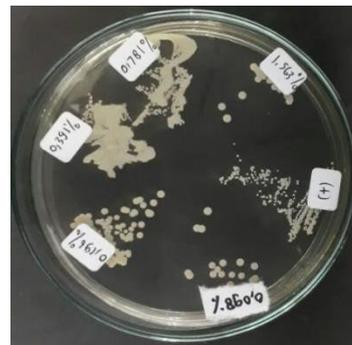
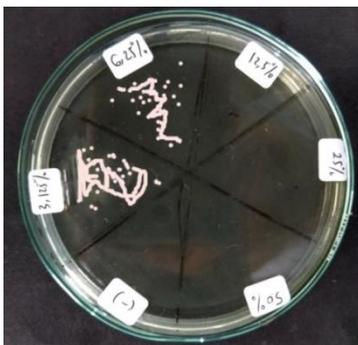


Tabung dilusi fraksi etil asetat

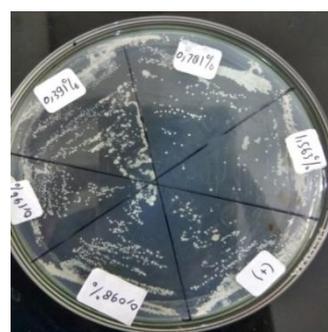
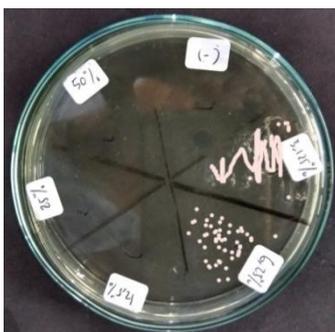
Replikasi I



Replikasi II



Replikasi III

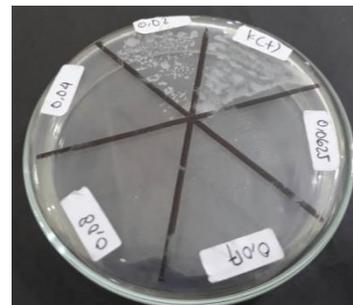
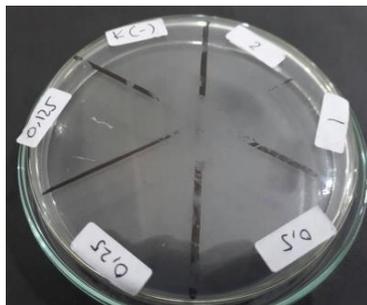


Lampiran 17. Foto hasil metode dilusi uji aktivitas antijamur ketokonazol

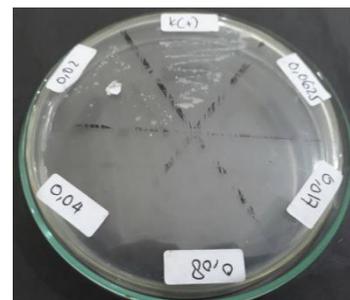
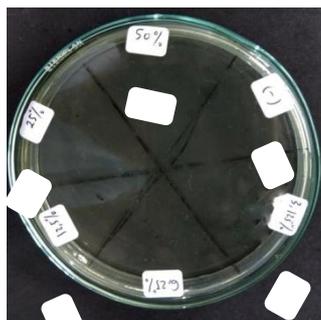


Tabung dilusi ketokonazol

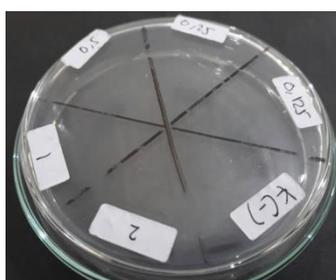
Replikasi I (dalam %)



Replikasi II (dalam %)



Replikasi III (dalam %)



Lampiran 18. Perhitungan Rf Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Teraktif

Rumus perhitungan Rf :

$$Rf = \frac{\text{jarak bercak dari titik awal penotolan sampai batas elusi}}{\text{jarak tempuh fase gerak sampai batas elusi}}$$

Flavonoid

$$\begin{aligned} Rf \text{ fraksi etil asetat (Flavonoid)} &= \frac{4}{5} \\ &= 0,8 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Rf \text{ baku quersetin} &= \frac{3,9}{5} \\ &= 0,78 \end{aligned}$$

Lampiran 19. Hasil analisis data uji ANOVA antara fraksi n-heksan, \etial asetat, air, ekstraks etanolik daun ungu dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5% serta kontrol (+) dan kontrol (-)

a. Konsentrasi 50%

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.5000
	Std. Deviation	1.16775
Most Extreme Differences	Absolute	.166
	Positive	.166
	Negative	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		.574
Asymp. Sig. (2-tailed)		.897

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.474	3	8	.293

Oneway

Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Ekstrak 50%	3		
Fraksi n-heksan 50%	3	13.3333	1.52753	.88192	9.5388	17.1279	12.00	15.00
Fraksi etil 50%	3	25.3333	2.51661	1.45297	19.0817	31.5849	23.00	28.00
Fraksi air 50%	3	19.6667	2.08167	1.20185	14.4955	24.8378	18.00	22.00
Total	12	17.6667	5.69423	1.64378	14.0487	21.2846	12.00	28.00

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	330.000	3	110.000	33.000	.000
Within Groups	26.667	8	3.333		
Total	356.667	11			

Post Hoc Test

Multiple Comparisons

Diameter

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 50%	Fraksi n-heksan 50%	-1.00000	1.49071	.905	-5.7738	3.7738
	Fraksi etil 50%	-13.00000*	1.49071	.000	-17.7738	-8.2262
	Fraksi air 50%	-7.33333*	1.49071	.005	-12.1071	-2.5595
Fraksi n-heksan 50%	Ekstrak 50%	1.00000	1.49071	.905	-3.7738	5.7738
	Fraksi etil 50%	-12.00000*	1.49071	.000	-16.7738	-7.2262

	Fraksi air 50%	-6.33333*	1.49071	.012	-11.1071	-1.5595
Fraksi etil 50%	Ekstrak 50%	13.00000*	1.49071	.000	8.2262	17.7738
	Fraksi n-heksan 50%	12.00000*	1.49071	.000	7.2262	16.7738
	Fraksi air 50%	5.66667*	1.49071	.022	.8929	10.4405
Fraksi air 50%	Ekstrak 50%	7.33333*	1.49071	.005	2.5595	12.1071
	Fraksi n-heksan 50%	6.33333*	1.49071	.012	1.5595	11.1071
	Fraksi etil 50%	-5.66667*	1.49071	.022	-10.4405	-.8929

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

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Ekstrak 50%	3	12.3333		
Fraksi n-heksan 50%	3	13.3333		
Fraksi air 50%	3		19.6667	
Fraksi etil 50%	3			25.3333
Sig.		.905	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b. Konsentrasi 25%

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.5000
	Std. Deviation	1.16775
Most Extreme Differences	Absolute	.166
	Positive	.166
	Negative	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		.574
Asymp. Sig. (2-tailed)		.897

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Ekstrak 25%	3	10.3333	1.15470	.66667	7.4649	13.2018	9.00	11.00
Fraksi n-heksan 25%	3	10.6667	1.52753	.88192	6.8721	14.4612	9.00	12.00
Fraksi etil 25%	3	20.0000	2.00000	1.15470	15.0317	24.9683	18.00	22.00
Fraksi air 25%	3	14.6667	2.08167	1.20185	9.4955	19.8378	13.00	17.00
Total	12	13.9167	4.33712	1.25202	11.1610	16.6723	9.00	22.00

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
.370	3	8	.777

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	182.917	3	60.972	20.324	.000
Within Groups	24.000	8	3.000		
Total	206.917	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 25%	Fraksi n-heksan 25%	-.33333	1.41421	.995	-4.8621	4.1955
	Fraksi etil 25%	-9.66667*	1.41421	.001	-14.1955	-5.1379
	Fraksi air 25%	-4.33333	1.41421	.061	-8.8621	.1955
Fraksi n-heksan 25%	Ekstrak 25%	.33333	1.41421	.995	-4.1955	4.8621
	Fraksi etil 25%	-9.33333*	1.41421	.001	-13.8621	-4.8045
	Fraksi air 25%	-4.00000	1.41421	.085	-8.5288	.5288
Fraksi etil 25%	Ekstrak 25%	9.66667*	1.41421	.001	5.1379	14.1955

	Fraksi n-heksan 25%	9.33333*	1.41421	.001	4.8045	13.8621
	Fraksi air 25%	5.33333*	1.41421	.023	.8045	9.8621
Fraksi air 25%	Ekstrak 25%	4.33333	1.41421	.061	-.1955	8.8621
	Fraksi n-heksan 25%	4.00000	1.41421	.085	-.5288	8.5288
	Fraksi etil 25%	-5.33333*	1.41421	.023	-9.8621	-.8045

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

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Ekstrak 25%	3	10.3333	
Fraksi n-heksan 25%	3	10.6667	
Fraksi air 25%	3	14.6667	
Fraksi etil 25%	3		20.0000
Sig.		.061	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

c. Konsentrasi 12,5%

NPar Tests

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
Perlakuan	12	2.5000	1.16775	1.00	4.00

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Perlakuan
N		12
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	2.5000
	Std. Deviation	1.16775
Most Extreme Differences	Absolute	.166
	Positive	.166
	Negative	-.166
Kolmogorov-Smirnov Z		.574
Asymp. Sig. (2-tailed)		.897

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Diameter

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Ekstrak 12,5%	3		
Fraksi n-heksan 12,5%	3	7.6667	1.15470	.66667	4.7982	10.5351	7.00	9.00
Fraksi etil 12,5%	3	13.0000	2.64575	1.52753	6.4276	19.5724	10.00	15.00
Fraksi air 12,5%	3	10.6667	1.52753	.88192	6.8721	14.4612	9.00	12.00
Total	12	9.5000	3.08957	.89188	7.5370	11.4630	5.00	15.00

Test of Homogeneity of Variances

Diameter

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.249	3	8	.355

ANOVA

Diameter

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75.000	3	25.000	6.667	.014
Within Groups	30.000	8	3.750		
Total	105.000	11			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Diameter

Tukey HSD

(I) Perlakuan	(J) Perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
Ekstrak 12,5%	Fraksi n-heksan 12,5%	-1.00000	1.58114	.919	-6.0634	4.0634
	Fraksi etil 12,5%	-6.33333*	1.58114	.017	-11.3967	-1.2700
	Fraksi air 12,5%	-4.00000	1.58114	.129	-9.0634	1.0634
Fraksi n-heksan 12,5%	Ekstrak 12,5%	1.00000	1.58114	.919	-4.0634	6.0634
	Fraksi etil 12,5%	-5.33333*	1.58114	.039	-10.3967	-.2700
	Fraksi air 12,5%	-3.00000	1.58114	.301	-8.0634	2.0634
Fraksi etil 12,5%	Ekstrak 12,5%	6.33333*	1.58114	.017	1.2700	11.3967
	Fraksi n-heksan 12,5%	5.33333*	1.58114	.039	.2700	10.3967
	Fraksi air 12,5%	2.33333	1.58114	.493	-2.7300	7.3967
Fraksi air 12,5%	Ekstrak 12,5%	4.00000	1.58114	.129	-1.0634	9.0634
	Fraksi n-heksan 12,5%	3.00000	1.58114	.301	-2.0634	8.0634
	Fraksi etil 12,5%	-2.33333	1.58114	.493	-7.3967	2.7300

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

Homogeneous Subsets

Diameter

Tukey HSD^a

Perlakuan	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Ekstrak 12,5%	3	6.6667	
Fraksi n-heksan 12,5%	3	7.6667	
Fraksi air 12,5%	3	10.6667	10.6667
Fraksi etil 12,5%	3		13.0000
Sig.		.129	.493

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.