

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA,  
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana*, Mill)  
TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231**



**Oleh :**

**Karunia Wulan Agustin  
19133791A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA,  
ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana*, Mill)  
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 :**

**Karunia Wulan Agustin  
19133791A**

**FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS SETIA BUDI  
SURAKARTA  
2017**

## PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul :

### UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana*, Mill) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231

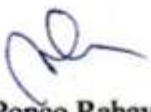
Oleh :  
**Karunia Wulan Agustin**  
**19133791A**

Dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi  
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi  
Pada Tanggal : Juni 2017

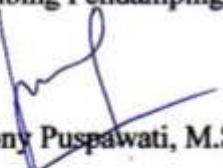
Mengetahui  
Fakultas Farmasi  
Universitas Setia Budi  
Dekan



Pembimbing Utama

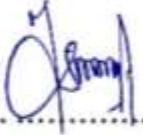
  
Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt.

Pembimbing Pendamping,

  
Dra. Nony Puspawati, M.Si.

Penguji :

1. Ismi Rahmawati, M.Si., Apt
2. Ganet Eko Pramukantoro, M.Si., Apt
3. Hery Muhamad Ansory, S.Pd., M.Sc
4. Mamik Ponco Rahayu, M.Si., Apt

1. 

2. 

3. 

4. 

## PERSEMBAHAN

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

(Bismillaahirrahmaanirrahim)

الْحَمْدُ لِلَّهِ رَبِّ الْعَالَمِينَ

(Segala puji bagi Allah, Tuhan seluruh alam)

الرَّحْمَنُ الرَّحِيمُ

(Yang Maha Pengasih lagi Maha penyayang)

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

Allah SWT, terima kasih untuk nikmat kehidupan yang Engkau berikan.

Keluarga yang sangat ku sayangi. Terimakasih atas segala sesuatu yang kalian berikan selama ini.

## **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 atau karya ilmiah atau skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, Juni 2017



Karunia Wulan Agustin

## KATA PENGANTAR



*Assalamu'alaikum Wr. Wb.*

Syukur Alhamdulillah penulis haturkan kepada Allah SWT yang telah memberikan segala rahmat dan karuniaNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul **“UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT DAN AIR DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana*, Mill) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231”**. Skripsi ini disusun untuk meraih gelar Sarjana Farmasi (S.Farm) pada Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi di Surakarta.

Penelitian dan penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan dukungan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan banyak terima kasih kepada :

1. Bapak Dr. Ir. Djoni Taringan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
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 dan Dra. Nony Puspawati, M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah berkenan mengorbankan segenap waktu, ilmu dan tenaga untuk membimbing penulis.
4. Bu Ismi Rahmawati, M.Si.,Apt , Pak Ganet Eko Pramukantoro, M.Si.,Apt dan Pak Hery Muhamad Ansory, S.Pd.,M.Sc selaku penguji yang telah memberi masukan, kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini.
5. Segenap dosen, asisten dosen, seluruh staf perpustakaan dan staf laboratorium.
6. Kedua orang tuaku ayah miko dan mami mia tercinta atas doa, kasih sayang, semangat, dukungan serta perjuangannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.
7. Teman-temanku yang membantuku dalam pengerjaan skripsi ini, kalian luar biasa.
8. Semua pihak yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna dikarenakan keterbatasan pengetahuan dan kemampuan yang penulis miliki. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya dibidang farmasi.

*Wabillahittaufik walhidayah wassalamu 'alaikum Wr. Wb.*

Surakarta, Juni 2017

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI.....	ii
PERSEMBERAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR .....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	xiii
DAFTAR SINGKATAN .....	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT .....	xvi
<b>BAB I PENDAHULUAN .....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang Masalah .....	1
B. Rumusan Masalah .....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian.....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>4</b>
A. Tanaman Alpukat .....	4
1. Klasifikasi tanaman alpukat .....	4
2. Nama daerah tanaman alpukat .....	4
3. Morfologi tanaman alpukat .....	4
4. Kegunaan tanaman alpukat .....	4
5. Kandungan senyawa kimia daun alpukat .....	5
5.1 Saponin .....	5
5.2 Tanin .....	5
5.3 Flavonoid .....	5
5.4 Alkaloid.....	6
5.5 Triterpenoid/steroid.....	6

B.	Simplisia.....	6
1.	Pengertian simplisia .....	6
2.	Pengeringan simplisia.....	7
C.	Ekstraksi .....	7
1.	Pengertian ekstrak .....	7
2.	Pengertian ekstraksi.....	7
3.	Metode ekstraksi.....	8
4.	Pelarut.....	8
4.1	Metanol .....	8
4.2	<i>n</i> -heksana .....	9
4.3	Etil asetat.....	9
4.4	Air .....	9
5.	Fraksinasi.....	9
D.	KLT .....	10
E.	Sterilisasi .....	11
F.	<i>Candida albicans</i> .....	12
1.	Klasifikasi <i>Candida albicans</i> .....	12
2.	Morfologi.....	12
3.	Karakteristik .....	13
4.	Patogenesis .....	13
G.	Kandidiasis Vulvovaginalis.....	14
H.	Antijamur.....	14
1.	Pengertian .....	14
2.	Mekanisme antijamur .....	14
2.1	Kerusakan pada dinding sel .....	15
2.2	Perubahan permeabilitas sel.....	15
2.3	Perubahan molekul protein dan asam nukleat .....	15
2.4	Penghambatan kerja enzim .....	15
2.5	Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein .....	16
I.	Metode Pengujian Aktivitas Antijamur.....	16
J.	Media.....	16
K.	Ketokonazole .....	17
L.	Landasan Teori .....	17
M.	Hipotesis .....	19
BAB III	METODE PENELITIAN .....	20
A.	Populasi dan Sampel.....	20
B.	Variabel Penelitian .....	20
1.	Identifikasi variabel utama .....	20
2.	Klasifikasi variabel utama .....	20
3.	Definisi operasional variabel utama .....	20
C.	Bahan dan Alat .....	21
1.	Bahan.....	21
2.	Alat .....	21
D.	Jalannya Penelitian .....	22
1.	Determinasi tanaman .....	22

2. Persiapan bahan.....	22
3. Pembuatan serbuk daun alpukat ( <i>Persea americana</i> , Mill).....	22
4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun alpukat .....	22
5. Pembuatan ekstrak metanol daun alpukat .....	23
6. Uji bebas metanol.....	23
7. Penetapan persen rendemen .....	23
8. Pembuatan fraksi .....	23
9. Pengujian kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun alpukat .....	23
9.1 Saponin .....	23
9.2 Tanin .....	24
9.3 Flavonoid .....	24
9.4 Alkaloid.....	24
9.5 Triterpenoid/steroid.....	24
10. Sterilisasi .....	24
11. Pembuatan suspensi jamur uji .....	25
12. Identifikasi jamur uji <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	25
13. Pengujian aktivitas antijamur daun alpukat ( <i>Persea americana</i> , Mill).....	26
14. Identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif secara Kromatografi Lapis Tipis .....	27
14.1 Identifikasi saponin.....	27
14.2 Identifikasi tanin .....	27
14.3 Identifikasi flavonoid .....	28
14.4 Identifikasi alkaloid .....	28
14.5 Identifikasi triterpenoid/steroid.....	28
<b>BAB IV HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN .....</b>	<b>34</b>
A. Determinasi Tanaman.....	34
B. Pengeringan Bahan dan Pembuatan Serbuk .....	34
1. Persiapan Bahan .....	34
2. Pembuatan dan Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Alpukat .....	34
C. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Alpukat .....	35
D. Hasil uji bebas metanol ekstrak daun alpukat .....	36
E. Pembuatan Fraksi Daun Alpukat.....	36
F. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif daun alpukat.....	38
G. Hasil identifikasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231.....	39
H. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Secara Difusi .....	41
I. Hasil Identifikasi Fraksi Teraktif dengan KLT .....	45
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>49</b>
A. Kesimpulan.....	49
B. Saran .....	49

DAFTAR PUSTAKA .....	50
LAMPIRAN .....	55

## DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Skema penyarian daun alpukat .....	29
Gambar 2.	Skema identifikasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara makroskopis .....	30
Gambar 3.	Skema identifikasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara mikroskopis.....	31
Gambar 4.	Skema pembuatan suspensi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	32
Gambar 5.	Skema kerja uji aktivitas antijamur daun alpukat terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara difusi .....	33
Gambar 6.	Identifikasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara makroskopis pada media SGA.....	39
Gambar 7.	Identifikasi Identifikasi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 secara mikroskopis.....	40
Gambar 8.	Identifikasi biokimia <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 .....	41
Gambar 9.	Hasil analisis data ANOVA <i>twoway</i> antara ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat dan air pada konsentrasi 12,5%, 25% dan 50%.....	43
Gambar 10.	Hasil identifikasi senyawa flavonoid fraksi etil asetat.....	46
Gambar 11.	Hasil identifikasi triterpenoid fraksi etil asetat .....	47

## DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Pereaksi semprot.....	11
Tabel 2. Hasil pengukuran susut pengeringan serbuk daun alpukat.....	35
Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak daun alpukat .....	35
Tabel 4. Hasil pengujian bebas metanol ekstrak daun alpukat.....	36
Tabel 5. Rendemen hasil fraksi <i>n</i> -heksana .....	37
Tabel 6. Rendemen hasil fraksi etil asetat .....	37
Tabel 7. Rendemen hasil fraksi air .....	37
Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun alpukat.....	38
Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi .....	38
Tabel 10. Hasil uji aktivitas antijamur <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 metode difusi .....	42
Tabel 11. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat secara KLT .....	46
Tabel 12. Hasil identifikasi triterpenoid fraksi etil asetat secara KLT .....	47

## DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Surat keterangan determinasi tumbuhan .....	56
Lampiran 2.	Gambar tanaman, daun, serbuk, ekstrak dan fraksi daun alpukat .....	57
Lampiran 3.	Gambar alat yang digunakan .....	58
Lampiran 4.	Perhitungan rendemen daun, ekstrak dan fraksi daun alpukat .....	61
Lampiran 5.	Foto hasil uji kandungan senyawa serbuk, ekstrak dan fraksi.....	65
Lampiran 6.	Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi <i>n</i> -heksana, etil asetat, dan air metode difusi .....	67
Lampiran 7.	Pembuatan media.....	68
Lampiran 8.	Foto hasil uji aktivitas antijamur metode difusi .....	70
Lampiran 9.	Perhitungan Rf Kromatografi Lapis Tipis.....	72
Lampiran 10.	Hasil analisis data uji ANOVA antara ekstrak metanol, fraksi <i>n</i> -heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun alpukat dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50% .....	73

## **DAFTAR SINGKATAN**

ATCC	American Type Culture Collection
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimum
pH	Power of Hidrogen
KVV	Kandidiasis vulvovaginalis
DM	Diabetes Mellitus
DNA	Deoxyribosenucleic Acid
RNA	Ribonucleic Acid
SGA	Sabouroud Glucose Agar
SGC	Sabouroud Glucose Cair
LCB	Lactofenol Cotton Blue
DMSO	Dimetil Sulfoksida
KLT	Kromatografi Lapis Tipis

## INTISARI

**AGUSTIN, K.W., 2017, UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK METANOL, FRAKSI *n*-HEKSANA, ETIL ASETAT, DAN AIR DARI DAUN ALPUKAT (*Persea americana*, Mill) TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231. SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.**

Daun alpukat (*Persea americana*, Mill) memiliki aktivitas anti-inflamasi, analgesik, dan juga antijamur terhadap *Candida albicans*. Daun alpukat memiliki kandungan senyawa kimia yaitu senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid dan triterpenoid/steroid. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun alpukat terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Serbuk daun alpukat diekstraksi dengan metode soxhlet dan pelarut metanol. Ekstrak metanol selanjutnya difraksinasi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan air. Ekstrak dan fraksi daun alpukat diuji aktivitas antijamurnya terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan menggunakan metode difusi. Konsentrasi yang digunakan dalam metode difusi adalah 50%, 25%, dan 12,5%. Analisis untuk menentukan fraksi yang paling aktif dalam menghambat *Candida albicans* 10231 menggunakan statistik ANOVA *twoway*.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif dari senyawa sampel uji. Fraksi etil asetat konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% merupakan fraksi teraktif dengan diameter daya hambat berturut-turut sebesar 25,67 mm, 23,33 mm dan 21,17 mm. Hasil uji KLT menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid.

---

Kata kunci : daun alpukat, antijamur, *Candida albicans*.

## ABSTRACT

**AGUSTIN, K.W., 2017, THE TEST OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF METHANOL EXTRACT, *n*-HEKSANE, ETHYL ACETATE AND WATER FRACTIONS OF AVOCADO LEAVES (*Persea americana*, Mill) AGAINST *Candida albicans* ATCC 10231, THESIS, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.**

Avocado leaf extract (*Persea americana*, Mill) has anti-inflammatory, analgesic, and antifungal activities. Avocado leaves contain chemical compounds which are saponin, tannin, flavonoid, alkaloid and triterpenoid / steroid. This research aims to determine the antifungal activity of the fraction of *n*-hexane, ethyl acetate and water from avocado leaves methanolic extract against *Candida albicans* ATCC 10231.

Avocado leaf powder was extracted with soxhlet method and methanol solvent. The methanol extract then was fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate, and water solvents. Avocado leaf extract and fraction were tested for their antifungal activity against *Candida albicans* ATCC 10231 used diffusion method. The concentration in the diffusion method were 50%, 25%, and 12,5%. Analysis to determine the most active fraction in inhibiting *Candida albicans* ATCC 10231 used ANOVA *twoway* statistic.

The results showed that methanol extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate and water have antifungal activity. The ethyl acetate fraction is the most active fraction at concentration of 50%, 25% and 12,5% in row has made inhibitory diameter result of 25,67 mm, 23,33 mm and 21,17 mm. The TLC results showed that ethyl acetate fraction contains flavonoid and triterpenoid.

---

Keywords: avocado leaf, antifungal, *Candida albicans*.

## **BAB I**

### **PENDAHULUAN**

#### **A. Latar Belakang Masalah**

Jamur *Candida albicans* merupakan mikroorganisme endogen pada rongga mulut, traktus gastrointestinal, traktus genitalia wanita dan kadang-kadang pada kulit. *Candida albicans* dapat ditemukan 40-80 % pada manusia normal, yang dapat sebagai mikroorganisme komensal atau patogen. Infeksi *Candida albicans* pada umumnya merupakan infeksi opportunistik, dimana penyebab infeksinya dari flora normal *host* atau dari mikroorganisme penghuni sementara ketika *host* mengalami kondisi *immunocompromised* (Lestari 2010).

*Candida albicans* merupakan penyebab paling umum dari kandidiasis vulvovaginalis. Kandidiasis vulvovaginalis merupakan salah satu bentuk infeksi pada vagina yang umumnya menyerang wanita dan dapat dijumpai di seluruh dunia terutama di negara – negara berkembang (Bahupati 2015). Pengobatan penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans* umumnya menggunakan antijamur sintetik. Penggunaan antijamur dalam jangka waktu yang lama dapat menyebabkan toksisitas. Meningkatnya toksisitas dari antijamur sintetik menjadi suatu masalah bagi kesehatan khususnya kesehatan pada perempuan. Hal ini perlu mencari alternatif lain untuk mendapatkan antijamur yang mampu menghambat jamur tersebut. Salah satunya adalah penggunaan bahan-bahan alami yang memiliki bahan aktif baik yang berasal dari hewan maupun dari tumbuh-tumbuhan.

Daun alpukat merupakan salah satu spesies tanaman yang termasuk famili Lauraceae. Kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) ditemukan senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid (Antia *et al.* 2005). Ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas anti-inflamasi, analgesik, dan juga memiliki sifat antijamur (David *et al.* 2015).

Penelitian aktivitas antijamur ekstrak daun alpukat terhadap *Candida albicans* dengan nilai KBM 5% pernah dilakukan (Jesus *et al.* 2015), sedangkan berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Nathaniel (2015) ekstrak metanol

daun alpukat menggunakan metode soxhletasi memiliki potensi terhadap *Candida albicans* dengan membentuk diameter hambat sebesar 1,3 mm pada konsentrasi 1,25% sehingga perlu adanya peningkatan konsentrasi dan juga perlu dilanjutkan ke tahap fraksinasi menggunakan pelarut yang berbeda polaritasnya. Tujuan dari peningkatan konsentrasi adalah untuk mendapatkan diameter hambat yang lebih besar sedangkan tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk menarik senyawa kimia yang terdapat pada ekstrak daun alpukat yang memiliki sifat antijamur sesuai dengan polaritasnya. Pelarut yang digunakan pada tahap fraksinasi adalah *n*-heksana (polar), etil asetat (semi polar), dan air (polar).

Uji aktivitas antijamur pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode difusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pemberian padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikroba berdifusi pada lempeng *Sabouroud Glucose Agar* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan jamur di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harminta 2004). Keuntungan metode difusi adalah ekonomis, sederhana (mudah dibuat) dan reproduksibel.

## B. Rumusan Masalah

Pertama, apakah ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan air dari daun alpukat (*Persea americana*, Mill) memiliki aktivitas sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 ?

Kedua, dari ketiga fraksi daun alpukat tersebut manakah fraksi yang paling dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231 ?

Ketiga, golongan senyawa apakah yang terdapat pada fraksi teraktif ?

### **C. Tujuan Penelitian**

Tujuan pertama dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan air dari daun alpukat (*Persea americana*, Mill) memiliki aktivitas sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, untuk mengetahui fraksi yang paling aktif dari daun alpukat dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, untuk mengetahui golongan senyawa yang terdapat pada fraksi teraktif.

### **D. Kegunaan Penelitian**

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi kepada masyarakat, industri obat tradisional dan IPTEK tentang potensi daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) sebagai antijamur, sehingga dapat dikembangkan penggunaannya terhadap penyakit-penyakit yang berkaitan dengan jamur.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **A. Tanaman Alpukat**

##### **1. Klasifikasi tanaman alpukat**

Klasifikasi tanaman alpukat menurut (Hutapea *et al.* 2011) adalah :

Divisi : *Spermatophyta*

Sub divisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Bangsa : *Ranuculales*

Suku : *Lauraceae*

Marga : *Persea*

Spesies : *Persea americana*, Mill

##### **2. Nama daerah tanaman alpukat**

Tanaman ini sering disebut sebagai alpokat (Jawa Tengah); alpuket, jambu wolanda (Jawa Barat); advokat, jamboo mentega, jamboo pooan, pookat (Lampung); buah pokat, jamboo pokat (Batak) (Pratama 2010).

##### **3. Morfologi tanaman alpukat**

Pohon alpukat memiliki tinggi  $\pm$  10 m. Batang berkayu, bulat, bercabang monopodial, coklat kotor. Daun tunggal, bulat telur, bertangkai, pertulangan daun menjari, permukaan atas hijau tua, permukaan bawah hijau muda, mengkilat, letak tersebar, ujung dan pangkal runcing, panjang 16-20,5 cm, lebar 6,3-8,8 cm, hijau. Bunga majemuk, bentuk malai, berkelamin dua, tumbuh di ujung ranting, benang sari dua belas, ruang kepala sari empat, putih kotor, mahkota berambut diameter 1-1½ cm, putih kekuningan, 6 taju, 3 taju terluar kecil, benang sari 12 dalam 4 lingkaran, 3 terdalam direduksi menjadi staminodia berwarna oranye atau coklat, ruang sari 4. Buah buni, bulat telur, panjang 5-20 cm, berbiji 1, hijau atau hijau kuning. Biji bulat, diameter 2,5-5 cm, coklat. Akar tunggang (Hutapea *et al.* 2001).

##### **4. Kegunaan tanaman alpukat**

Tanaman alpukat dapat digunakan dalam pengobatan penyakit hipertensi, sementara kandungan karotenoid dari daging buah alpukat memiliki peran penting

dalam pengurangan kanker. Biji alpukat dapat digunakan dalam pengobatan diare, disentri, sakit gigi dan infeksi kulit. Ekstrak daun alpukat memiliki aktivitas anti-inflamasi, analgesik, dan juga antijamur (David *et al.* 2015).

## 5. Kandungan senyawa kimia daun alpukat

Kandungan senyawa kimia yang terdapat pada daun alpukat adalah saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid (Antia *et al.* 2005). Penapisan fitokimia yang dilakukan oleh Maryati menyatakan bahwa daun alpukat mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan triterpenoid/steroid (Irawati 2015).

**5.1 Saponin.** Saponin merupakan metabolit sekunder dan merupakan kelompok glikosida triterpenoid atau steroid aglikon, terdiri dari satu atau lebih gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin, dapat membentuk kristal berwarna kuning dan amorf, serta berbau menyengat (Chapagain 2005). Saponin diketahui mempunyai efek sebagai antimikroba, menghambat jamur melindungi tanaman dari serangan serangga, menurunkan kolesterol, antioksidan, antivirus dan anti karsinogenik (Dumanauw *et al.* 2015).

Saponin merupakan senyawa ampifilik. Gugus gula (heksosa) pada saponin dapat larut dalam air tetapi tidak larut dalam alkohol absolut, kloroform, eter dan pelarut organik non polar lainnya. Gugus steroid (sapogenin) pada saponin yang biasa disebut dengan triterpenoid aglikon dapat larut dalam lemak dan dapat membentuk emulsi dengan minyak dan resin (Lindeboom 2005).

**5.2 Tanin.** Tanin merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai astringen, antidiare, antibakteri dan antioksidan (Liberty 2012). Tanin memiliki sifat umum, yaitu memiliki gugus fenol dan bersifat koloid, sehingga jika terlarut dalam air bersifat koloid dan asam lemah. Umumnya tanin dapat larut dalam air. Kelarutannya besar dan akan meningkat apabila dilarutkan dalam air panas. Tanin akan larut dalam pelarut organik seperti metanol, etanol, aseton dan pelarut organik lainnya (Ismarani 2012).

**5.3 Flavonoid.** Flavonoid adalah suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar ditemukan di alam. Dalam tumbuhan flavonoid umumnya merupakan

pigmen-pigmen yang tersebar luas dalam bentuk senyawa glikon dan aglikon. Flavonoid disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap infeksi mikroba, sehingga secara in vitro flavonoid efektif sebagai substansi antimikroba yang membunuh banyak mikroorganisme. 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 (Sari 2010).

Sifat fisika dan kimia senyawa flavonoid antara lain adalah larut dalam air, sedangkan dalam bentuk glikosida yang termetilasi larut dalam eter dan etil asetat. Flavonoid dalam bentuk glikosida maupun aglikon tidak dapat larut dalam petroleum eter. Dari tumbuhan, glikosida dapat ditarik dengan pelarut organik yang bersifat polar (Septiana 2011).

**5.4 Alkaloid.** Alkaloid merupakan golongan zat tumbuhan sekunder yang terbesar. Alkaloid memiliki kemampuan sebagai antimikroba. Mekanisme yang diduga adalah dengan cara mendenaturasi protein dan merusak membran sel (Betta & Wayan 2015). Semua alkaloid mengandung atom nitrogen yang bersifat basa dan merupakan bagian dari cincin heterosiklik. Alkaloid bebas umumnya sedikit larut dalam air, tetapi larut dalam pelarut organik, sedangkan garam kebalikannya (Evans 2002).

**5.5 Triterpenoid/steroid.** Triterpenoid merupakan senyawa kerangka karbon dari enam satuan isoprene dan secara biosintesis diturunkan dari hidrokarbon asiklik yaitu skualena. Triterpenoid dibagi menjadi empat golongan senyawa yaitu triterpene, steroid, saponin, dan glikosida jantung. Umumnya triterpenoid larut dalam lemak dan berada di dalam sitoplasma sel tumbuhan (Direja 2007).

## B. Simplisia

### 1. Pengertian simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan sebagai obat yang belum mengalami pengolahan apapun kecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang dikeringkan. Simplisia kering dapat disimpan dan digunakan jika diperlukan.

Simplisia dibagi menjadi 3 macam yaitu simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia hewani adalah simplisia berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat-zat yang berguna yang dihasilkan oleh hewan atau belum berupa zat-zat kimia murni. Simplisia pelican (mineral) yang belum diolah dengan cara-cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni (Fauziyah 2008).

## **2. Pengeringan simplisia**

Pengeringan dapat dilakukan dengan beberapa metode pengeringan yaitu dengan sinar matahari dan pengeringan simplisia dengan menggunakan suatu alat pengering. Hal yang perlu diperhatikan selama proses pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembapan udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan bahan. Selama proses pengeringan bahan simplisia, faktor-faktor tersebut harus diperhatikan sehingga diperoleh simplisia kering, tidak mengalami kerusakan (Endrasari *et al* 2012).

Tujuan pengeringan adalah untuk menurunkan kadar air sehingga bahan tersebut tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang bisa menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (Gunawan & Mulyani 2004).

## **C. Ekstraksi**

### **1. Pengertian ekstrak**

Ekstrak adalah sediaan kering, kental atau cair yang diperoleh dengan cara mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan masa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Sari 2010).

### **2. Pengertian ekstraksi**

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat-zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan dan beberapa jenis ikan dan termasuk biota laut. Zat-zat tersebut berada di dalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda demikian

pula ketebalannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya (Akhyar 2010).

### 3. Metode ekstraksi

Soxhletasi adalah suatu cara ekstraksi menggunakan alat soxhlet yang bekerja secara berkesinambungan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Sampel yang akan disari dimasukkan dalam soxhlet, kemudian sirkulasi akan terjadi setelah dielusi dengan pelarut yang cocok sebanyak satu setengah sirkulasi. Proses pemanasan mengakibatkan pelarut menguap, uap cairan akan diembunkan oleh pendingin menjadi tetesan-tetesan yang akan terkumpul kembali dan bila melewati batas lubang pipa soxhlet akan terjadi sirkulasi yang berulang-ulang sehingga akan menghasilkan penyarian yang baik. Keuntungan ekstraksi dengan metode ini adalah sampel dapat terekstraksi lebih sempurna, proses ekstraksi lebih cepat, dan pelarut yang dibutuhkan lebih sedikit. Kekurangan metode ini adalah tidak cocok untuk sampel yang tidak tahan pemanasan (Harborne 1987).

### 4. Pelarut

Pemilihan cairan penyari harus mempertimbangkan banyak faktor. Cairan penyari yang baik harus memenuhi kriteria murah, mudah diperoleh, stabil secara fisika kimia, netral, mudah menguap, tidak mudah terbakar, selektif dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat (Fauziyah 2008).

**4.1 Metanol.** Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana. Pada keadaan atmosfer, metanol berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol diproduksi secara alami oleh metabolisme anaerobik oleh bakteri. Hasil dari proses tersebut adalah uap metanol (dalam jumlah kecil) di udara. Setelah beberapa hari, uap metanol tersebut akan teroksidasi oleh oksigen dengan bantuan sinar matahari menjadi karbondioksida dan air (Hikmah & Zuliyana 2010). Senyawa yang dapat larut dalam metanol adalah flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, triterpenoid, minyak atsiri, dan glikosida (Astarina *et al.* 2013).

**4.2 *n*-heksana.** *n*-heksana 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, dan eter (Tiwari *et al.* 2011). Senyawa yang dapat larut dalam pelarut *n*-heksana 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). Etil asetat dapat menyari komponen minyak atisiri tertentu, asam lemak, dan senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, dan flavonoid (Harborne 1987).

**4.4 Air.** Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Pemekatan yang dapat dilakukan dengan diuapkan dengan tangas air menggunakan penangas air. Air dipilih sebagai pelarut karena dapat melarutkan garam, alkaloid, minyak menguap, glikosida, tanin, gula, gom, pati, protein, lender, enzim, lilin, lemak, pectin, zat warna asam organik (Depkes 2005). Kekurangan menggunakan air sebagai pelarut adalah disamping zat aktif yang tersari juga zat lain yang tidak diperlukan mengganggu proses penyarian (Depkes 1986).

## 5. Fraksinasi

Fraksinasi merupakan suatu cara pemisahan yang bertujuan memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan utama yang lain berdasarkan kepolaran. Jumlah dan jenis senyawa yang dipisahkan akan terjadi fraksi yang berbeda-beda. Senyawa yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar, begitu pula senyawa non polar akan masuk ke dalam pelarut polar (Harborne 1987).

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 hakikatnya 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).

#### **D. KLT**

Kromatografi lapisan tipis digunakan pada pemisahan zat secara cepat, dengan menggunakan zat penyerap berupa serbuk halus yang dilapiskan serba rata pada lempeng kaca. Lempeng yang dilapis, dapat dianggap sebagai “kolom kromatografi terbuka” dan pemisahan didasarkan pada penyerapan, pembagian atau gabungannya, tergantung dari jenis zat penyerap dan cara pembuatan lapisan zat penyerap penukar ion dapat digunakan untuk untuk pemisahan senyawa polar (Depkes1980). Pemisahan komponen kimia berdasarkan prinsip adsorbsi dan partisi yang melibatkan dua fase yaitu sifat fase diam atau sifat lapisan dan sifat fase gerak atau campuran pelarut pengembang (Stahl 1985).

Fase diam yang digunakan dalam KLT adalah bahan penyerap. Penyerap yang umum adalah silika gel, alumunium oksida, selulosa, kiselgur, selulosa dan turunannya. Dua sifat yang penting dari penyerap adalah besar partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada hal tersebut. Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya. Fase gerak yang dikenal sebagai pelarut pengembang akan bergerak sepanjang fase diam karena pengaruh kapiler pada pengembangan secara naik (*ascending*), atau karena pengaruh gravitasi pada pengembangan menurun (*descending*). Fase gerak adalah medium angkut dan terdiri atas satu atau

beberapa pelarut. Ia bergerak di dalam fase diam karena adanya gaya kapiler. Laju rambat tergantung kepada viskositas pelarut dan struktur lapisan (misalnya butiran penyerap). Agar pemisahan baik dan *reproducible* perlu diperhatikan pemilihan kondisi kerja yang meliputi sifat pengembangan, kejenuhan bejana dan lain-lain. Bercak pemisahan pada KLT umumnya merupakan bercak yang tidak berwarna. Terdapat berbagai kemungkinan untuk deteksi senyawa tak berwarna pada kromatogram. Cara deteksi bercak dapat dilihat di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm dengan pereaksi semprot khusus untuk senyawa tertentu. Jika dengan kedua cara itu senyawa tidak dapat dideteksi, maka harus dicoba dengan menggunakan reaksi kimia (Liana 2010).

Contoh beberapa pereaksi semprot adalah sebagai berikut (Sarker *et al.* 2005):

**Tabel 1. Pereaksi semprot**

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 peraksi 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>Dragendorf'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 triterpene
9	<i>Borntrager</i>	Kumarin dan antrakuinon
10	<i>Ninhydrin</i>	Asam amino, amin, dan alkaloid. Alkaloid berwarna merah

## E. Sterilisasi

Sterilisasi merupakan suatu proses untuk membunuh semua jasad renik yang ada, sehingga jika ditumbuhkan dalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang berkembang biak. Sterilisasi harus dapat membunuh jasad renik yang paling tahan panas seperti bakteri. Sterilisasi dengan autoklaf biasanya disebut dengan sterilisasi basah atau sterilisator uap yang mudah diangkat dengan menggunakan uap air jenuh bertekanan pada suhu 121°C disebabkan oleh tekanan 1 atm (Fardiaz 2011).

Cara sterilisasi yang paling umum dilakukan meliputi sterilisasi secara fisik yaitu pemanasan basah dan kering, penggunaan sinar bergelombang pendek seperti sinar x, sinar  $\alpha$ , dan sinar UV untuk bahan tidak aktif akan berubah akibat temperatur tinggi atau tekanan tinggi. Sterilisasi secara kimia yaitu penggunaan desinfektan, larutan alkohol, larutan formalin dan sterilisasi secara mekanik yaitu penggunaan saringan atau filter untuk bahan yang akibat adanya pemanasan tinggi atau tekanan tinggi mengalami perubahan atau penguraian (Darmandi 2008).

#### **F. *Candida albicans***

##### **1. Klasifikasi *Candida albicans***

Klasifikasi *Candida albicans* menurut Waluyo (2004) adalah:

Kingdom	: Fungi
Division	: Thallophyta
Subdivision	: Fungi
Class	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Family	: Cryptococcaceae
Genus	: Candida
Species	: <i>Candida albicans</i>

##### **2. Morfologi**

Pada sediaan apus eksudat, *Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran  $2-3 \times 4-6 \mu\text{m}$  yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). *Candida albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada rongga-rongga diantara sel. *Candida albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, *Candida albicans* juga bisa menghasilkan hifa sejati. *Candida 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  $2-5 \mu \text{ x } 3-6 \mu$  hingga  $2-5,5 \mu \text{ x } 5-28 \mu$ . *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa *strain*, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar  $8-12 \mu$ . (Simatupang 2009).

### 3. Karakteristik

Pada kondisi anaerob dan aerob, *Candida albicans* mampu melakukan metabolisme sel. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas & Chaffin 2005). Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  dalam suasana aerob sedangkan pada suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan  $\text{CO}_2$  (Waluyo 2004).

### 4. Patogenesis

Jamur *Candida albicans* merupakan mikroorganisme endogen pada rongga mulut, traktus gastrointestinal, traktus genitalia wanita dan kadang-kadang pada kulit. Secara mikroskopis ciri-ciri *Candida albicans* adalah yeast dimorfik yang dapat tumbuh sebagai sel yeast, sel hifa atau pseudohifa. *Candida albicans* dapat ditemukan 40-80% pada manusia normal, yang dapat sebagai mikroorganisme komensal atau patogen. Infeksi *Candida albicans* pada umumnya merupakan infeksi opportunistik, dimana penyebab infeksinya dari flora normal *host* atau dari mikroorganisme penghuni sementara ketika *host* mengalami kondisi *immunocompromised*. Dua faktor penting pada infeksi opportunistik adalah adanya paparan agent penyebab dan kesempatan terjadinya infeksi. Faktor predisposisi meliputi penurunan imunitas yang diperantarai oleh sel, perubahan membran mukosa dan kulit serta adanya benda asing (Lestari 2010).

## **G. Kandidiasis Vulvovaginalis**

Kandidiasis vulvovaginalis (KVV) merupakan salah satu bentuk infeksi pada vagina yang umumnya menyerang wanita dan dapat dijumpai di seluruh dunia terutama di negara – negara berkembang. Diperkirakan sekitar dua pertiga wanita akan menderita setidaknya satu kali dari KVV dalam hidup mereka dimana 40-45% darinya akan mengalami infeksi berulang dua kali atau lebih. KVV adalah suatu penyakit organ reproduksi dimana terdapat jamur pada dinding vagina yang disebabkan oleh genus *Candida albicans* dan ragi (*yeast*) lain dari genus *Candida* (Bahupati 2015).

*Candida albicans* merupakan penyebab paling umum dari vulvovaginalis. Hilangnya pH asam merupakan predisposisi timbulnya KKV. Keadaan normal pH yang asam dipertahankan oleh bakteri vagina. Diabetes Mellitus, kehamilan, progesteron atau antibiotik merupakan predeposisi 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. Vulvovaginalis 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).

## **H. Antijamur**

### **1. Pengertian**

Antijamur merupakan zat berkhasiat yang digunakan untuk penanganan penyakit jamur. Umumnya suatu senyawa dikatakan sebagai zat antijamur apabila senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur (Siswandono & Soekardjo 1995).

### **2. Mekanisme antijamur**

Zat antijamur bekerja menurut salah satu dari berbagai cara, antara lain menyebabkan kerusakan dinding sel, perubahan permeabilitas sel, perubahan

molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, atau penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Kerusakan pada salah satu situs ini dapat mengawali terjadinya perubahan-perubahan yang menuju pada matinya sel tersebut (Pelczar & Chan 1988).

**2.1 Kerusakan pada dinding sel.** Dinding sel merupakan pelindung bagi sel juga berpartisipasi di dalam proses-proses fisiologi tertentu. Strukturnya dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubah bentuk dari dinding sel tersebut. Contoh obat adalah obat antijamur golongan imidazol seperti klotrimazol, ketokenazol, ekonazol, oksinazol, sulkonazol, dan mikonazol (Lubis 2008).

**2.2 Perubahan permeabilitas sel.** Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta secara selektif mengatur aliran keluar-masuknya zat antara sel dengan lingkungan luarnya. Membran memelihara integritas komponen-komponen seluler. Membran ini juga merupakan situs beberapa reaksi enzim. Kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Contoh obat adalah nystatin, naftitin, terbinafine, dan butenafin (Lubis 2008).

**2.3 Perubahan molekul protein dan asam nukleat.** Hidupnya suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat pada membran alamiah sel tersebut. Suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini, yaitu mendenaturasikan protein dan asam-asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) *ireversibel* (tak dapat balik) komponen-komponen seluler yang vital ini. Contoh obat adalah griseofulvin dan blastisidin (Lubis 2008).

**2.4 Penghambatan kerja enzim.** Kerja enzim merupakan sasaran potensial bagi obat yang bekerjanya sebagai suatu penghambat. Banyaknya zat kimia telah diketahui dapat mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Contoh obat adalah golongan tiazol yaitu flukonazol dan itrakonazol (Lubis 2008).

**2.5 Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein.** DNA, RNA, dan protein memegang peranan sangat penting di dalam proses kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel. Contoh obat adalah flusitosin dan amorolfine (Lubis 2008).

### **I. Metode Pengujian Aktivitas Antijamur**

Uji aktivitas antijamur pada penelitian ini adalah dengan menggunakan metode difusi. Metode difusi adalah suatu uji aktivitas dengan menggunakan cakram yang berliang renik atau suatu silinder tidak beralas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada pemberian padat yang telah ditanami dengan biakan bakteri yang akan diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah daerah hambatan jernih yang mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan terhadap bakteri yang diperiksa. Metode ini zat yang akan ditentukan aktivitas antimikroba berdifusi pada lempeng *Sabouroud Glucose Agar* yang telah ditanami mikroba yang akan diuji. Dasar penggunaannya adalah terbentuk atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan jamur di sekeliling cakram atau silinder yang berisi zat antimikroba (Harminta 2004). Keuntungan metode difusi adalah ekonomis, sederhana (mudah dibuat) dan reproduksibel.

### **J. Media**

Media adalah tempat jaringan untuk tumbuh dan mengambil nutrisi yang mengandung kehidupan jaringan. Media tumbuh menyediakan berbagai bahan yang diperlukan jaringan untuk hidup dan memperbanyak diri, mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik. Di dalam media diperlukan persyaratan tertentu, yaitu media harus mengandung semua unsur hara yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba. Media harus mempunyai tekanan osmosa, tegangan permukaan dan Ph sesuai dengan kebutuhan mikroba. Media harus dalam keadaan steril artinya sebelum ditanami mikroba yang dimaksud, media tidak ditumbuhi oleh mikroba lain (Abdurahman 2008).

Medium dapat dibedakan menjadi 3 berdasarkan konsistensinya yaitu medium cair, semipadat, dan padat. Medium cair (*liquid broth*) hanya mengandung nutrien-nutrien yang dilarutkan dalam aquadest. Contoh medium cair adalah *Nutrient Broth (NB)*, glukosa broth, dan lain-lain. Medium ini dapat digunakan untuk perbanyak mikroorganisme dalam jumlah besar, uji fermentasi, dan berbagai uji lain. Medium semipadat (semisolid) sama dengan medium padat tetapi konsentrasi bahan pematat lebih sedikit sehingga konsistensinya seperti jeli. Medium semisolid terutama digunakan untuk eksperimen motilitas mikroorganisme ataupun hidrolisis gelatin. Medium padat (solid) mengandung nutrient aquades ditambah bahan pematat (*solidifying agent*) yaitu agar. Medium padat sering digunakan untuk isolasi mikroorganisme, uji aktivitas biokimiawi, perhitungan jumlah mikroorganisme dan lain-lain (Rakhmawati 2012).

### **K. Ketokonazole**

Ketokonazole merupakan salah satu agen antifungi yang sering digunakan dalam pengobatan kandidiasis. Cara kerja dari ketokonazole meliputi beberapa mekanisme, tetapi yang paling utama adalah dengan menghambat sintesis ergosterol sehingga menyebabkan kerusakan dinding sel. Ketokonazole dalam pengobatan kandidiasis digunakan dalam sediaan oral karena absorbsinya cukup baik. Ketokonazole juga dapat digunakan secara topikal. Ketokonazol merupakan obat antifungi yang efektif untuk *Candida albicans*, tetapi pemakaian ketokonazole pada penderita gangguan hepar tidak dianjurkan karena bersifat hepatotoksik (Widiarta 2008).

### **L. Landasan Teori**

Alpukat merupakan salah satu genus tanaman yang termasuk famili Lauraceae. Alpukat secara luas dibudidayakan di daerah tropis dan subtropis. Kandungan senyawa kimia dari ekstrak daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) ditemukan senyawa saponin, tanin, flavonoid, alkaloid (Antia *et al.* 2005). Ekstrak

daun alpukat memiliki aktivitas anti-inflamasi, analgesik, dan juga antijamur (David *et al.* 2015).

Pada penelitian ini metode ekstraksi yang digunakan adalah soxhletasi. Hasil dari ekstraksi kemudian dilanjutkan fraksinasi untuk mendapatkan fraksi yang aktif. Secara umum, indeks polaritas pelarut memiliki dampak yang besar pada aktivitas antijamur. Pelarut yang digunakan pada penelitian ini adalah metanol, *n*-heksana, etil asetat dan air. Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia  $\text{CH}_3\text{OH}$ . Metanol merupakan bentuk alkohol yang paling sederhana. Senyawa yang dapat larut dalam metanol adalah flavonoid, saponin, tannin, alkaloid, triterpenoid, minyak atsiri, dan glikosida (Astarina *et al.* 2013). *n*-heksana 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*-heksana 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, 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). Etil asetat dapat menyari komponen minyak atsiri tertentu, asam lemak, dan senyawa fenolik seperti fenol-fenol, asam fenolat, fenil propanoid, dan flavonoid (Harborne 1987). Air adalah pelarut yang sangat polar digunakan untuk menyari senyawa-senyawa organik polar sehingga cocok digunakan untuk pelarut polar dalam proses fraksinasi. Air dipilih sebagai pelarut karena dapat melarutkan garam, alkaloid, minyak menguap, glikosida, tannin, gula, gom, pati, protein, lender, enzim, lilin, lemak, pectin, zat warna asam organik (Depkes 2005).

Ekstrak etil asetat daun alpukat tercatat memiliki aktivitas antimikroba yang paling tinggi dibandingkan ekstrak lainnya yang menggunakan pelarut polar dan non polar, sehingga fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif terhadap *Candida albicans* (Nathaniel 2015). Etil asetat adalah pelarut yang bersifat semi polar, sedangkan senyawa kimia yang larut dalam etil asetat adalah flavonoid. Golongan senyawa yang terdapat pada fraksi teraktif adalah flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa aktif dari alpukat yang memiliki aktivitas antimikroba (Idris *et al* 2009).

### **M. Hipotesis**

Berdasarkan tinjauan pustaka dan landasan teori, maka dapat disusun hipotesis dalam penelitian ini, yaitu :

Pertama, ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun alpukat (*Persea americana*, Mill) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Kedua, fraksi etil asetat dengan konsentrasi 50% merupakan fraksi yang paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Ketiga, golongan senyawa pada fraksi teraktif dari ekstrak daun alpukat adalah flavonoid.

## **BAB III**

### **METODE PENELITIAN**

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

Populasi pada penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana*, Mill) yang berasal dari tanaman alpukat yang ditanam di daerah Dempo, Surakarta, Jawa Tengah.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat (*Persea americana*, Mill) yang diambil secara acak dengan memilih daun yang tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua dan masih segar dari daerah Dempo, Surakarta, Jawa Tengah pada bulan Januari 2017.

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

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

Variabel utama dalam penelitian ini adalah aktivitas antijamur dari ekstrak metanol daun alpukat, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air dari daun alpukat terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

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

Variabel utama yang telah diidentifikasi terlebih dahulu dapat diklasifikasikan berdasarkan pola hubungan sebab akibat menjadi variabel bebas, variabel terkendali dan variabel tergantung.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak metanol daun alpukat, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air.

Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah fungi, media, suhu inkubasi, waktu inkubasi, sterilisasi dan kondisi laboratorium.

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

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

Pertama, daun alpukat adalah daun yang masih segar, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda yang diambil dari Dempo, Surakarta, Jawa Tengah.

Kedua, serbuk daun alpukat adalah serbuk yang diperoleh dari daun alpukat yang sudah dicuci bersih, dijemur, dipotong-potong dan dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C dengan parameter kadar air kurang dari 10%. Selanjutnya diblender dan diayak dengan ayakan no. 40.

Ketiga, ekstrak daun alpukat adalah hasil ekstraksi dari daun alpukat dengan cara soxhletasi menggunakan pelarut metanol.

Keempat, fraksi *n*-heksana adalah ekstrak daun alpukat yang kemudian difraksinasi menggunakan pelarut *n*-heksana.

Kelima, fraksi etil asetat adalah residu fraksi *n*-heksana dari daun alpukat yang kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut etil asetat.

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

Ketujuh, *Candida albicans* ATCC 10231 adalah jamur *Candida albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Laboratorium Universitas Setia Budi.

Kedelapan, uji aktivitas antijamur dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode difusi.

Kesembilan, metode difusi adalah metode yang digunakan untuk mengukur zona hambat pertumbuhan jamur yang terbentuk.

## C. Bahan dan Alat

### 1. Bahan

Bahan utama yang digunakan pada penelitian ini adalah serbuk daun alpukat, *Candida albicans* ATCC 10231, metanol, *n*-heksana, etil asetat, DMSO 1%, aquadest, HCl 2N, Mg, Anhidrida asetat, Kloroform, Asam sulfat pekat, Anisaldehid, FeCl<sub>3</sub> 1%, Sitroborat, Dragendorf, Mayer, Wagner, Fenol red dan ketokonazole. Medium yang digunakan adalah *Sabouroud Glucose Agar* (SGA), *Sabouroud Glucose Cair* (SGC), *Lactofenol Cotton Blue* (LCB), glukosa, laktosa, maltosa, dan sukrosa.

### 2. Alat

Alat-alat yang digunakan adalah labu alas bulat, badan soxhlet, kondensor, timbangan analitik, corong pemisah, evaporator, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, pinset, lampu spiritus, oven, mesin penyerbuk, ayakan, mikroskop, autoklaf,

gelas ukur, erlemeyer, mikro pipet, pipet tetes, tabung durham, *moisture balance* dan inkubator.

## **D. Jalannya Penelitian**

### **1. Determinasi tanaman**

Tahap pertama penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel daun alpukat (*Persea americana*, Mill) berdasarkan ciri-ciri morfologis yang ada pada daun alpukat yang dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Determinasi ini bertujuan untuk memastikan bahwa memang benar tanaman yang digunakan adalah *Persea americana*, Mill.

### **2. Persiapan bahan**

Daun alpukat (*Persea americana*, Mill) yang berasal dari tanaman alpukat yang ditanam di Dempo, Surakarta, Jawa Tengah. Daun yang diambil adalah daun yang tidak terlalu muda dan tidak terlalu tua dan masih segar. Daun yang diambil dicuci dengan air untuk menghilangkan kotoran atau debu yang menempel, lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50° C.

### **3. Pembuatan serbuk daun alpukat (*Persea americana*, Mill)**

Daun alpukat diambil daun yang tidak terlalu muda dan juga tidak terlalu tua dan masih segar dari daerah Dempo, Surakarta, Jawa Tengah. Penyerbukan daun alpukat dilakukan dengan cara daun alpukat dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dipotong-potong sedemikian rupa, lalu dikeringkan dalam oven 50°C selama 4-7 hari, setelah itu diserbuk dan diayak menggunakan ayakan no 40.

### **4. Penetapan susut pengeringan serbuk daun alpukat**

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan cara serbuk daun alpukat (*Persea americana*, Mill) dimasukkan alat *moisture balance* sebanyak 2 g. Suhu temperatur diatur sebesar 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan dan hasil dinyatakan dalam bentuk %. Kadar air memenuhi syarat jika kadar air suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10% (KEMENKES RI 2010).

## 5. Pembuatan ekstrak metanol daun alpukat

Serbuk daun alpukat ditimbang sebanyak 50 g dibungkus dengan kertas saring dan kedua ujungnya diikat dengan benang. Sampel kemudian dimasukkan dalam alat soxhlet. Lalu diisi dengan pelarut metanol sebanyak satu setengah sirkulasi. Ekstraksi dilakukan dengan memanaskan labu dan dibiarkan sampai beberapa kali sirkulasi hingga larutan dalam tabung soxhletasi berwarna jernih.

## 6. Uji bebas metanol

Sebelum diuji daya antijamur ekstrak daun kembang sepatu tersebut terlebih dahulu harus diyakinkan bahwa ekstrak tersebut sudah tidak mengandung metanol. Uji bebas metanol dilakukan dengan cara esterifikasi metanol, ekstrak ditambah asam asetat dan asam sulfat kemudian dipanaskan bila tidak ada bau ester berarti sudah tidak ada metanol (Depkes 1987).

## 7. Penetapan persen rendemen

Persen rendemen diperoleh dari menimbang hasil dari ekstrak kemudian dibagi berat serbuk daun alpukat dan dikalikan 100%.

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

## 8. Pembuatan fraksi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun alpukat kemudian dilarutkan dengan pelarut metanol 10 ml dan air 65 ml, kemudian difraksinasi dengan menggunakan pelarut *n*-heksana sebanyak tiga kali menggunakan corong pisah. Fraksi *n*-heksana yang didapat dipekatkan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksana kemudian dilanjutkan lagi fraksinasi menggunakan etil asetat 75 ml sebanyak 3 kali. Fraksi etil asetat kemudian dipekatkan dengan menggunakan oven pada suhu 40-50°C sedangkan fraksi air dipekatkan dalam waterbath.

## 9. Pengujian kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi daun alpukat

**9.1 Saponin.** Sebanyak 0,5 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif masing-masing dilarutkan air panas dalam tabung reaksi kemudian dikocok kuat-

kuat selama  $\pm$  10 detik. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya busa yang stabil (Setyowati *et al* 2014).

**9.2 Tanin.** Sebanyak 0,5 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif masing-masing dimasukkan dalam tabung reaksi kemudian dilarutkan dengan 10 ml aquadest, saring dan filtrat ditambah 3 tetes  $\text{FeCl}_3$  1%. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuk warna hijau kehitaman (Setyowati *et al* 2014).

**9.3 Flavonoid.** Sebanyak 0,5 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif masing-masing dilarutkan dalam metanol panas dan ditambahkan 0,1 gram serbuk Mg dan 5 tetes HCL pekat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya warna jingga (Setyowati *et al* 2014).

**9.4 Alkaloid.** Sebanyak 0,5 gram serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif masing-masing ditambah 1 ml HCL 2N dan 9 ml aquadest kemudian panaskan selama  $\pm$  2 menit, dinginkan dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 3 bagian, tiap filtrat diberi peraksi Mayer, Wagner, dan Dragendorff. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya endapan putih, terbentuk warna coklat kemerahan, terbentuk jingga (Setyowati *et al* 2014).

**9.5 Triterpenoid/steroid.** Sebanyak 25 mg serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif masing-masing dilarutkan dalam 2 ml kloroform dalam tabung reaksi, disaring dan filtrat, lalu ditambahkan 10 tetes asetat anhidrida asetat kemudian dikocok dengan baik dan 1 ml asam sulfat pekat ditambahkan dengan hati-hati pada dinding tabung reaksi. Reaksi (+) steroid berwarna coklat kemerahan, reaksi (+) triterpenoid bila terbentuk cincin berwarna merah (Sumiati *et al* 2016).

## 10. Sterilisasi

Sterilisasi inkas menggunakan formalin, media agar yang digunakan disterilkan terlebih dahulu dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Alat-alat dari gelas yang ada ukurannya disterilkan dengan menggunakan autoklaf dan yang tidak ada ukurannya disterilkan dengan oven pada suhu 170-180°C selama 2 jam, sedangkan alat-alat seperti jarum ose disterilkan dengan pemanasan api langsung.

## 11. Pembuatan suspensi jamur uji

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

Beberapa ose biakan *Candida albicans* ATCC 10231 yang berada dalam serum diambil dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi 10 ml SGC, campuran dikocok sampai homogen dan didapat kekeruhan sesuai dengan standart Mc Farland 0,5.

## 12. Identifikasi jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi makroskopis *Candida albicans* ATCC 10231 dari biakan murni ditanam pada media SGA yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam akan terbentuk koloni lunak berwarna krem atau putih kekuningan, berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong 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* ATCC 10231 diambil berdasarkan reaksi fermentasi karbohidrat dan terbentuknya gas dalam tabung. Spesies *Candida albicans* ATCC 10231 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).

Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis dengan cara diambil sediaan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dari serum kurang lebih 2 ose, sediaan tersebut diletakkan pada object glass kemudian ditetes *Lactofenol Cotton Blue*. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis dengan cara diambil sediaan jamur *Candida albicans* ATCC 10231

kurang lebih 2 ose, sediaan tersebut diletakkan pada object glass yang sudah ditetesi *Lactofenol Cotton Blue* kemudian ditutup dengan menggunakan cover glass. Pada sediaan apus eksudat, *Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran  $2-3 \times 4-6 \mu\text{m}$  yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). *Candida albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada rongga-rongga diantara sel. *Candida albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, *Candida albicans* juga bisa menghasilkan hifa sejati. *Candida 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  $2-5 \mu\text{m} \times 3-6 \mu\text{m}$  hingga  $2-5,5 \mu\text{m} \times 5-28 \mu\text{m}$ . *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar  $8-12 \mu\text{m}$ . (Simatupang 2009).

### 13. Pengujian aktivitas antijamur daun alpukat (*Persea americana*, Mill)

Sediaan ekstrak metanol dan ketiga sediaan fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dari daun alpukat diuji aktivitas antijamurnya terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan metode difusi. Larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air dibuat masing-masing tiga konsentrasi yaitu 12,5%, 25% dan 50% menggunakan pelarut DMSO 1%. Jamur uji diinokulasi pada media *Sabouroud Glukosa Agar* 30 ml yang berada dalam cawan petri yang telah memadat dengan menggunakan kapas lidi steril yang telah dicelupkan dalam biakan jamur. Kapas lidi diusapkan pada seluruh media hingga rata secara aseptis, kemudian diamkan 10 menit agar suspensi biakan terdifusi ke media. Dipipet 30 $\mu\text{l}$

larutan stok ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air kemudian diteteskan dalam kertas cakram.

Kertas cakram dari semua konsentrasi kemudian diletakkan diatas media, sebagai kontrol positif diletakkan pula kertas cakram ketokonazole dan sebagai kontrol negatif diletakkan pula kertas cakram yang telah ditetesi dengan DMSO 1%. Replikasi dilakukan tiga kali. Masa inkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam kemudian dilakukan pengamatan dan pengukuran zona hambat yang terbentuk.

#### **14. Identifikasi golongan senyawa pada fraksi teraktif secara Kromatografi Lapis Tipis**

Fraksi teraktif dari ekstrak metanol daun alpukat (*Persea americana*, Mill) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari sisi bawah lempeng KLT. Lapisi bak kromatografi dengan kertas saring. Bak kromatografi dijenuhkan dengan fase gerak yang sesuai, ditandai dengan kertas saring terbasahi semuanya. Setelah totolan kering, lempeng KLT dimasukkan pada bak kromatografi yang sudah dijenuhkan, elusi dilakukan sampai jarak tertentu. Lempeng KLT diangkat dan diangin-anginkan hingga kering, kemudian noda dideteksi di bawah sinar UV 254 nm dan 366 nm serta pereaksi tertentu. Bercak yang terdeteksi kemudian ditentukan harga Rf dan penampakan warnanya.

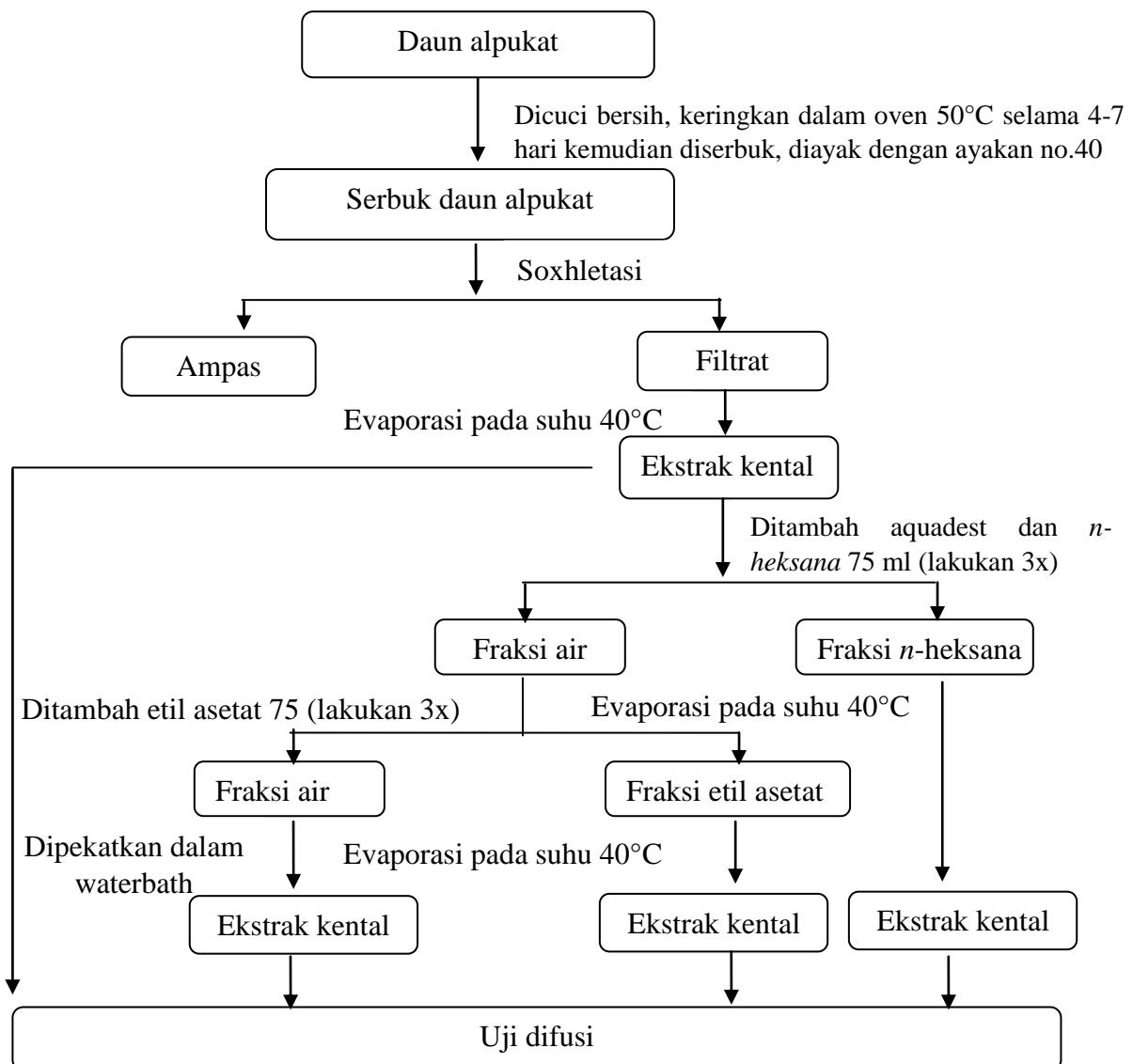
**14.1 Identifikasi saponin.** Identifikasi adanya senyawa saponin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya kloroform : metanol : air (65 : 35 : 2). Dideteksi di bawah sinar UV 254 nm berwarna kuning dan dibawah sinar UV 366 nm berwarna hijau. Pereaksi semprot menggunakan anisaldehid dengan hasil berwarna ungu dan dibawah bercak sinar biasa berwarna biru (Harbone 1987).

**14.2 Identifikasi tanin.** Identifikasi adanya senyawa tanin dilakukan menggunakan KLT, fase diam silika gel GF 254 dan fase geraknya menggunakan *n*-heksana : etil asetat (3:7). Dideteksi di bawah sinar UV 366 nm berwarna hitam. Pereaksi semprot yang digunakan adalah FeCl<sub>3</sub> 1% (Harborne 2006).

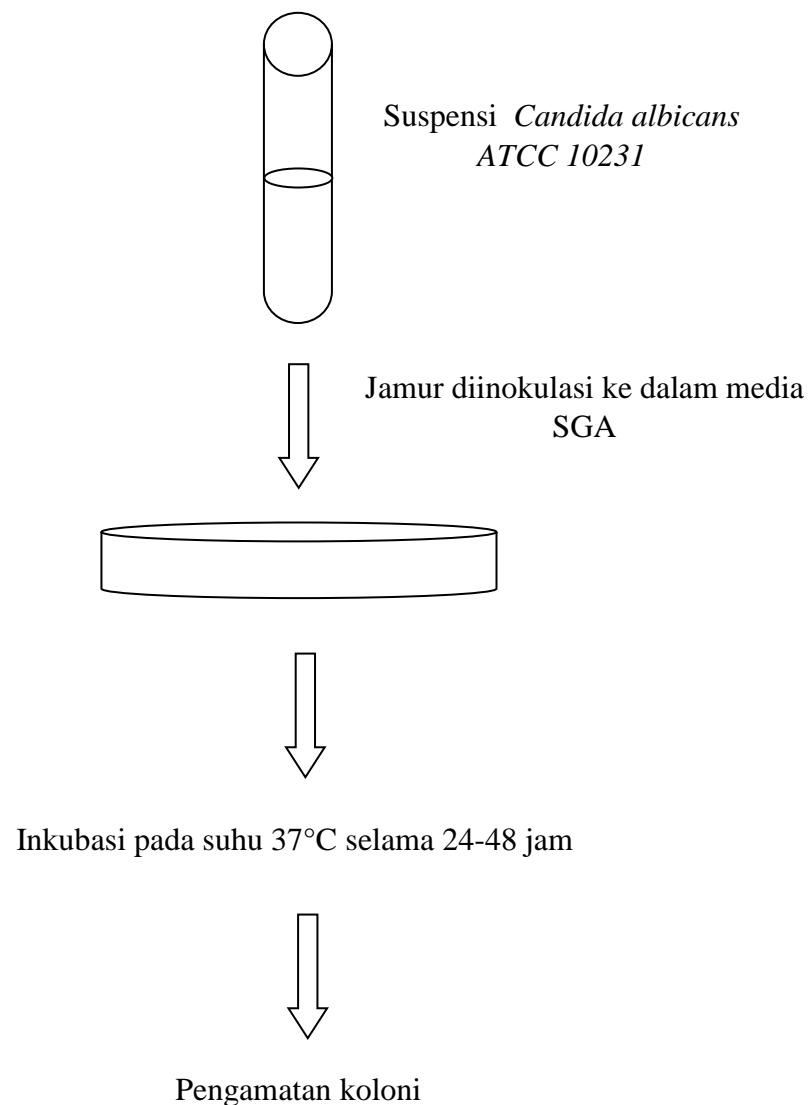
**14.3 Identifikasi flavonoid.** Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> dengan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4:1:5). Pereaksi penampak sitroborat. Flavonoid akan berfluoresensi pada sinar UV 366 nm. Hasil positif jika terbentuk fluoresensi kuning, biru dan ungu pada UV 366 nm (Harborne 1987).

**14.4 Identifikasi alkaloid.** Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> dengan fase gerak yang digunakan etil asetat : metanol : air (90:9:1) dengan pereaksi semprot Dragendorff. Senyawa alkaloid akan terlihat bercak jingga sampai merah tua setelah disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Alkaloid akan menunjukkan peredaman pada sinar UV 254 nm dan beberapa alkaloid akan berfluoresensi kuning atau biru (Harborne 1987).

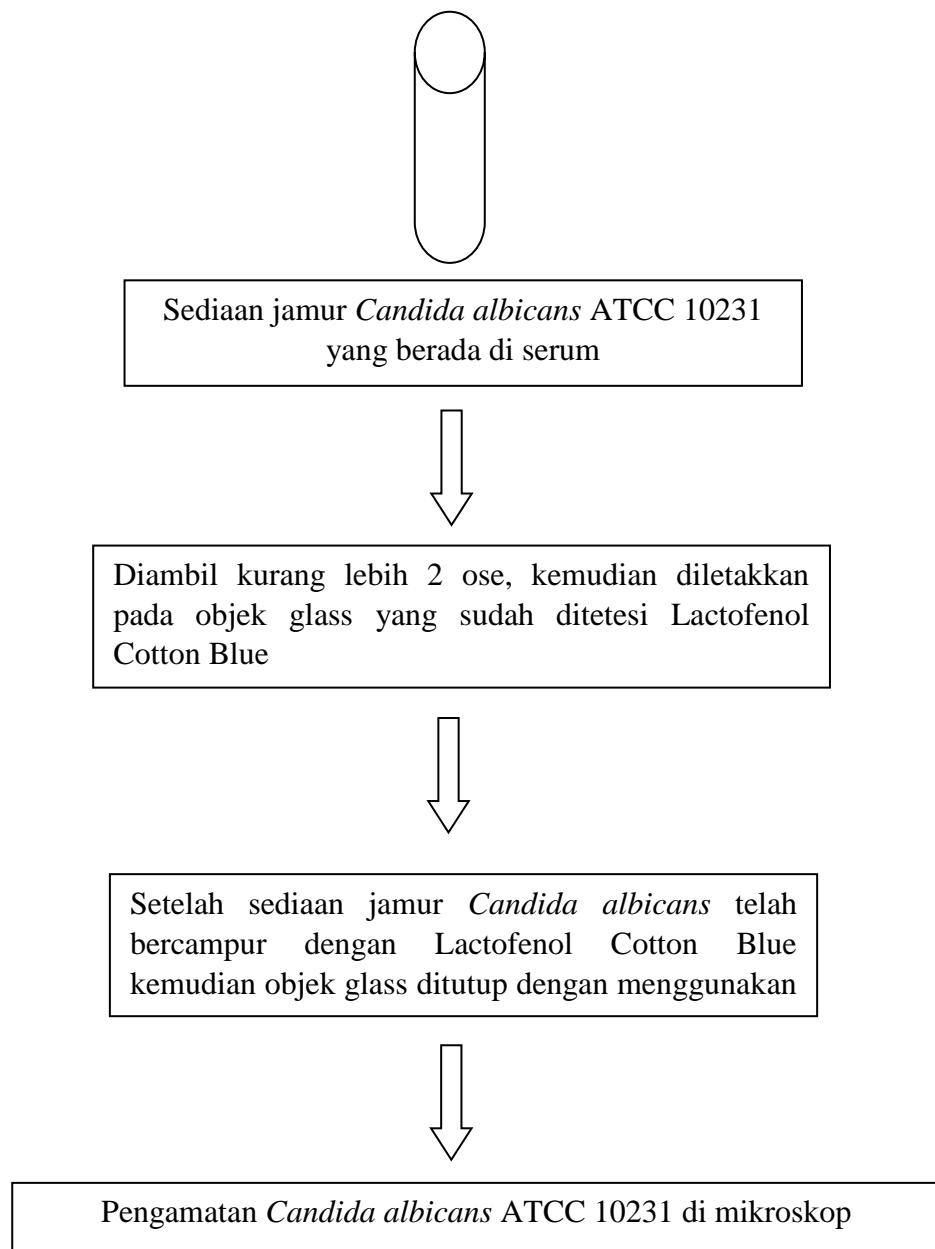
**14.5 Identifikasi triterpenoid/steroid.** Untuk identifikasi triterpenoid, fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub>, diaktifkan pada suhu 105°C selama 3-5 menit. Fase gerak menggunakan *n*-heksana : etil asetat (1:1). Simplisia dikatakan mengandung triterpenoid apabila ditambahkan dengan pereaksi *Lieberman Bouchardat* memberikan noda yang berwarna ungu atau biru dan beberapa senyawa juga berfluoresensi di bawah sinar UV 366 nm (Harborne, 1987). Untuk identifikasi steroid, fase diam yang digunakan adalah silika gel GF<sub>254</sub> dan fase gerak yang digunakan *n*-heksana : etil asetat (4:1). Noda dapat terlihat dengan penyemprotan pada lempeng dengan pewarna noda anisaldehid asam sulfat dan kemudian dipanaskan. Steroid bebas ditunjukkan dengan terbentuknya warna merah ungu, atau ungu (Harborne 2006).



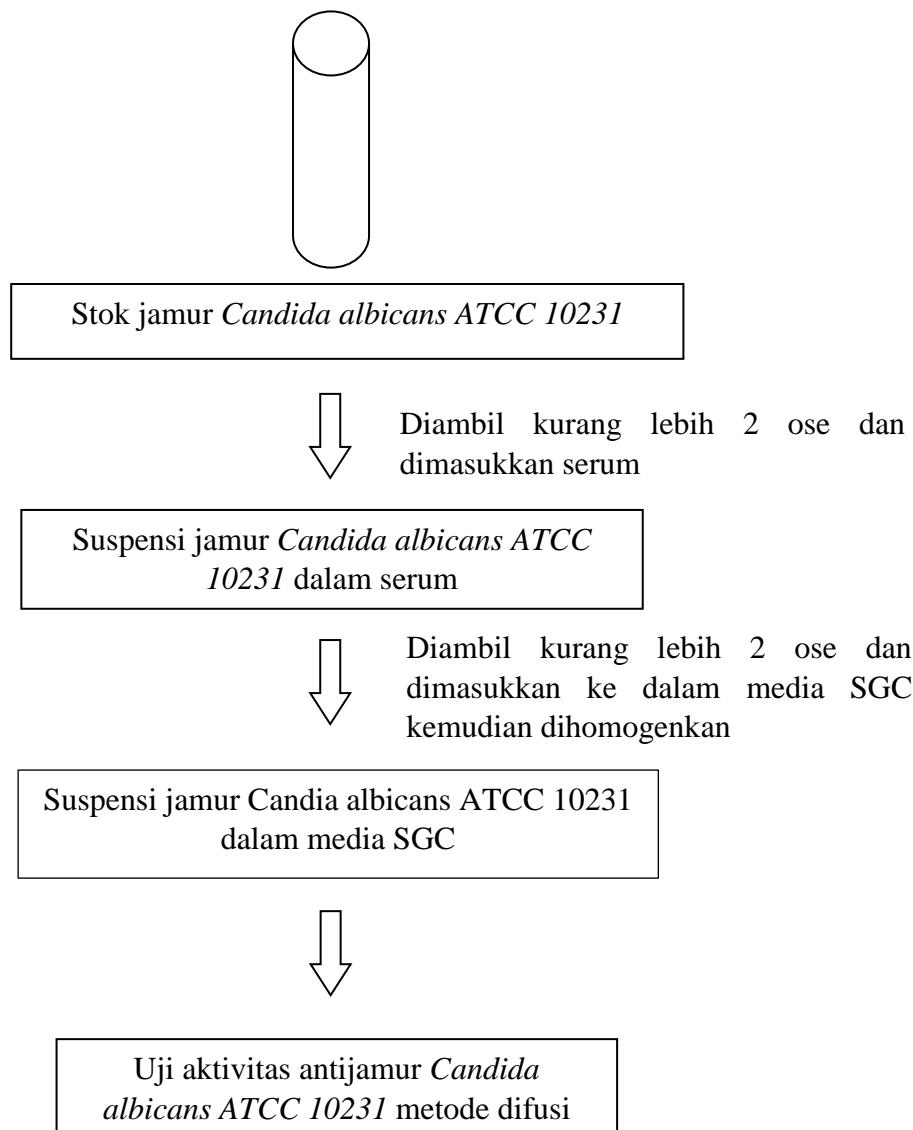
**Gambar 1. Skema penyarian daun alpukat**



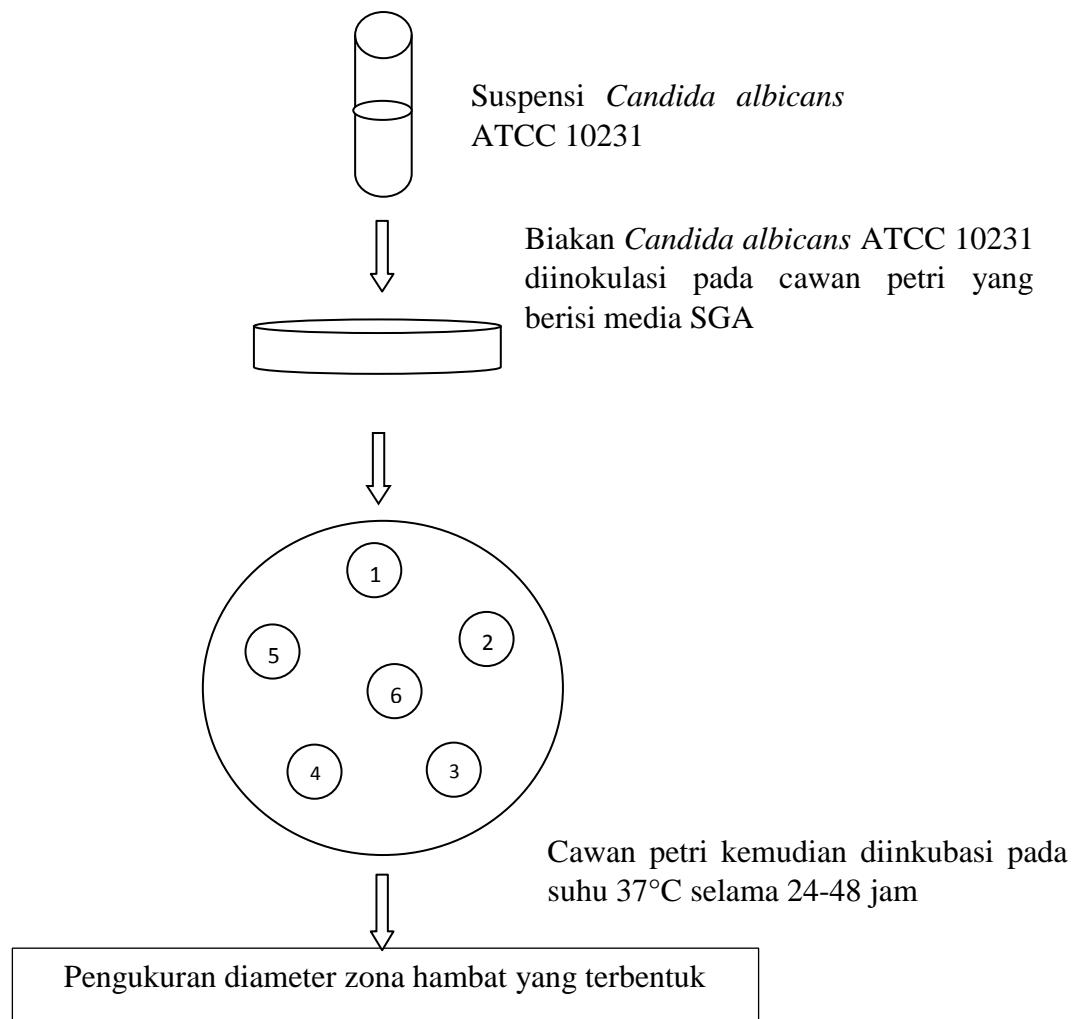
**Gambar 2. Skema identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara makroskopis**



**Gambar 3. Skema identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis**



**Gambar 4. Skema pembuatan suspensi *Candida albicans* ATCC 10231**



Keterangan :

- 1 : ekstrak (12,5%, 25%, 50%)
- 2: fraksi n-heksana (12,5%, 25%, 50%)
- 3 : fraksi etil asetat 12,5%, 25%, 50%)
- 4 : fraksi air (12,5%, 25%, 50%)
- 5 : kontrol negatif (DMSO 1%)
- 6 : kontrol positif (ketokonazole)

**Gambar 5. Skema kerja uji aktivitas antijamur daun alpukat terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 secara difusi**

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Determinasi Tanaman**

Determinasi tanaman merupakan tahap pertama dalam penelitian ini. Determinasi tanaman dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang digunakan, menyesuaikan ciri morfologis tanaman, dan menghindari kesalahan dalam pengumpulan bahan.

Determinasi dari tanaman alpukat dilakukan di Laboratorium Morfologi Sistematika Tumbuhan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Hasil determinasi yang diperoleh adalah tanaman alpukat (*Persea Americana*, Mill). Hasil determinasi tanaman yang digunakan dalam penelitian ini dapat dilihat pada lampiran 1.

#### **B. Pengeringan Bahan dan Pembuatan Serbuk**

##### **1. Persiapan Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun alpukat yang berasal dari tanaman alpukat di Dempo Surakarta Jawa Tengah sebanyak 5000 gram. Daun yang diambil dicuci lalu dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C selama 7 hari dan diperoleh 1200 gram daun kering dengan rendemen 24 %. Perhitungan rendemen dapat dilihat pada Lampiran 4.

##### **2. Pembuatan dan Penetapan Susut Pengeringan Serbuk Daun Alpukat**

Daun alpukat yang sudah kering sebanyak 1200 diayak dengan pengayak nomer 40 agar diperoleh serbuk daun alpukat yang mempunyai derajat kehalusan yang relatif homogen. Hasil penyebukan berupa serbuk kering dengan bobot 950 gram kemudian disimpan dalam wadah kering dan tertutup rapat agar tidak terkena cemaran.

Penetapan susut pengeringan dilakukan dengan alat *moisture balance* dan hasil pembacaan susut pengeringan pada alat ini ditunjukkan dengan tabel 2.

**Tabel 2. Hasil pengukuran susut pengeringan serbuk daun alpukat**

Berat awal (gram)	Berat akhir (gram)	Susut pengeringan (%) ± SD
2,00	1,87	6,50
2,00	1,86	7,00
2,00	1,86	7,00
Rata-rata ± SD		6,83 ± 0,29

Rata-rata presentase susut pengeringan serbuk daun alpukat yaitu sebesar  $6,83 \pm 0,29\%$ . Hal ini menunjukkan bahwa serbuk daun alpukat telah memenuhi persyaratan kadar air simplisia dimana proses pengeringan sudah dapat menghentikan proses enzimatik dalam sel bila kadar air kurang dari 10% (Kemenkes RI 2010).

### C. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Alpukat

Pembuatan ekstrak metanol daun alpukat adalah dengan menggunakan metode soxhletasi. Soxhletasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan alat soxhlet yang bekerja secara berkesinambungan dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Sampel berupa serbuk daun alpukat sebanyak 50 gram diletakkan dalam kantong yang terbuat dari kertas saring yang diikat kedua ujungnya, kemudian dimasukkan ke dalam badan soxhlet. Soxhletasi dipilih dikarenakan metode ini dapat menyari lebih sempurna, proses ekstraksi lebih cepat dan pelarut yang diperlukan lebih sedikit. Pelarut yang digunakan dalam ekstraksi adalah metanol. Metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar dan non polar. Hasil rendemen ekstrak metanol daun alpukat dapat dilihat pada tabel 3. Perhitungan dapat dilihat pada lampiran 4.

**Tabel 3. Hasil pembuatan ekstrak daun alpukat**

Bobot serbuk (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen (%)
500	142,8	28,56

### **D. Hasil uji bebas metanol ekstrak daun alpukat**

Identifikasi uji bebas metanol pada ekstrak daun alpukat bertujuan untuk memastikan bahwa dalam ekstrak daun alpukat tidak lagi mengandung metanol. Hasil pengujian bebas metanol ekstrak daun alpukat dapat dilihat pada tabel 4.

**Tabel 4. Hasil pengujian bebas metanol ekstrak daun alpukat**

Esterifikasi	Hasil uji	Pustaka
Ekstrak + asam asetat + asam sulfat kemudian dipanaskan	Tidak berbau ester	Tidak berbau ester berarti sudah tidak ada metanol (Depkes 1987).

Hasil uji yang telah dilakukan menunjukkan bahwa ekstrak daun alpukat sudah bebas dari pelarutnya yaitu metanol, hasil ditunjukkan dengan tidak adanya bau ester dari metanol.

### **E. Pembuatan Fraksi Daun Alpukat**

Pembuatan fraksi daun alpukat dengan cara menimbang 10 gram ekstrak kental kemudian dimasukkan ke dalam beaker glass ditambah dengan metanol 10 ml dan air 65 ml. Campuran ekstrak kental dimasukkan ke dalam corong pisah kemudian ditambahkan *n*-heksana sebanyak 75 ml. Gojog corong pisah selama 15 menit agar dua fase larutan tercampur. Corong pisah kemudian didiamkan agar terjadi pemisahan antara dua fase. Fase air berada di bawah sedangkan fase *n*-heksana berada di atas. Hasil dari fase *n*-heksana ditampung dalam wadah dan fraksi air dimasukkan lagi ke dalam corong kemudian ditambahkan lagi *n*-heksan 75 ml (lakukan 3x replikasi). Hasil fraksi *n*-heksana kemudian dipekatkan menggunakan oven pada suhu 50°C. Residu dari *n*-heksana kemudian dimasukkan kembali ke dalam corong pisah dan ditambahkan etil asetat sebanyak 75 ml dengan cara yang sama (lakukan 3x replikasi). Fase air berada di bawah sedangkan fase etil asetat berada di atas. Tampung hasil fraksi etil asetat dan air kemudian fraksi etil asetat dipekatkan menggunakan oven pada suhu 50°C sedangkan fraksi air dipekatkan menggunakan water bath. Hasil rendemen dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada tabel 5 dan perhitungan hasil rendemen pada lampiran 4

**Tabel 5. Rendemen hasil fraksi *n*-heksana**

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
1	10	2,98	29,8
2	10	2,93	29,3
3	10	3,07	30,7
4	10	3,01	30,1
Rata-rata $\pm$ SD			29,975 $\pm$ 0,58

Berdasarkan tabel diatas menunjukan bahwa perhitungan prosentase rata-rata rendemen fraksi *n*-heksana daun alpukat didapat  $29,975 \pm 0,58\%$ . Pada saat fraksinasi *n*-heksana, ada emulsi yang tidak terpisah di bagian tengah dan dibuang, sehingga fraksi *n*-heksana tidak terbuang dan ada metabolit sekunder yang terbuang. Hasil perhitungan rendemen fraksi *n*-heksana selengkapnya dapat dilihat dalam lampiran 4.

**Tabel 6. Rendemen hasil fraksi etil asetat**

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
1	10	0,90	9
2	10	0,94	9,4
3	10	1,06	10,6
4	10	0,88	8,8
Rata-rata $\pm$ SD			9,45 $\pm$ 0,8

Berdasarkan tabel diatas menunjukan bahwa perhitungan prosentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat daun alpukat didapat  $9,45 \pm 0,8\%$ . Hasil perhitungan rendemen etil asetat selengkapnya dapat dilihat dalam lampiran 4.

**Tabel 7. Rendemen hasil fraksi air**

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
1	10	1,52	15,2
2	10	1,47	14,7
3	10	1,39	13,9
4	10	1,56	15,6
Rata-rata $\pm$ SD			14,925 $\pm$ 0,73

Berdasarkan tabel di atas menunjukan bahwa perhitungan prosentase rata-rata rendemen fraksi etil asetat daun alpukat didapat  $14,925 \pm 0,73\%$ . Hasil perhitungan rendemen fraksi air selengkapnya dapat dilihat dalam lampiran 4.

Rendemen setiap hasil fraksi berbeda beda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak metanol daun alpukat berbeda. Hasil rendemen yang kecil kemungkinan disebabkan pada saat fraksinasi terjadi emulsi, kurang lama pada saat menggojog

corong pisah, kurang lama pada saat mendiamkan corong pisah, banyak ekstrak dan fraksi yang masih menempel pada wadah dan corong pisah, kurangnya kekentalan ekstrak untuk proses fraksinasi, serta terlalu lama pada saat di oven.

#### F. Identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk, ekstrak dan fraksi teraktif daun alpukat

Skrining fitokimia kualitatif menggunakan uji tabung dilakukan terhadap ekstrak metanol daun alpukat untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin, tanin, alkaloid, flavonoid, triterpenoid dan steroid. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada tabel 8. Gambar mengenai hasil uji dapat dilihat pada lampiran 5.

**Tabel 8. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia serbuk dan ekstrak daun alpukat**

Kandungan senyawa kimia	Serbuk	Ekstrak	Keterangan	
			Serbuk	Ekstrak
Saponin	Busa stabil	Busa stabil	+	+
Tanin	Hijau kehitaman	Hitam	+	+
Flavonoid	Jingga	Jingga	+	+
Alkaloid	Dragendorff : jingga	Dragendorff : jingga	+	+
	Mayer : endapan putih	Mayer : endapan putih	+	+
	Wagner : coklat kemerahan	Wagner : coklat kemerahan	+	+
Triterpenoid	Hitam	Hitam	-	-
Steroid	Coklat	Coklat kemerahan	-	-

Berdasarkan hasil penapisan fitokimia senyawa metabolit sekunder menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak daun alpukat mengandung saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid. Gambar mengenai hasil uji dapat dilihat pada lampiran 5. Penelitian sebelumnya menyatakan bahwa pada daun alpukat mengandung senyawa saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid (Antia *et al.* 2005).

Skrining fitokimia kualitatif menggunakan uji tabung juga dilakukan terhadap fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi dapat dilihat pada tabel 7.

**Tabel 9. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi**

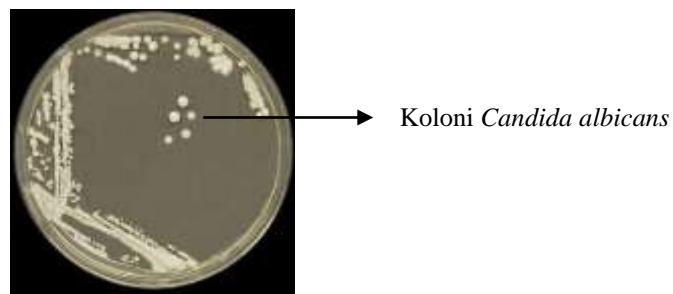
Kandungan senyawa kimia	Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia dari fraksi			Keterangan		
	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air	<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Saponin	Tidak terbentuk busa	Tidak terbentuk busa	Busa stabil	-	-	+
Tanin	Hitam	Coklat muda	Hijau kehitaman	-	-	+
Flavonoid	Hijau tua	Terbentuk warna jingga	Coklat muda	-	+	-
Alkaloid	Dragendorff : jingga	Dragendorff : jingga	Dragendorff : coklat	-	-	+

	Mayer: kuning Wagner : coklat tua	Mayer: jingga Wagner : jingga	Mayer: putih Wagner : coklat muda	-	-	+
Triterpenoid	Hijau	Cincin coklat kemerahan	Coklat	-	+	-
Steroid	Cincin coklat	Coklat	Cincin coklat	+	-	+

Fraksi *n*-heksana mengandung senyawa steroid, fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid, sedangkan fraksi air mengandung senyawa saponin, tanin, alkaloid dan steroid.

### G. Hasil identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi jamur *Candida albicans* secara makroskopis dilakukan dengan cara menginokulasi dari biakan murni pada media *Sabouroud Glucosa Agar* (SGA) yang kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Media SGA yang ditumbuhi *Candida albicans* akan terbentuk koloni lunak berwarna krem, berbentuk bulat sedikit cembung. Hasil identifikasi secara makroskopis dapat dilihat pada gambar 6.

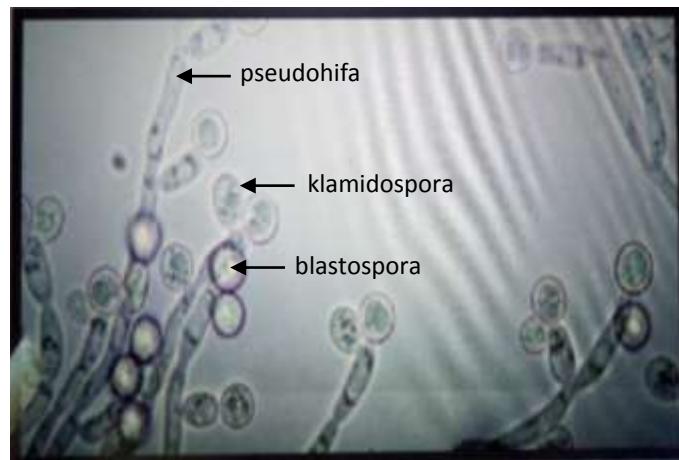


**Gambar 6. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara makroskopis pada media SGA**

Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis dengan cara diambil sediaan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 kurang lebih 2 ose, sediaan tersebut diletakkan pada object glass yang sudah ditetesi *Lactofenol Cotton Blue* kemudian ditutup dengan menggunakan cover glass. Pada sediaan apus eksudat, *Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6  $\mu\text{m}$  yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). *Candida albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada rongga-rongga diantara sel.

*Candida albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, *Candida albicans* juga bisa menghasilkan hifa sejati. *Candida 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  $2-5 \mu \text{m} \times 3-6 \mu \text{m}$  hingga  $2-5,5 \mu \text{m} \times 5-28 \mu \text{m}$ . *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong. Pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar  $8-12 \mu \text{m}$ . (Simatupang 2009).

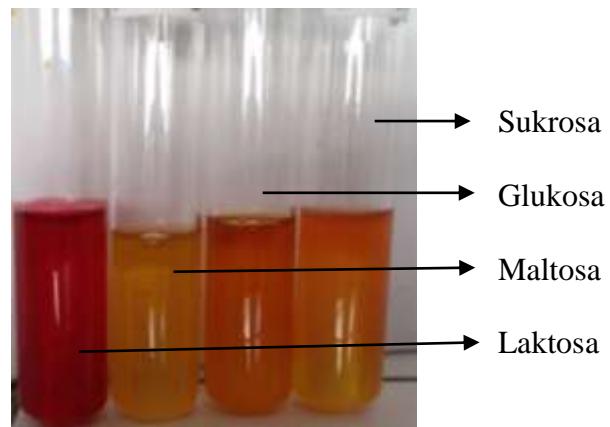
Hasil identifikasi mikroskopis *Candida albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7. Identifikasi Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis**

Identifikasi biokomia *Candida albicans* dilakukan uji fermentasi karbohidrat pada media laktosa, glukosa, sukrosa dan maltosa. Koloni *Candida albicans* diinokulasi ke dalam masing-masing tabung berisikan larutan gula tersebut yang telah ditambahkan indikator phenol red 1%. Masing-masing tabung tersebut juga dimasukkan tabung durham yang diletakkan secara terbalik untuk

mengetahui pembentukan gas kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil uji biokimia dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8. Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231**

Identifikasi secara biokimia *Candida albicans* menunjukkan adanya perubahan warna merah menjadi kuning pada reaksi fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi, jamur ini menunjukkan reaksi fermentasi dan gas pada glukosa dan maltosa, terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada sukrosa dan tidak terjadi proses fermentasi pada medium laktosa. Pada gambar gas yang terbentuk tidak begitu jelas dikarenakan gas berada diatas tabung durham dan ukuran gas tidak terlalu besar. *Candida albicans* mampu melakukan metabolisme sel pada kondisi aerob dan anaerob. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas & Chaffin 2005). Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi  $\text{CO}_2$  dan  $\text{H}_2\text{O}$  dalam suasana aerob sedangkan pada suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan  $\text{CO}_2$  (Waluyo 2004).

Berdasarkan dari hasil pengujian identifikasi yang telah dilakukan kemudian dibandingkan dengan pustaka menunjukkan bahwa jamur yang diamati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

#### **H. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur Secara Difusi**

Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi menggunakan metode difusi. Pengujian antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun alpukat. Konsentrasi yang digunakan dalam pengujian ini adalah 50%, 25% dan 12,5% dengan menggunakan ketokonazol 2% sebagai kontrol positif dan DMSO 1% sebagai kontrol negatif. Perhitungan pembuatan konsentrasi dapat dilihat pada lampiran 6. Kekeruhan suspensi jamur uji disesuaikan dengan standard Mc Farland 0,5. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode disk cakram. Larutan uji diteteskan sebanyak 30  $\mu$ l ke dalam disk tersebut dan ditunggu hingga jenuh ( $\pm$  1 jam). Masa inkubasi pengujian aktivitas antijamur selama 48 jam pada suhu 37°C, daya hambat yang terbentuk berupa warna jernih di sekitar daerah disk dalam ukuran mm.

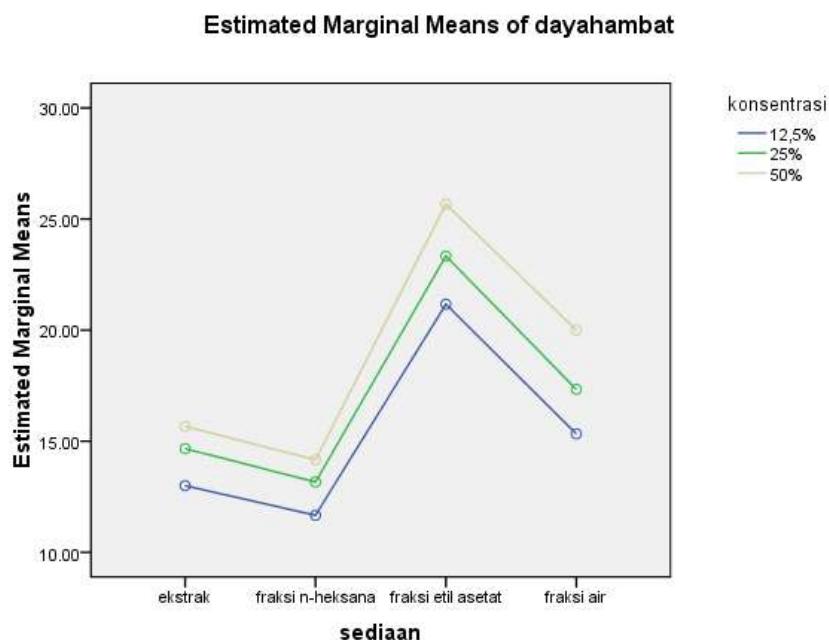
Pengujian aktivitas antijamur fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak metanol daun alpukat menunjukkan memiliki daya hambat pada pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya warna jernih yang mengelilingi daerah disk cakram. Hasil uji aktivitas antijamur metode difusi dapat dilihat pada tabel 8. Foto hasil metode difusi dapat dilihat pada lampiran 8.

**Tabel 10. Hasil uji aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 metode difusi**

Sediaan uji	Konsentrasi	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) $\pm$ SD
		1	2	3	
Ekstrak	50%	16	16	15	15,67 $\pm$ 0,58
	25%	15	15	14	14,67 $\pm$ 0,58
	12,5%	13	13	13	13,00 $\pm$ 0,00
Fraksi <i>n</i> -heksana	50%	14	14,5	14	14,17 $\pm$ 0,28
	25%	13	13	13,5	13,17 $\pm$ 0,28
	12,5%	11	12	12	11,67 $\pm$ 0,58
Fraksi etil asetat	50%	25	26	26	25,67 $\pm$ 0,58
	25%	23	24	23	23,33 $\pm$ 0,58
	12,5%	20,5	21	22	21,17 $\pm$ 0,76
Fraksi air	50%	20	21	19	20,00 $\pm$ 1,00
	25%	17	17	18	17,33 $\pm$ 0,58
	12,5%	15	16	15	15,33 $\pm$ 0,58
Ketokonazol	2%	32	33	32,5	32,5 $\pm$ 0,5
DMSO	1%	0	0	0	0,00 $\pm$ 0,00

Berdasarkan tabel 8 menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai daya hambat paling besar terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dibandingkan fraksi *n*-heksana, fraksi air dan ekstrak daun alpukat. Hasil rata-rata diameter daya hambat fraksi etil asetat konsentrasi 50%, 25% dan 12,5% berturut-turut adalah 25,67 mm, 23,33 mm dan 21,17 mm sedangkan ketokonazol sebagai kontrol positif memiliki rata-rata 32,5 mm. Kontrol negatif dalam pengujian aktivitas antijamur menggunakan DMSO 1% dan berdasarkan hasil dari pengujian yang telah dilakukan bahwa DMSO 1% tidak memiliki daya hambat terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Analisa data dari hasil pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi diuji secara statistik Analisis of Varian (ANOVA) *twoway*. ANOVA *twoway* digunakan untuk membandingkan fraksi dan ekstrak yang konsentrasi sama. Data yang dianalisis dengan ANOVA *twoway* adalah konsentrasi fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak metanol daun alpukat pada konsentrasi 50%, 25% dan 12,5%. Hasil analisis data digunakan untuk mengetahui fraksi mana yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231.



**Gambar 9.** Hasil analisis data ANOVA *twoway* antara ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air pada konsentrasi 12,5%, 25% dan 50%.

Hasil analisis data ANOVA *twoway* antara ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air pada konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% menunjukkan bahwa fraksi etil asetat pada konsentrasi 50% memiliki daya hambat paling besar daripada sediaan lainnya, hal ini mungkin karena fraksi etil asetat mampu menarik senyawa yang paling aktif sebagai antijamur. Etil asetat merupakan pelarut semi polar, sehingga senyawa yang terkandung dalam juga bersifat semi polar yaitu flavonoid dan triterpenoid. Flavonoid diketahui disintesis oleh tanaman sebagai respon terhadap serangan mikroba. Flavonoid merupakan zat antimikroba yang efektif melawan berbagai macam mikroorganisme. Aktivitas antimikroba flavonoid mungkin karena kemampuan flavonoid untuk bereaksi dengan protein ekstraselular dan terlarut berinteraksi dengan kompleks dinding sel jamur yang menyebabkan kematian jamur (Idris *et al* 2015). Flavonoid efektif sebagai antimikroba karena 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 (Sari 2010). Senyawa lain yang terdapat pada fraksi etil asetat adalah triterpenoid. Mekanisme kerja triterpenoid sebagai antijamur umumnya terjadi melalui pengrusakan membran sel jamur karena sifat triterpenoid cenderung lipofilik. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antijamur beraksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan melarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya. Membran sel jamur terdiri dari fosfolipid dan molekul protein. Akibat peningkatan permeabilitas, senyawa antijamur dapat masuk ke dalam sel. Ketika di dalam sel senyawa tersebut dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel jamur tersebut (Ririn 2014), sedangkan menurut maharani mekanisme kerja triterpenoid sebagai antijamur adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel jamur, membentuk ikatan yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel jamur dan mengakibatkan sel jamur akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan jamur terhambat atau mati (Maharani *et al* 2012).

Fraksi *n*-heksana memiliki aktivitas daya hambat yang kurang baik (rendah), kemungkinan disebabkan karena adanya metabolit sekunder yang tidak terfraksi. Senyawa yang terlarut dalam fraksi ini yaitu steroid yang memiliki aktivitas antijamur yang belum bisa bekerja secara optimum sehingga aktivitas antijamurnya masih rendah dan juga dikarenakan sifat *n*-heksana yang bersifat non polar. Rendahnya aktivitas fraksi *n*-heksana dalam menghambat jamur uji diduga berkaitan dengan sifat non polar *n*-heksana sehingga hanya sedikit komponen bioaktif yang terkandung di dalamnya (Sreelatha *et al* 2014). Fraksi air mampu menarik senyawa saponin, tanin, alkaloid dan steroid sedangkan ekstrak metanol mampu menarik senyawa saponin, tanin, flavonoid dan alkaloid yang terkandung dalam daun alpukat. Fraksi air dan ekstrak metanol mampu menarik senyawa yang lebih banyak dibandingkan fraksi etil asetat akan tetapi fraksi air dan ekstrak metanol memiliki aktivitas penghambatan yang lebih rendah. Hal ini kemungkinan terjadi karena senyawa-senyawa tersebut memiliki aktivitas antijamur yang rendah dan tidak mampu bekerja secara sinergis sehingga menghasilkan daya hambat yang lebih kecil dari fraksi etil asetat (Sreelatha *et al* 2014).

Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 1%. DMSO 1% merupakan pelarut yang digunakan dalam pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air. Hasil dari pengujian DMSO 1% tidak memiliki aktivitas antijamur sehingga daya hambat yang terbentuk benar-benar merupakan aktivitas dari masing-masing fraksi dan ekstrak metanol dari daun alpukat.

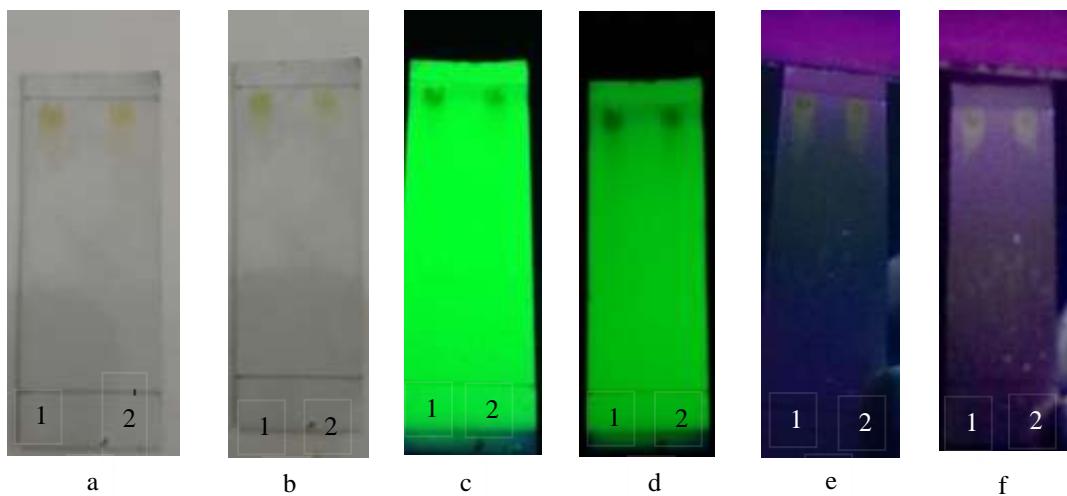
## **I. Hasil Identifikasi Fraksi Teraktif dengan KLT**

Fraksi teraktif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 adalah etil asetat. Analisis senyawa kimia pada fraksi etil asetat dari daun alpukat dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Sebelum dilakukan identifikasi senyawa menggunakan KLT terlebih dahulu dilakukan skrining fitokimia kualitatif menggunakan uji tabung. Hasil dari skrining fitokimia kualitatif menunjukkan bahwa etil asetat memberikan hasil positif terhadap flavonoid dan triterpenoid. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil

asetat dengan KLT dapat dilihat pada gambar 9 dan perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 9.

**Tabel 11. Hasil identifikasi flavonoid fraksi etil asetat secara KLT**

Sampel cuplikan	Rf	UV <sub>254</sub>	UV <sub>366</sub>	Pereaksi Sitroborat	Pustaka (Harborne 1987)	Ket
Quercetin	0,89	Meredam	Kuning	Kuning kecoklatan	Kuning	
Fraksi etil asetat	0,87	Meredam	Kuning	Kuning		+



**Gambar 10. Hasil identifikasi senyawa flavonoid fraksi etil asetat**

Keterangan:

- 1) fraksi etil asetat; 2) baku quercetin; a) sinar tampak; b) sesudah disemprot sitroborat; c) UV 254 sebelum disemprot sitroborat; d) UV 254 sesudah disemprot sitroborat; e) UV 366 sebelum disemprot sitroborat; f) UV 366 sesudah disemprot sitroborat

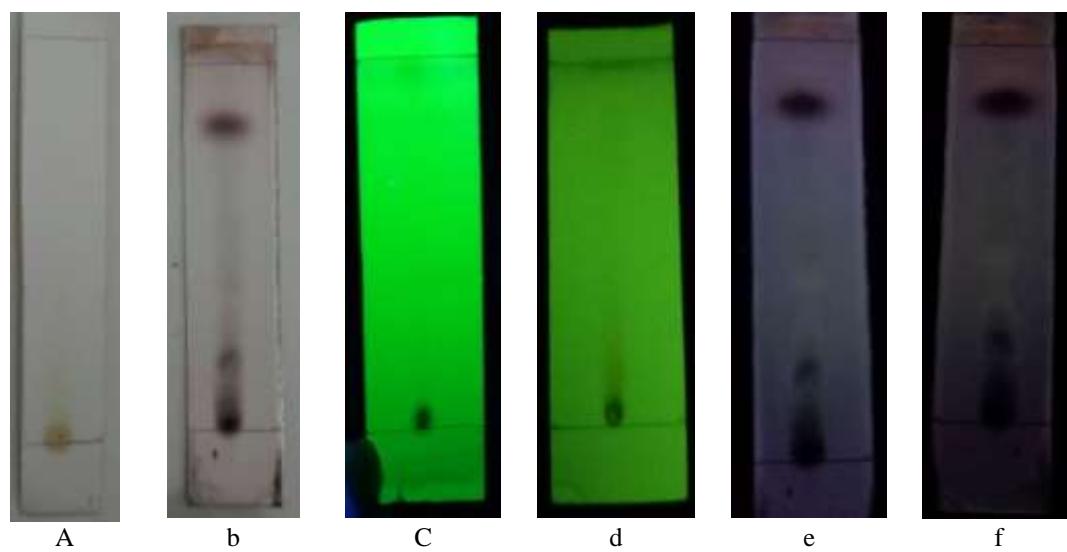
Hasil identifikasi flavonoid dengan KLT pada sinar tampak menunjukkan warna kuning kecoklatan yang tidak begitu nampak, pada UV<sub>254</sub> dan UV<sub>366</sub> sebelum disemprot menunjukkan adanya peredaman. Lempeng KLT kemudian dilakukan penyemprotan menggunakan sitroborat dan menghasilkan bercak berwarna kuning kecoklatan yang lebih jelas dibanding sebelum disemprot. Pada UV<sub>254</sub> bercak tetap berwarna meredam, sedangkan pada UV<sub>366</sub> bercak berwarna kuning. Fase diam yang digunakan adalah silika gel GF254 dan fase gerak *n*-butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) dengan pembanding quercetin. Penampakan bercak warna kuning sesuai dengan pembanding dengan nilai Rf 0,87. Berdasarkan hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid secara KLT

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

Identifikasi triterpenoid secara Kromatografi Lapis Tipis terhadap fraksi etil asetat menggunakan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (1:1). Pereaksi penampak bercak yang digunakan adalah *Lieberman Bouchardat*. Hasil identifikasi triterpenoid fraksi etil asetat dengan KLT dapat dilihat pada gambar 10 dan perhitungan Rf dapat dilihat pada lampiran 9.

**Tabel 12. Hasil identifikasi triterpenoid fraksi etil asetat secara KLT**

Sampel cuplikan	Rf	UV <sub>254</sub>	UV <sub>366</sub>	Pereaksi <i>Lieberman-Buchard</i>	Pustaka (Harborne 1987)	Ket
Fraksi etil asetat	0,69	Meredam	Ungu	Ungu		+



**Gambar 11. Hasil identifikasi triterpenoid fraksi etil asetat**

Keterangan:

a) sinar tampak; b) sesudah disemprot *Lieberman Bouchardat*; c) UV 254 sebelum disemprot *Lieberman Bouchardat*; d) UV 254 sesudah disemprot *Lieberman Bouchardat*; e) UV 366 sebelum disemprot *Lieberman Bouchardat*; f) UV 366 sesudah disemprot *Lieberman Bouchardat*

Hasil identifikasi secara KLT pada sinar tampak dan UV<sub>254</sub> baik sebelum disemprot maupun sesudah disemprot *Lieberman Bouchardat* tidak menunjukkan adanya bercak, sedangkan pada sinar tampak dan UV<sub>366</sub> setelah disemprot *Lieberman Bouchardat* terdapat satu bercak pada sampel yang berwarna ungu. Rf senyawa triterpenoid yang terdapat dalam fraksi etil asetat adalah 0,69.

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa triterpenoid menunjukkan hasil positif karena terdapat kesesuaian hasil pengujian dengan pustaka (Harborne 1987)

Berdasarkan hasil identifikasi senyawa dengan KLT fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun alpukat mengandung senyawa flavonoid dan triterpenoid. Aktivitas antimikroba flavonoid mungkin karena kemampuan flavonoid untuk bereaksi dengan protein ekstraselular dan terlarut berinteraksi dengan kompleks dinding sel jamur yang menyebabkan kematian jamur (Idris *et al* 2015). Kemampuan flavonoid membentuk ikatan dengan protein lalu mendenaturasi ikatan protein pada membran sel akan menyebabkan membran sel jamur lisis. Akibatnya sel tersebut masuk ke dalam sel jamur sehingga jamur tidak berkembang (Sari 2010).

Mekanisme kerja triterpenoid sebagai antijamur umumnya terjadi melalui pengrusakan membran sel jamur karena sifat triterpenoid cenderung lipofilik. Kerusakan membran sel dapat terjadi ketika senyawa aktif antijamur beraksi dengan sisi aktif dari membran atau dengan molarutkan konstituen lipid dan meningkatkan permeabilitasnya. Membran sel jamur terdiri dari fosfolipid dan molekul protein. Akibat peningkatan permeabilitas, senyawa antijamur dapat masuk ke dalam sel. Ketika di dalam sel senyawa tersebut dapat melisis membran sel atau mengkoagulasi sitoplasma dari sel jamur tersebut (Ririn 2014), sedangkan menurut Maharani, mekanisme triterpenoid adalah bereaksi dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel jamur, membentuk ikatan polimer yang kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel jamur. Karena keluar masuknya senyawa yang tidak diinginkan maka menyebabkan metabolisme sel jamur terganggu, sel jamur kekurangan nutrisi dan mengakibatkan pertumbuhan jamur terhambat atau mati (Maharani *et al* 2012).

## **BAB V**

### **KESIMPULAN DAN SARAN**

#### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

Pertama, ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, etil asetat dan air dari daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Kedua, fraksi etil asetat dari ekstrak metanol daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) merupakan fraksi paling aktif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi etil asetat adalah flavonoid dan triterpenoid.

#### **B. Saran**

Pertama, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk melakukan uji aktivitas antimikroba daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) terhadap mikroorganisme lainnya.

Kedua, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk uji aktivitas antijamur isolasi senyawa aktif dari fraksi etil asetat ekstrak metanol daun alpukat (*Persea Americana*, Mill) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Ketiga, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai pembuatan sediaan agar dapat digunakan oleh masyarakat.

## DAFTAR PUSTAKA

- Abdurahman D. 2008. *Biologi Kelompok pertanian dan Kesehatan*. Bandung : Grafindo Media Pratama.
- Akhyar. 2010. Uji Daya Hambat dan Analisis KLT Bioautografi Ekstrak Akar dan Buah Bakau (*Rhizophora stylosa Griff*) terhadap *Vibrio harveyi* [Skripsi]. Fakultas Farmasi, Universitas Hasanudin Makasar.
- Antia BS. Je Okokon. dan PA Okon. 2005. Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana Mill*. Research Letter
- Astarina NWG, Astuti K.W, Warditiani NK. 2013. Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Rimpang Bangle (*Zingiber purpureum Roxb.*). Universitas Udayana, Bali.
- Bahupati OW. 2015. *Hubungan Pengetahuan Kesehatan Alat Reproduksi Dengan Kejadian Kandidiasis Vulvovaginalis Pada Penderita Kandidiasis Vulvovaginalis*. Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Basset J, RC Denney, GH Jeffrey, J. Mendhom. 1994. *Buku Ajar Vogel Kimia Analisis Kuantitatif Anorganik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Betta K, Wayan FA. 2015. Binahong (*Cassia Alata L*) As Inhibitor Of *Escherichiacoli* Growth. Faculty of Medicine. Lampung University.
- Biswas SK and Chaffin WL. 2005. Anaerobic Growth of *Candida albicans* does not support biofilm formation under similar condition used for aerobic biofilm Current Microbiologi. *Journal*.
- Chapagain BP dan Wiesman Z. 2005. Larvacidal Activity of the Fruit Mesocarp Extract of *Balanites aegyptiaca* and its Saponin Fractions against *Aedes aegypti*. *Dengue Bulletin*.
- Darmandi. 2008. *1001 Resep Herbal*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- David A. Akinpelu, Olayinka A. Aiyegoro, Oluseun F. Akinpeluand Anthony I. Okoh. 2015. Stem Bark Extract and Fraction of *Persea americana* (Mill.) Exhibits Bactericidal Activities against Strains of *Bacillus cereus* Associated with Food Poisoning.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1980. *Materia Medika Indonesia*. Jilid IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1986. *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1987. *Analisis Obat Tradisional*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- [Depkes RI] Departemen Kesehatan Republik Indonesia 2005. *Materi Medika Indonesia*. Jilid III. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Direja HE. 2007. Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Jintan Hitam (*Nigella sativa* L.) Terhadap Bakteri Patogen dan Perusak Pangan [Skripsi]. Bogor: Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan Fakultas Teknologi pertanian, Institut Pertanian Bogor.
- Dumanauw JM, Wullur AC, Poli AF. 2015. Penetapan Kadar Saponin Pada Ekstrak Daun Lidah Mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain varietas *S. Laurentii*) Secara Gravimetri . Jurnal Ilmu dan Teknologi Kesehatan.
- Endrasari R, Qariyah, Pryudi B. 2012. *Pengaruh Pengeringan Terhadap Mutu Simplicia Temulawak di Kecamatan Tembalang Kota Semarang*. Jurnal Tekhnologi Pertanian Jateng.
- Evans WC. 2002. Trease and Evans Phamacognosy. WB. Saunders. London. Fifteenth Edition.
- Fardiaz S. 2011. *Mikrobiologi Pangan*. Bogor. Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi, Institut Pertanian Bogor.
- Fauziyah N. 2008. Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Petai Cina (*Leucaena glauca*, Benth) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar [Skripsi]. Surakarta: Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Gunawan D dan Mulyani S. 2004. *Ilmu Obat Alam*. Jilid I. Jakarta : Penebar Swadaya.
- 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.
- Harborne J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun dan Cara Modern Menganalisa Tumbuhan*. Edisi III. Bandung : ITB.
- Harminta, 2004. *Analisa Hayati*. Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Hikmah MN, Zuliyana. 2010. Pembuatan Metil Ester (Biodesel) Dari Minyak Dedak Dan Metanol Dengan Proses Esterifikasi Dan Transesterifikasi [Skripsi]. Semarang: Fakultas Teknik, Universitas Diponegoro.
- Hutapea *et al.* 2001. *Inventarisasi Tanaman Obat Indonesia* (I), jilid 2. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.

- Idris S, Ndukwe GI and Gimba CE. 2009. Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of seed extracts of *Persea Americana* (Avocado pear). *Bayero journal of pure and applied sciences*.
- Irawati NAV. 2015. Antihypertensive effects of avocado leaf extract (*Persea Americana*, Mill). Lampung: Faculty of Medicine, Lampung University.
- Ismarani. 2012. *Potensi Senyawa Tannin Dalam Menunjang Produksi Ramah Lingkungan*, Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah Vol. 3 No. 2
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Diterjemahkan oleh Dokter Bonang H. Edisi XVI.
- Jesus *et al.* 2015. *Persea Americana* Glycolic Extract: *In Vitro* Study of Antimicrobial Activity against *Candida albicans* Biofilm and Cytotoxicity Evaluation.
- [Kemenkes RI] Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. 2010. *Farmakope Herbal Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Lestari PE. 2010. Peran Faktor Virulensi Pada Patogenesis Infeksi *Candida albicans*. Jember: Bagian Ilmu Biomedik Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Liana I. 2010. Aktivitas Antimikroba Fraksi Dari Ekstrak Metanol Daun Senggani (*Melastoma candidum* D. Don) Terhadap *Staphylococcus aureus* Dan *Salmonella typhimurium* Serta Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Teraktif.
- Liberty. 2012. Penentuan kandungan tanin dan uji aktivitas antioksidan ekstrak biji buah alpukat (*Persea americana* Mill) [Jurnal]. Manado: FMIPA, Universitas Sam Ratulangi.
- Lindeboom N. 2005. Studies On The Characterization, Biosynthesis and Isolation of Strach and Protein from Quinoa (*Chenopodium Quinoa* WILLD.) University of Saskatchewan.
- Lubis RD. 2008. *Pengobatan Dermatomikosis*. Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran. Universitas Sumatra Utara.
- Maharani RS, drg. Depi P, M.Kes., Dr. drg, Purwanto, M.kes. 2012. Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia*) dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Jurusan Pendidikan Dokter Gigi , Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember (UNEJ).

- Nathaniel OB, Selina AS, John KM, Mercy B, Sylvester Addai-Arhinand and Michael BM. 2015. *Phytoconstituents, antimicrobial and antioxidant properties of the leaves of Persea americana Mill cultivated in Ghana.*
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1988. *Dasar-dasar Mikrobiologi.* Jilid 2. Penerjemah Ratna Siri hadioetomo, dkk. Jakarta. Universitas Indonesia Press.
- Pratama RH. 2010. Pengaruh infusa daun alpukat (*Persea americana* Mill.) terhadap waktu kematian cacing Ascaris suum , Goeze *In Vitro*.
- Rakhmawati A. 2012. *Penyiapan Media Mikroorganisme.* Jurusan Pendidikan Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta.
- Ririn R. 2014. Uji aktivitas antibakteri Ekstrak etanol Daun Sisik Naga (*Drymoglossum piloselloides* (L.) Presl) dan Binahong (*Anredera cordifolia* (Ten.) Steenis) terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*.
- Sari SA. 2010. Efek Antifungi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) Terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum* in vitro [Skripsi]. Surakarta : Fakultas Kedokteran, Universitas Sebelas Maret.
- Sarker SD, Zahid L, Alexander IG. 2005. *Natural Products Isolation Second Edition.* Humana Press.
- Septiana RS. 2011. Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri fraksi teraktif daun sirih merah ( *Piper Crocatum Ruiz & Pav* ). Universitas Sebelas Maret.
- Setyowati WA, Sri RDA, Ashadi, Bakti M, Cici PR. 2014. Skrining Fitokimia Dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Kayu Durian ( *Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk.
- Simatupang MM. *Candida albicans.* USU Repository; 2009.
- Siswandono dan Soekardjo, B. 1995. *Kimia Medisinal.* Surabaya. Universitas Airlangga Press.
- Sreelatha, Murali MCH, Ashok PKK, Sudesh KE. 2014. *In vitro* antimicrobial activity off different parts of *Stachytarpheta urticifolia* (Salisb) Sims. International Journal of Pharmacy and Pharamaceutical Sciences 6.
- Stahl E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi.* Diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Sodin, Bandung Penerbit ITB.
- Sumiati T, Effendi F, Iskandar MS. 2016 . Potensi ekstrak air daun alpukat (*Persea americana* M.) sebagai diuretik pada tikus putih jantan. Program Studi Farmasi Sekolah Tinggi Teknologi Industri dan Farmasi Bogor.

- Tiwari P, Bimlesh K, Mandeep K, Gurpreet K, Harleen K. 2011. *Skrining Fitokimia dan Ekstraksi. Internationale Pharmaceutica Sciencia* 7:98-106.
- Waluyo, L. 2004. *Mikrobiologi Umum*. Universitas Muhammadiyah. Malang Press. Malang.
- Widiarta RK. 2008. Uji Banding Efektivitas Infus Jintan Hitam (*Nigella sativa*) 100% Dengan Ketokonazole 2% Secara In Vitro Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*.

L

A

M

P

J

R

A

R

## Lampiran 1. Surat keterangan determinasi tumbuhan



No : 106/DET/UPT-LAB/16/XII/2016  
 Hal : Surat Keterangan Determinasi Tumbuhan

Menerangkan bahwa :

Nama : Karunia Wulan Agustin  
 NIM : 19133791 A  
 Fakultas : Farmasi Universitas Setia Budi

Telah mendeterminasi kantumbuhan : **Alpukat / *Persea americana* Mill.**

Hasil determinasi berdasarkan : Steenis : FLORA

1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14a – 15a.golongan 8. 109b – 119b – 120b – 128b – 129b – 135b – 136b – 139b – 140b – 142b – 143b – 146b – 154b – 155b – 156b – 162b – 163a – 164b – 165a.familia 52. Lauraceae.1a – 2a – 2.Persea. ***Persea americana* Mill.**

Deskripsi :

Habitus : Pohon, tinggi dapat mencapai 10 m.  
 Batang : Bulat, berkayu, percabangan monopodial.  
 Daun : **Tunggal, bangun eliptis, ujung meruncing, pangkal runcing, tepi rata, pertulangan daun menjari, permukaan atas hijau tua, mengkilat, permukaan bawah hijau muda, panjang 16 – 20,5 cm, lebar 6,3 – 8,8 cm.**  
 Bunga : Majemuk, malai, tendabunga garis tengah 1 – 1,5 cm, putih kuning, 6 taju, 3 taju terluar kecil, benang sari 12 dalam 4 lingkaran, 3 terdalam direduksi menjadi staminodia berwarna oranye atau coklat, ruang sari 4.  
 Buah : Buni bentuk bola atau buah peer, panjang 5 – 20 cm, hijau atau hijau kuning, berbiji 1.  
 Biji : Bentuk bola, coklat, garis tengah 2,5 – 5 cm.  
 Akar : Tunggang.

Pustaka : Steenis C.G.G.J., Bloembergen S. Eyma P.J. (1978): *FLORA*, PT Pradnya Paramita. Jl. Kebon Sirih 46.Jakarta Pusat, 1978.

Surakarta, 16 November 2016



**Lampiran 2. Gambar tanaman, daun, serbuk, ekstrak dan fraksi daun alpukat**



A .Tanaman alpukat



B. Daun alpukat



C. Serbuk daun alpukat



D. Ekstrak metanol daun alpukat



E. Fraksi-fraksi daun alpukat

**Lampiran 3. Gambar alat yang digunakan**

A .Penggilingan



B. Oven



C. Timbangan



D. Ayakan mesh 40



E. Moisture balance



F. Timbangan analitik



G. Alat soxhletasi



H. Inkubator



I.Evaporator



J.Corong pisah

#### **Lampiran 4. Perhitungan rendemen daun, ekstrak dan fraksi daun alpukat**

##### **1. Rendemen daun alpukat**

Serbuk daun alpukat diperoleh dari daun alpukat dengan bobot basah 5000 gram, setelah dikeringkan mempunyai bobot 1200 gram, rendemen yang didapatkan sebesar :

$$\begin{aligned}
 \text{Randemen} &= \frac{\text{bobot akhir (gram)}}{\text{bobot awal (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1200}{5000} \times 100 \% \\
 &= 24 \%
 \end{aligned}$$

##### **2. Randemen ekstrak metanol daun alpukat**

Ekstrak metanol daun alpukat diperoleh dari serbuk daun alpukat dengan bobot 500 gram dan setelah di ekstraksi dengan metode soxhletasi diperoleh bobot 142,8 gram, rendemen yang didapatkan sebesar :

$$\begin{aligned}
 \text{Randemen} &= \frac{\text{bobot akhir (gram)}}{\text{bobot awal (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{142,8}{500} \times 100 \% \\
 &= 28,56 \%
 \end{aligned}$$

##### **3. Rendemen fraksi**

###### **• Rendemen hasil fraksi *n*-heksana**

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
1	10	2,98	29,8
2	10	2,93	29,3
3	10	3,07	30,7
4	10	3,01	30,1
Rata-rata			29,975

Perhitungan prosentase rendemen fraksi *n*-heksana

$$1. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi } n\text{-heksana (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100\% \\ = \frac{2,98}{10} \times 100\% = 29,8\%$$

$$2. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi } n\text{-heksana (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100\% \\ = \frac{2,93}{10} \times 100\% = 29,3\%$$

$$3. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi } n\text{-heksana (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100\% \\ = \frac{3,07}{10} \times 100\% = 30,7\%$$

$$4. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi } n\text{-heksana (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100\% \\ = \frac{3,01}{10} \times 100\% = 30,1\%$$

$$\text{Rata-rata fraksi } n\text{-heksana : } \frac{29,8\% + 29,3\% + 30,7\% + 30,1\%}{4} = 29,975\%$$

- **Rendemen hasil fraksi etil asetat**

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
1	10	0,90	9
2	10	0,94	9,4
3	10	1,06	10,6
4	10	0,88	8,8
Rata-rata			9,45

Perhitungan prosentase rendemen fraksi etil asetat

$$1. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi etil asetat (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\ = \frac{0,90}{10} \times 100 \% = 9 \%$$

$$2. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi etil asetat (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\ = \frac{0,94}{10} \times 100 \% = 9,4 \%$$

$$3. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi etil asetat (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\ = \frac{1,06}{10} \times 100 \% = 10,6 \%$$

$$4. \text{ Rendemen} = \frac{\text{bobot fraksi etil asetat (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\ = \frac{0,88}{10} \times 100 \% = 8,8 \%$$

$$\text{Rata-rata fraksi etil asetat : } \frac{9 \% + 9,4 \% + 10,6 \% + 8,8 \%}{4} = 9,45 \%$$

- **Rendemen hasil fraksi air**

No	Bobot ekstrak (gram)	Bobot hasil fraksi (gram)	Rendemen (%)
1	10	1,52	15,2
2	10	1,47	14,7
3	10	1,39	13,9
4	10	1,56	15,6
Rata-rata			14,925

Perhitungan prosentase rendemen fraksi air

$$\begin{aligned}
 1. \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi air (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,52}{10} \times 100 \% = 15,2 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 2. \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi air (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,47}{10} \times 100 \% = 14,7 \%
 \end{aligned}$$

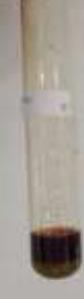
$$\begin{aligned}
 3. \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi air (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,39}{10} \times 100 \% = 13,9 \%
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 4. \text{ Rendemen} &= \frac{\text{bobot fraksi air (gram)}}{\text{bobot ekstrak metanol (gram)}} \times 100 \% \\
 &= \frac{1,56}{10} \times 100 \% = 15,6 \%
 \end{aligned}$$

$$\text{Rata-rata fraksi air : } \frac{15,2 \% + 14,7 \% + 13,9 \% + 15,6 \%}{4} = 14,85 \%$$

**Lampiran 5. Foto hasil uji kandungan senyawa serbuk, ekstrak dan fraksi**

Senyawa	Serbuk	Ekstrak	Fraksi		
			<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Saponin					
Tanin					
Flavonoid					
Alkaloid (Dragendorff)					

Senyawa	Serbuk	Ekstrak	Fraksi		
			<i>n</i> -heksana	Etil asetat	Air
Alkaloid (Mayer)					
Alkaloid (Wagner)					
Triterpenoid					
Steroid					

**Lampiran 6. Pembuatan seri konsentrasi ekstrak, fraksi *n*-heksana, etil asetat, dan air metode difusi**

1. Konsentrasi 50%

Menimbang 1 g ekstrak dilarutkan dengan DMSO 1% 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 awal (50%) kemudian ditambah DMSO 1% 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 awal (25%) kemudian ditambah DMSO 1% sampai 1 ml.

## Lampiran 7. Pembuatan Media

### 1. *Sabouraud Glukosa Agar (SGA)*

SGA 65 g/L

Aquadest 1 L

Kloramfenikol 400 mg/L

Ditimbang 65 gram SGA, dilarutkan dalam 1 liter aquadest, dipanaskan sampai larut. Tambahkan kloramfenikol 400 mg aduk ad homogen. Pindahkan dalam tabung @ 15 ml, tutup dengan kapas kemudian sterilkan dengan autoklaf suhu 121°C selama 1 jam. Dinginkan hasil sterilisasi, pindah ke dalam cawan petri besar @ 30 ml dan cawan petri kecil @ 15 ml.

### 2. Fermentasi dan asimilasi

Meat extract 3 g/L

Pepton 5 g/L

Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa 5 g/L

Ditimbang semua bahan, larutkan dengan aquadest @ 20 ml dalam beaker glass, tambahkan 1 tetes fenol red dan pindahkan dalam 4 tabung yang berisi tabung durham @ 10 ml, kemudian sterilkan dengan autoklaf selama 1 jam pada suhu 121°C dan tunggu hingga dingin. Tambahkan 1-2 ose *Candida albicans*, kemudian inkubasi 24-48 jam, amati adanya gas pada reaksi fermentasi dan perubahan warna dari merah menjadi kuning yang menandakan suatu asam pada fermentasi dan asimilasi.

Perhitungan :

$$\text{Meat extract 3 g/L} = 3 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,12 \text{ g}$$

$$\text{Pepton 5 g/L} = 5 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

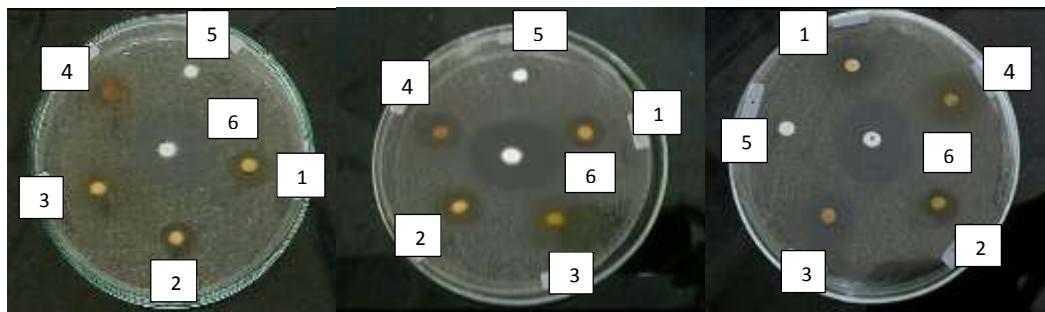
$$= 0,2 \text{ g}$$

$$\text{Glukosa/Maltosa/Sukrosa/Laktosa 5 g/L} = 5 \text{ g/1000 ml} \times 40 \text{ ml}$$

$$= 0,2 \text{ g}$$

**Lampiran 8. Foto hasil uji aktivitas antijamur metode difusi**

Foto hasil difusi konsentrasi 50 %



Keterangan :

- 1 : ekstrak 50%
- 2: fraksi *n*-heksana 50%
- 3 : fraksi etil asetat 50%
- 4 : fraksi air 50%
- 5 : kontrol negatif (DMSO 1%)
- 6 : kontrol positif (ketokonazole)

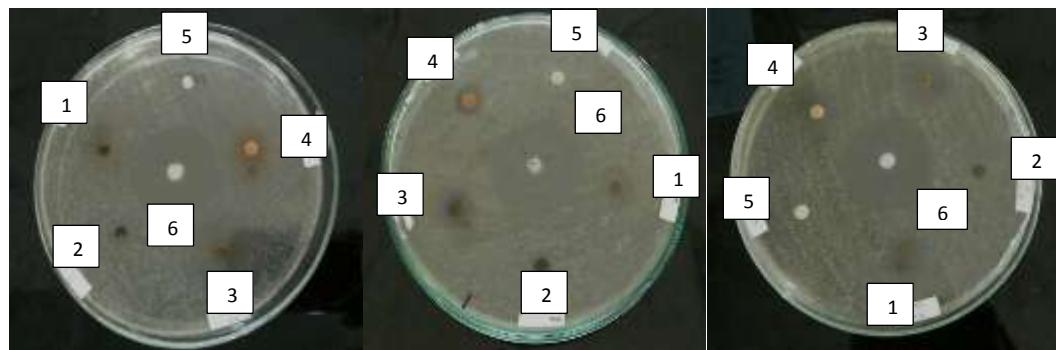
Foto hasil difusi konsentrasi 25 %



Keterangan :

- 1 : ekstrak 25%
- 2: fraksi *n*-heksana 25%
- 3 : fraksi etil asetat 25%
- 4 : fraksi air 25%
- 5 : kontrol negatif (DMSO 1%)
- 6 : kontrol positif (ketokonazole)

Foto hasil difusi konsentrasi 12,5 %



Keterangan :

- 1 : ekstrak 12,5%
- 2: fraksi *n*-heksana 12,5%
- 3 : fraksi etil asetat 12,5%
- 4 : fraksi air 12,5%
- 5 : kontrol negatif (DMSO 1%)
- 6 : kontrol positif (ketokonazole)

### Lampiran 9. Perhitungan Rf Kromatografi Lapis Tipis

Perhitungan Rf menggunakan rumus :

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

Perhitungan Rf :

#### 1. Flavonoid

$$\begin{aligned} Rf \text{ baku quercetin} &= \frac{4,8}{5,5} \\ &= 0,87 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} Rf \text{ fraksi etil asetat} &= \frac{4,9}{5,5} \\ &= 0,89 \end{aligned}$$

#### 2. Tritepenoid

$$\begin{aligned} Rf \text{ fraksi etil asetat} &= \frac{3,8}{5,5} \\ &= 0,69 \end{aligned}$$

**Lampiran 10. Hasil analisis data uji ANOVA antara ekstrak metanol, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun alpukat dengan konsentrasi 12,5%, 25%, dan 50%**

**Between-Subjects Factors**

		Value Label	N
sediaan	1.00	ekstrak	9
	2.00	fraksi <i>n</i> -heksana	9
	3.00	fraksi etil asetat	9
	4.00	fraksi air	9
konsentrasi	1.00	12,5%	12
	2.00	25%	12
	3.00	50%	12

**Descriptive Statistics**

Dependent Variable:dayahambat

sediaan	Konsentrasi	Mean	Std. Deviation	N
ekstrak	12,5%	13.0000	.00000	3
	25%	14.6667	.57735	3
	50%	15.6667	.57735	3
	Total	14.4444	1.23603	9
fraksi <i>n</i> -heksana	12,5%	11.6667	.57735	3
	25%	13.1667	.28868	3
	50%	14.1667	.28868	3
	Total	13.0000	1.14564	9
fraksi etil asetat	12,5%	21.1667	.76376	3
	25%	23.3333	.57735	3
	50%	25.6667	.57735	3
	Total	23.3889	2.02759	9
fraksi air	12,5%	15.3333	.57735	3
	25%	17.3333	.57735	3
	50%	20.0000	1.00000	3
	Total	17.5556	2.12786	9
Total	12,5%	15.2917	3.82847	12
	25%	17.1250	4.07947	12
	50%	18.8750	4.70070	12
	Total	17.0972	4.35696	36

**Levene's Test of Equality of Error Variances<sup>a</sup>**

Dependent Variable:dayahambat

F	df1	df2	Sig.
1.487	11	24	.201

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Design: Intercept + sediaan + konsentrasi + sediaan \* konsentrasi

**Tests of Between-Subjects Effects**

Dependent Variable:dayahambat

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	656.243 <sup>a</sup>	11	59.658	175.323	.000
Intercept	10523.340	1	10523.340	30925.735	.000
sediaan	572.576	3	190.859	560.891	.000
konsentrasi	77.056	2	38.528	113.224	.000
sediaan * konsentrasi	6.611	6	1.102	3.238	.018
Error	8.167	24	.340		
Total	11187.750	36			
Corrected Total	664.410	35			

a. R Squared = .988 (Adjusted R Squared = .982)

**Estimated Marginal Means****1. sediaan**

Dependent Variable:dayahambat

sediaan	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	14.444	.194	14.043	14.846
fraksi n-heksana	13.000	.194	12.599	13.401
fraksi etil asetat	23.389	.194	22.988	23.790
fraksi air	17.556	.194	17.154	17.957

**2. konsentrasi**

Dependent Variable:dayahambat

konsentrasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
			Lower Bound	Upper Bound
12,5%	15.292	.168	14.944	15.639
25%	17.125	.168	16.777	17.473
50%	18.875	.168	18.527	19.223

### 3. sediaan \* konsentrasi

Dependent Variable:dayahambat

sediaan	konsentrasi	Mean	Std. Error	95% Confidence Interval	
				Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	12,5%	13.000	.337	12.305	13.695
	25%	14.667	.337	13.972	15.362
	50%	15.667	.337	14.972	16.362
fraksi n-heksana	12,5%	11.667	.337	10.972	12.362
	25%	13.167	.337	12.472	13.862
	50%	14.167	.337	13.472	14.862
fraksi etil asetat	12,5%	21.167	.337	20.472	21.862
	25%	23.333	.337	22.638	24.028
	50%	25.667	.337	24.972	26.362
fraksi air	12,5%	15.333	.337	14.638	16.028
	25%	17.333	.337	16.638	18.028
	50%	20.000	.337	19.305	20.695

## Post Hoc Tests

### sediaan

#### Multiple Comparisons

Dayahambat  
Tukey HSD

(I) sediaan	(J) sediaan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
ekstrak	fraksi n-heksana	1.4444	.27499	.000	.6859	2.2030
	fraksi etil asetat	-8.9444	.27499	.000	-9.7030	-8.1859
	fraksi air	-3.1111	.27499	.000	-3.8697	-2.3525
fraksi n-heksana	ekstrak	-1.4444	.27499	.000	-2.2030	-.6859
	fraksi etil asetat	-10.3889	.27499	.000	-11.1475	-9.6303
	fraksi air	-4.5556	.27499	.000	-5.3141	-3.7970
fraksi etil asetat	ekstrak	8.9444	.27499	.000	8.1859	9.7030
	fraksi n-heksana	10.3889	.27499	.000	9.6303	11.1475
	fraksi air	5.8333	.27499	.000	5.0748	6.5919
fraksi air	ekstrak	3.1111	.27499	.000	2.3525	3.8697
	fraksi n-heksana	4.5556	.27499	.000	3.7970	5.3141
	fraksi etil asetat	-5.8333	.27499	.000	-6.5919	-5.0748

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .340.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

## Homogeneous Subsets

### dayahambat

Tukey HSD<sup>a,,b</sup>

sediaan	N	Subset			
		1	2	3	4
fraksi n-heksana	9	13.0000			
ekstrak	9		14.4444		
fraksi air	9			17.5556	
fraksi etil asetat	9				23.3889
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .340.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 9.000.

b. Alpha = .05.

## konsentrasi

### Multiple Comparisons

Dayahambat

Tukey HSD

(I) konsen- tra- si	(J) konsen- tra- si	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
12,5%	25%	-1.8333*	.23814	.000	-2.4280	-1.2386
	50%	-3.5833*	.23814	.000	-4.1780	-2.9886
25%	12,5%	1.8333*	.23814	.000	1.2386	2.4280
	50%	-1.7500*	.23814	.000	-2.3447	-1.1553
50%	12,5%	3.5833*	.23814	.000	2.9886	4.1780
	25%	1.7500*	.23814	.000	1.1553	2.3447

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .340.

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

### Homogeneous Subsets

dayahambat

Tukey HSD<sup>a,b</sup>

konsentra si	N	Subset		
		1	2	3
12,5%	12	15.2917		
25%	12		17.1250	
50%	12			18.8750
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on observed means.

The error term is Mean Square(Error) = .340.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

b. Alpha = .05.

### Estimated Marginal Means of dayahambat

