

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Hasil determinasi tanaman

Determinasi dilakukan di Unit Laboratorium Morfologi Tumbuhan Universitas Setia Budi Surakarta. Determinasi dilakukan untuk mengetahui kebenaran tanaman yang akan diteliti sehingga menghindari terjadinya kesalahan dalam pengumpulan bahan.

Hasil Determinasi berdasarkan Steenis : FLORA 1b – 2b – 3b – 4b – 6b – 7b – 9b – 10b – 11b – 12b – 13b – 14b – 16b. Golongan 10. 239b – 243b – 244 b – 245b – 246b – 247b. Familia 95. Melastomataceae. 1a. 1. *Clidemia hirta D.Don.*

Berdasarkan hasil identifikasi yang telah dilakukan dapat diketahui bahwa tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah benar daun senduduk bulu (*Clidemia hirta D.Don*). Hasil determinasi dapat dilihat pada lampiran 1.

2. Pembuatan serbuk daun senduduk bulu

Persiapan bahan untuk membuat serbuk daun senduduk bulu diawali dengan pengumpulan bahan kemudian dilakukan pengeringan. Daun senduduk bulu yang telah terkumpul kemudian dicuci bersih dengan tujuan menghilangkan kotoran dan zat yang tidak diinginkan. Daun senduduk bulu yang telah dicuci kemudian dijemur sebentar dengan tujuan menirisan air pada daun senduduk bulu sehingga dapat membantu mempercepat proses pengeringan pada oven. Penjemuran dilakukan tidak dibawah matahari langsung. Daun senduduk bulu kemudian dimasukan ke dalam oven pada suhu 40°C.

Proses pengeringan dilakukan dengan tujuan untuk mengurangi kadar air pada bahan yang bisa mengakibatkan pertumbuhan jamur dan bakteri atau mikroorganisme yang lain yang dapat mengakibatkan menurunnya mutu serbuk serta perubahan kandungan kimia. Bahan yang kering juga dapat mempermudah dalam pembuatan serbuk.

Tabel 1. Prsentase bobot kering terhadap bobot basah daun senduduk bulu

Bobot basah (gram)	Bobot kering (gram)	Rendemen % (b/b)
4100	1400	34,14

Berdasarkan tabel 1 diatas dapat dilihat bahwa presentase rata-rata hasil pengeringan daun senduduk bulu didapatkan 34,14%. Hasil perhitungan dapat dilihat pada lampiran 5.

Daun senduduk bulu yang telah kering diblender untuk memperkecil ukuran partikel kemudian diperoleh serbuk daun senduduk bulu. Serbuk daun senduduk bulu kemudian di ayak dengan ayakan no.40 sehingga diperoleh derajat kehalusan yang homogen.

3. Hasil pembuatan ekstrak daun senduduk bulu

Pembuatan ekstrak daun senduduk bulu dilakukan dengan metode maserasi. Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk senduduk bulu dengan pelarut etanol 96% selama 5 hari dengan sesekali digojok. Hasil maserasi diuapkan dengan evaporator sampai diperoleh ekstrak agak kental kemudian dilanjutkan dengan penguapan diatas water bath sampai diperoleh ekstrak yang kental.

Tabel 2. Rendemen ekstrak etanol daun senduduk bulu

Bahan sampel (gram)	Bobot ekstrak (gram)	Rendemen % (b/v)
1000	110, 1882	11,0188

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian ditimbang bobotnya untuk mengetahui presentase rendemen ekstrak. Berdasarkan tabel 2, diperoleh hasil presentase rendemen ekstrak sebesar 11,0188%. Perhitungan presentase rendemen ekstrak etanol daun senduduk bulu dapat dilihat pada lampiran 7.

4. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk daun senduduk bulu dilakukan dengan metode *Sterling Bidwell*. Penetapan kadar air dimaksudkan untuk mengetahui presentase kadar air yang terkandung dalam serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu sehingga dapat mencegah pertumbuhan jamur dan mikroorganisme lain yang dapat merusak kualitas bahan uji.

Tabel 3. Penetapan kadar air serbuk daun senduduk bulu

No	Bobot awal serbuk (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	0,6	3
2	20	0,9	4,5
3	20	1	5
Rata-rata ± SD			4,1± 1,04

Berdasarkan tabel 3 , hasil rata-rata presentase penetapan kadar air serbuk daun senduduk bulu yang didapat adalah 4,1%. Rata-rata tersebut memenuhi syarat presentase kadar air yaitu kurang dari 10% (KEMENKES RI 2010).

Tabel 4. Penetapan kadar air ekstrak daun senduduk bulu

No	Bobot awal ekstrak (g)	Volume air (ml)	Kadar air (%)
1	20	1,4	7
2	20	1,2	6
3	20	1,6	8
Rata-rata ± SD			7 ±1

Berdasarkan tabel 3, hasil rata-rata presentase penetapan kadar air ekstrak daun senduduk bulu yang didapat adalah 7%. Rata-rata tersebut memenuhi syarat presentase kadar air yaitu kurang dari 10% (KEMENKES RI 2010). Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu dapat dilihat pada lampiran 6.

5. Hasil uji susut pengeringan serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu

Pengujian susut pengeringan serbuk daun senduduk bulu menggunakan alat *Moisture Balance*. Pengujian ini ditunjukan untuk mengetahui seberapa besar kadar air dan zat lain yang mudah menguap pada saat pemanasan.

Tabel 5. Hasil susut pengeringan serbuk daun senduduk bulu

No	Bobot serbuk (g)	susut pengeringan (%)
1	2	4,5
2	2	4,5
3	2	5,0
Rata-rata ± SD		4,6 ± 0,28

Berdasarkan tabel 5, pengujian susut pengeringan serbuk dilakukan dengan cara memasukan serbuk sebanyak 2 gram ke dalam alat *Moisture Balance*. Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, berdasarkan data tabel 4 diperoleh persen rata-rata susut pengeringan ekstrak adalah 4,6% .

Tabel 6. Hasil susut pengeringan esktrak daun senduduk bulu

No	Bobot ekstrak (g)	susut pengeringan (%)
1	2	10
2	2	11,9
3	2	11
	Rata-rata ± SD	10,96 ± 0,95

Pengujian susut pengeringan ekstrak dilakukan dengan cara memasukan ekstrak sebanyak 2 gram ke dalam alat *Moisture Balance*. Pengujian dilakukan replikasi sebanyak 3 kali, berdasarkan data tabel 5 diperoleh persen rata-rata susut pengeringan ekstrak adalah 10,96% .

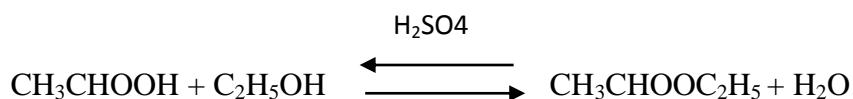
6. Uji bebas etanol

Ekstrak daun senduduk bulu dilakukan tes bebas etanol dengan melakukan esterifikasi alkohol. Gambar hasil pengujian bebas etanol dapat dilihat pada lampiran 8.

Tabel 7. Uji bebas etanol ekstrak daun senduduk bulu

Prosedur	Hasil Uji
Ekstrak etanol daun senduduk bulu + H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ CHOOH, dipanaskan	tidak tercium bau ester yang khas

Uji bebas etanol ekstrak daun senduduk bulu dilakukan dengan cara ekstrak etanol daun senduduk bulu ditambah asam sulfat dan asam asetat lalu dipanaskan. Hasil uji dinyatakan ekstrak bebas etanol ditunjukkan tidak adanya bau ester yang khas dari etanol (Voight 1995). Reaksi yang terjadi :



Tujuan dilakukan uji bebas etanolik adalah untuk memastikan bahwa didalam ekstrak daun senduduk bulu tidak terdapat pelarut etanol yang tertinggal. Pelarut dapat mengakibatkan jamur uji terbunuh bukan oleh senyawa yang terdapat didalam ekstrak melainkan karena pelarut etanol yang tertinggal.

7. Identifikasi kandungan senyawa ekstrak dan serbuk daun senduduk bulu

Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu. Identifikasi kimia dilakukan untuk mengetahui senyawa kimia yang terkandung didalam daun senduduk bulu.

Berdasarkan tabel 8, pada identifikasi flavonoid, saponin, tanin dan steroid hasil uji menunjukkan adanya perubahan yang sesuai dengan pustaka, maka dapat disimpulkan bahwa serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin, dan steroid. Gambar hasil identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu dapat dilihat pada lampiran 9.

Tabel 8. Hasil uji identifikasi kandungan kimia serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu

Kandungan kimia	Pustaka	Hasil		
		Serbuk	Ekstrak	Ket
Alkaloid	Pereaksi Dragendroff ; terbentuk endapan merah hingga jingga Mayer ; terbentuk endapan putih kekuningan (Alamsyah & Kurniawan 2014).	Dragendrof : tidak ada endapan Mayer: tidak ada endapan	Dragendrof : endapan putih Mayer : endapan abu-abu	-
Flavonoid	Terbentuk warna merah, jingga atau kuning pada pelarut amil alkohol (Nurgrahani 2016).	kuning	kuning	+
Tanin	Terbentuk warna hijau kehitaman dan biru tua (Yuningsih 2007).	hijau kehitaman	hijau kehitaman	+
Saponin	Terbentuk buih yang stabil, ditambahkan 1 tetes HCL 2N buih tidak hilang (Depkes RI 1980).	terbentuk buih	terbentuk buih	+
Steroid	Terbentuk warna merah, hijau, ungu dan biru (Indrayani <i>et al.</i> 2006).	hijau	hijau	+

Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia alkaloid serbuk dan ekstrak daun senduduk bulu tidak terjadinya perubahan yang sesuai dengan pustaka pada identifikasi alkaloid, hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Yemima (2018) yang menguji aktivitas serta kandungan senyawa ekstrak

etanol 96% daun senduduk bulu bahwa daun senduduk bulu tidak mengandung senyawa alkaloid.

8. Fraksinasi

Ekstrak daun senduduk bulu dilakukan fraksinasi, tujuan dilakukan fraksinasi adalah untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan perbedaan polaritasnya. Pelarut yang digunakan dalam fraksinasi adalah *n*-heksan, etil asetat, dan air. *n*-heksan sebagai pelarut yang bersifat non polar, etil asetat sebagai pelarut semipolar dan air sebagai pelarut nonpolar.

Tabel 9. Prensentase fraksi *n*-heksan, etil asetat dan fraksi air senduduk bulu

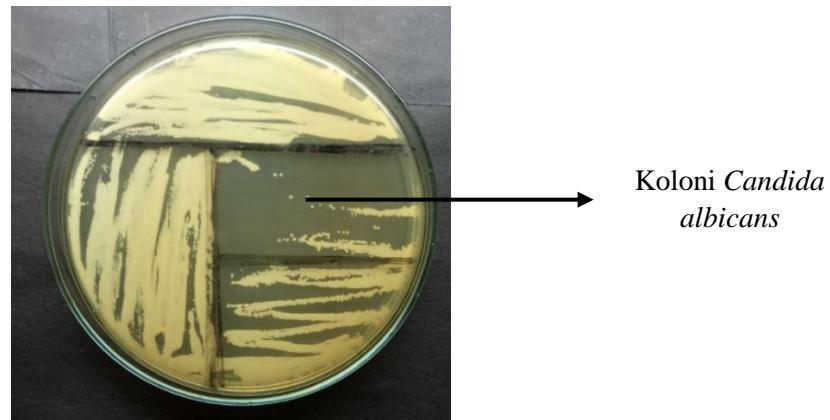
Bobot Ekstrak (g)	Fraksi <i>n</i>-heksan (g)	Rendemen (%)	Fraksi etil asetat (g)	Rendemen (%)	Fraksi air (g)	Rendemen(%)
10	3,35	33,5	1,12	11,2	5,20	52
10	3,43	34,3	1,24	12,4	5,15	51,5
10	3,47	33,7	1,26	12,6	4,75	47,5
Rata-rata ± SD		33,83 ± 0,41		12,0 6 ± 0,75		50,33 ± 0,24

Berdasarkan tabel diatas dapat dilihat hasil fraksinasi dari ekstrak daun senduduk bulu. Fraksinasi dilakukan sebanyak tiga kali. Ekstrak masing-masing ditimbang 10 gram lalu kemudian dilakukan pemisahan menggunakan 3 pelarut yang berbeda sesuai dengan sifat polaritasnya. Hasil perhitungan presentase rendemen fraksi dapat dilihat pada lampiran 10.

9. Hasil identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231

Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan untuk meyakini bahwa jamur uji yang digunakan adalah benar. Identifikasi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan 3 cara, yaitu pertama identifikasi pada media selektif, kedua identifikasi mikroskopis dan yang ketiga identifikasi biokimia.

9.1 Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 pada media selektif Sabouraud Glukosa Agar. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan pada media Sabouraud Glukosa Agar (SGA) yang di inoculasi kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada media SGA akan terlihat koloni-koloni lunak mengkilap, berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi (Jawetz *et al.* 2007).

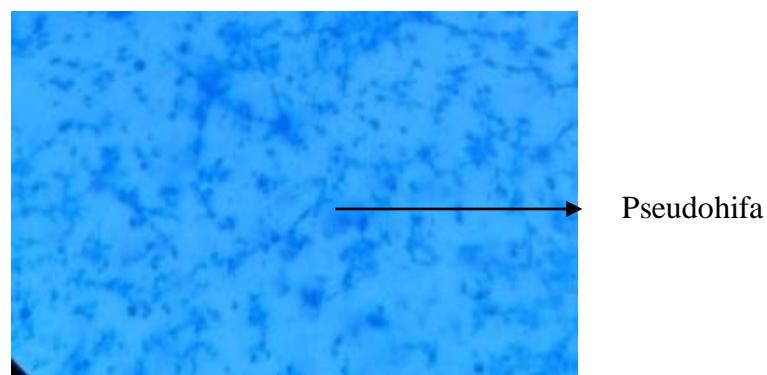


Gambar 7. Foto inokulasi *Candida albicans* pada media selektif SGA

Berdasarkan hasil (Gambar 7) terlihat pada media SGA nampak koloni-koloni tumbuh yang memiliki ciri khas lunak mengkilap, berwarna krem dan bau seperti ragi. Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan dibandingkan dengan pustaka bahwa jamur yang di amati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

9.2 Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis.

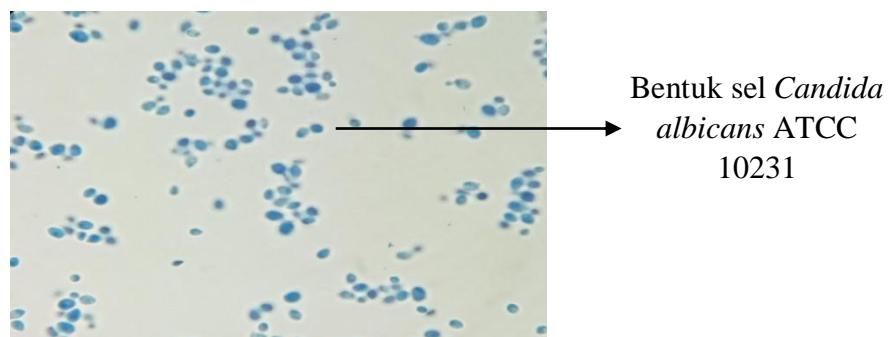
Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 menggunakan metode perwarnaan smear perbesaran sedang (1000x). Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara mikroskopis dilakukan dengan dua preparat yang berbeda. Preparat yang pertama menggunakan suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 yang telah dibiakan menggunakan serum kelinci. Biakan *Candida albicans* ATCC 10231 dimasukan ke dalam tabung reaksi yang telah diisi plasma serum kelinci kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi, biakan dibuat preparat kemudian dilakukan perwarnaan dengan menggunakan cat laktofenol cotton blue (LCB). Preparat *Candida albicans* ATCC 10231 kemudian diamati dibawah mikroskop.



Gambar 8. *Candida albicans* ATCC 10231 yang dibiakan dengan serum kelinci

Candida albicans ATCC 10231 dibiakan menggunakan serum kelinci bertujuan untuk merangsang pertumbuhan pseudohifa dari *Candida albicans* ATCC 10231. Pada hasil pembacaan dengan mikroskop, preparat dari *Candida albicans* ATCC 10231 yang telah dibiakan menggunakan serum kelinci (Gambar 8) tampak seperti ragi, lonjong bertunas yang memanjang menyerupai pseudohifa. Pertumbuhan terdiri dari sel-sel bertunas yang lonjong.

Preparat yang kedua, menggunakan *Candida albicans* yang telah ditumbuhkan pada media selektif Sabouraud Glukosa Agar, kemudian koloni jamur *Candida albicans* ATCC 10231 yang tumbuh diambil menggunakan ose, kemudian dibuat preparat lalu dilakukan pewarnaan menggunakan cat lakofenol cotton blue (LCB). Hasil preparat biakan jamur *Candida Albicans* ATCC 10231 di amati di mikroskop.



Gambar 9. Hasil pengamatan mikroskop bentuk sel *Candida albicans* ATCC 10231

Pembuatan preparat yang diambil dari bagian koloni *Candida albicans* 10231 bertujuan untuk mengetahui bentuk sel dari *Candida albicans* ATCC 10231. 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 sel tunas yang kemudian akan berkembang menjadi blastospora. Blastospora akan menghasilkan kecambah yang akan menghasilkan hifa semu. Hifa semu sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang. 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 $8-12 \mu \text{m}$ (Mutiawati 2016).

Hasil pengamatan mikroskop preparat koloni *Candida albicans* ATCC 10231 (Gambar 9) sel ragi *Candida albicans* tampak berbentuk bulat. Berdasarkan

hasil pengujian yang dilakukan dibandingkan dengan pustaka bahwa jamur yang di amati adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

9.3 Identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231. Identifikasi *Candida albicans* ATCC 10231 secara biokimia dilakukan pada media *Lactose Broth*, *Glucose Broth*, *Sucrose Broth* dan *Maltose broth*. Uji identifikasi biokimia mengamati kemampuan jamur dalam asimilasi dan fermentasi. Pada proses fermentasi karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO_2 dan H_2O dalam suasana aerob.

Identifikasi biokimia dilakukan dengan mengambil 1 ose dari biakan *Candida albicans* kemudian diinokulasi ke dalam masing-masing tabung reaksi berisikan media *Lactose broth*, *Glucose broth*, *Sucrose broth*, dan *Maltose broth*. Masing-masing tabung reaksi sebelumnya telah di beri tabung durham yang diletakan terbalik untuk mengetahui pembentukan gas kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam

Tabel 10. Hasil Identifikasi Biokimia *Candida albicans* ATCC 10231

Media	Hasil	Pustaka (Mutiawati 2016)
<i>Glucose Broth</i>	kuning/G ⁺	Terbentuk gas
<i>Maltose Broth</i>	kuning/G ⁺	Terbentuk gas
<i>Sucrose Broth</i>	kuning/G ⁻	Tidak terbentuk gas
<i>Lactose Broth</i>	merah/G ⁻	Tidak terbentuk gas

Keterangan : G : terbentuk gas (+) : ada (-) : tidak ada

Identifikasi biokimia *Candida albicans* menunjukkan adanya perubahan warna merah menjadi kuning pada reaksi asimilasi dan fermentasi. Gas yang terbentuk dalam tabung durham menunjukkan adanya reaksi fermentasi, jamur ini menunjukkan reaksi asam dan gas pada *glucose* dan *maltose*, terjadi proses fermentasi tanpa menghasilkan gas pada *sucrose* dan tidak terjadi proses fermentasi dan asimilasi pada medium *lactose*. *Candida albicans* merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel pada suasana anaerob dan aerob. Karbohidrat yang berada dalam larutan gula dapat digunakan untuk metabolisme sel dengan cara mengubahnya menjadi CO_2 dan H_2O dalam suasana aerob. Hasil fermentasi pada suasan anaerob berupa asam laktat atau etanol dan CO_2 . Proses akhir fermentasi jamur ini menghasilkan

persediaan bahan bakar yang diperlukan dalam proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, *Candida albicans* menggunakan karbohidrat sebagai sumber karbon maupun energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Tjampaksari 2006).

Berdasarkan tabel di atas hasil pengujian dapat diketahui bahwa pada medium *Glucose broth*, *Maltose broth* dan *Sucrose broth* terjadinya proses fermentasi karbohidrat menjadi asam organik yang ditandai dengan adanya perubahan warna merah dari indikator phenol red 1% menjadi warna kuning, namun hanya medium *Glucose broth* dan *Maltose broth* yang terbentuk gas pada tabung durham. Pembentukan gas pada tabung durham terjadi karena karbohidrat diubah menjadi CO_2 dan H_2O pada saat proses metabolisme sel (Waluyo 2004). Sedangkan pada media *Lactose broth* tidak terjadi proses fermentasi karbohidrat menjadi asam organik yang ditandai dengan tidak terjadinya perubahan warna merah dari indikator phenol red 1% menjadi warna kuning .

Berdasarkan hasil pengujian yang dilakukan dibandingkan dengan pustaka bahwa jamur yang di amati adalah *Candida albicans* ATCC 10231. Hasil identifikasi biokimia *Candida albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada lampiran 12.

10. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara difusi

Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta. Pengujian aktivitas antijamur menggunakan metode difusi kemudian dilanjutkan dengan metode dilusi. Pengujian dengan metode difusi bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur dari bahan uji, serta mengetahui bahan uji yang paling efektif memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231.

Hasil dari ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air dari daun senduduk bulu dilakukan pengujian aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan varian konsentrasi yaitu 10%, 20% dan 40%. Sebagai pembanding, kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazole 2% dan kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO 5%. Perhitungan konsentrasi larutan uji dapat dilihat pada lampiran 13.

Suspensi jamur uji yang digunakan dibandingkan kekeruhan nya dengan standar Mc Farland 0,5. Metode difusi yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan metode disk cakram. Larutan uji diteteskan sebanyak 50 μ l ke dalam disk menggunakan mikro pipet dan ditunggu selama 10 menit. Disk cakram yang telah di tetesi larutan uji kemudian diletakan ke media SGA yang telah diinokulasikan jamur uji, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Hasil yang diperoleh diamati zona bening di sekitar disk cakram yang merupakan daya hambat yang terbentuk dalam ukuran satuan milimeter (mm). Hasil pengujian aktivitas antijamur dapat dilihat pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil pengujian antijamur secara difusi

Sampel	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)			Rata-rata \pm SD
		I	II	III	
Ekstrak	10 %	11,5	12	11,25	11,56 \pm 0,38
	20 %	14,25	14,5	14	14,25 \pm 0,25
	40 %	16	16,5	16,75	16,31 \pm 0,38
Fraksi n-heksan	10 %	9,75	9,25	10	9,68 \pm 0,38
	20 %	10,5	10	10,75	10,43 \pm 0,38
	40 %	11,5	11	11,25	11,31 \pm 0,25
Fraksi etil asetat	10 %	14,25	14,5	14,75	14,43 \pm 0,25
	20 %	16,75	16,5	16,25	16,56 \pm 0,25
	40 %	18	18,5	18	18,12 \pm 0,28
Fraksi air	10 %	6,75	6,25	6,75	6,62 \pm 0,28
	20 %	7,75	7	7,25	7,43 \pm 0,38
	40 %	8,25	8	8	8,12 \pm 0,14
Ketokonazole	2%	30,45	30,50	29	30,1 \pm 0,85
DMSO	5%	0	0	0	0 \pm 0,00

Pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi n-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air daun senduduk bulu menunjukan memiliki daya hambat pada pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya zona bening yang mengelilingi daerah disk cakram.

Berdasarkan tabel 11 menunjukan bahwa fraksi etil asetat memiliki daya hambat yang lebih efektif terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dibandingkan ekstrak, fraksi n-heksan, dan fraksi air. Hal ini dapat dilihat dari hasil tabel 11 rata-rata diameter zona hambat fraksi etil asetat konsentrasi 10%, 20%, dan 40% berturut-turut adalah 14,43 mm, 16,56 mm, dan 18,12 mm, sedangkan kontrol

positif (ketokonazole 2%) memiliki rata-rata zona hambat 30,1 mm dan kontrol negatif (DMSO 5%) tidak memiliki diameter zona hambat.

Hasil uji difusi dianalisis dengan menggunakan program SPSS Analisis statistik yang dilakukan terlebih dahulu adalah melihat apakah ada perbedaan efektivitas bermakna dari masing-masing konsentrasi yang di analisis menggunakan metode Kolmogorov Smirnov. Hasil yang diperoleh apabila terdistribusi tidak normal ($p < 0,05$) dilanjutkan dengan metode uji non parametrik, sedangkan jika data terdistribusi normal ($p > 0,05$) dilanjutkan dengan metode ANOVA *two way*.

Hasil uji distribusi data menggunakan Kolmogorov Smirnov sebesar $0,561 > 0,05$ maka H_0 diterima, data dinyatakan terdistribusi normal. Berdasarkan data yang terdistribusi normal, dilanjutkan analisis menggunakan ANOVA *two way*. Uji ini digunakan untuk membandingkan sampel pada tiap konsentrasi untuk melihat ada tidaknya perbedaan yang signifikan. Berdasarkan tabel tukey test menunjukkan tanda (*) pada angka mean difference, artinya hasil diameter hambat ekstrak, fraksi *n*-heksan, etil asetat, dan air menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan. Tabel hasil homogeneous subsets, menunjukkan perbedaan signifikan pada setiap sampel. Sampel yang berada pada satu kolom menandakan tidak adanya perbedaan signifikan, sementara sampel yang berada pada kolom yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan signifikan pada setiap sampel. Sampel yang berada paling dekat dengan kolom kontrol positif menandakan bahwa sampel tersebut memiliki aktivitas antijamur yang paling efektif diantara sampel yang lain walaupun sampel tersebut aktivitas nya tidak sebanding dengan kontrol positif. Berdasarkan tabel homogeneous subsets, fraksi etil asetat berada pada kolom 5 sedangkan kontrol positif ketokonazole berada pada kolom 6, melihat dari hasil tabel tersebut, dapat disimpulkan fraksi etil asetat memiliki aktivitas antijamur yang paling efektif walaupun aktivitas nya tidak sebagus kontrol positif yaitu ketokonazole. Analisis ANOVA *two way* dapat dilihat pada lampiran 19.

Fraksi etil asetat dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 10231 mempunyai aktivitas antijamur yang paling efektif. Fraksi etil asetat dengan konsentrasi lebih banyak menarik senyawa-senyawa semi polar yang

terkandung dalam ekstrak daun senduduk bulu seperti flavonoid dan terkadang mampu menarik senyawa-senyawa polar seperti saponin dan tanin. Sifat etil asetat yang semipolar menyebabkan fraksi mengandung metabolit sekunder yang telah kompleks dibandingkan pada fraksi polar dan nonpolar oleh sebab itu fraksi etil asetat lebih banyak menarik senyawa-senyawa antijamur sehingga fraksi etil asetat menjadi fraksi yang paling efektif sebagai antijamur.

Mekanisme kerja senyawa flavonoid sebagai antijamur dengan cara mendenaturasi protein dan mengerutkan dinding sel sehingga dapat melisikan dinding sel jamur karena flavonoid akan membentuk kompleks dengan protein membran sel. Pembentukan kompleks menyebabkan rusaknya membran sel karena terjadi perubahan permeabilitas sel dan hilangnya kandungan isi sel di dalam sitoplasma yang mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Anggara *et al.* 2014).

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa polifenol yang karakteristiknya dapat membentuk senyawa kompleks. Tanin larut dalam pelarut organik polar namun tidak larut dalam pelarut organik nonpolar (Jayanegara & Sofyan 2008).

Tanin memiliki aktivitas antimikroba dengan berperan dalam mempengaruhi perubahan permeabilitas membran sel yang dapat menyebabkan penurunan volume sel, sel-sel berlubang dan menyusut lalu kehilangan fungsi metabolisme dan akhirnya hancur (Lim *et al.* 2006).

Saponin merupakan golongan senyawa yang dapat menghambat atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Efek utama saponin terhadap mikroba adalah adanya pelepasan protein dan enzim dari dalam sel. Saponin berkutibusi sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* dengan mekanisme menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *Candida albicans* sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat mengakibatkan cairan intraseluler yang lebih pekat tertarik keluar sel sehingga nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, protein dalam sel keluar dan jamur mengalami kematian (Hardiningtyas 2009).

11. Hasil pengujian aktivitas antijamur secara dilusi

Pengujian aktivitas antijamur secara dilusi bertujuan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi yang paling efektif dari pengujian antijamur secara difusi yaitu fraksi etil asetat. Konsentrasi yang dibuat yaitu 40%, 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125%, 0,156%, 0,078%, kontrol (+), dan kontrol (-). Kontrol positif digunakan suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dan kontrol negatif yang digunakan adalah fraksi yang paling efektif yaitu fraksi etil asetat .

Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dengan cara mengambil 1 ose dari biakan jamur kemudian dimasukan kedalam tabung reaksi steril yang telah berisi 10 ml media SGC. Campuran di vortex hingga homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan standar Mc farland 0,5. Suspensi yang didapat, diencerkan dengan perbandingan 1:100 dengan menggunakan larutan SGC. Hasil pengenceran digunakan sebagai suspensi jamur uji.

Aktivitas antijamur diketahui dari kekeruhan masing-masing tabung uji yang kemudian digoreskan ke dalam media SGA. Konsentrasi Hambat Minimum dapat ditentukan dari kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih, akan tetapi hal ini sulit diamati karena sampel yang digunakan berwarna gelap dan pekat sehingga mempersulit pengamatan. Hal tersebut menyebabkan Konsentrasi Hambat Minimum tidak dapat ditentukan. Konsentrasi Bunuh Minimum ditentukan dengan cara masing-masing tabung larutan uji dilakukan penggoresan pada media SGA, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Hasil uji aktivitas antijamur fraksi etil asetat daun senduduk bulu terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, dikatakan positif (+) apabila pada konsentrasi tersebut masih terlihat adanya pertumbuhan jamur, sedangkan dikatakan negatif (-) apabila pada konsentrasi tersebut sudah tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur, konsentrasi tersebutlah yang dinamakan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Hasil pengujian aktivitas antijamur dapat dilihat pada tabel 12. Gambar hasil uji dapat dilihat pada lampiran 16.

Tabel 12.Hasil pengujian Konsentrasi Bunuh Minimum secara dilusi

Konsentrasi (%)	Fraksi etil asetat		
	I	II	III
K (-)	-	-	-
40	-	-	-
20	-	-	-
10	-	-	-
5	-	-	-
2,5	-	-	-
1,25	-	-	-
0,625	+	+	+
0,312	+	+	+
0,156	+	+	+
0,078	+	+	+
K (+)	+	+	+

Keterangan : (-) : tidak ada pertumbuhan jamur

(+) : ada pertumbuhan jamur

Berdasarkan tabel diatas, hasil yang diperoleh dari uji aktivitas antijamur adalah fraksi etil asetat pada konsentrasi 0,625% masih terlihat adanya pertumbuhan jamur, konsentrasi 1,25%, 2,5%, 5%, 10%, 20% dan 40% tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur. Hasil tersebut sama, setelah dilakukan tiga kali pengujian ulang. Sehingga dapat disimpulkan bahwa Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi etil asetat daun senduduk bulu adalah 1,25%.

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

Identifikasi golongan senyawa secara kromatografi dilakukan terhadap fraksi etil asetat karena merupakan fraksi yang memiliki aktivitas paling besar terhadap jamur uji. Tujuan dilakukannya identifikasi senyawa secara kromatografi lapis tipis untuk mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam fraksi etil asetat. Identifikasi golongan senyawa tersebut dilakukan menggunakan fase gerak dan penampak bercak yang sesuai dengan senyawa yang diuji.

Tabel 13. Hasil identifikasi fraksi paling aktif secara kromatografi lapis tipis

Pengujian	Hasil					Ket
	sampel	Baku	UV 254	UV 366	Sinar Tampak	
Flavonoid	0,82	0,88	Peredaman	Berfluoresensi kuning	Sitroborat : kekuningan	+
Tanin	0,77	0,75	Berwarna hitam	Berwarna hitam	FeCl ₃ : hitam	+
Steroid	0,7 0,9	0,66	Berfluoresensi kuning	Berfluoresensi kuning	Lieberman bourchardat : Hijau	-

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa flavonoid dengan standar baku quercetin sebagai baku pembanding. Dideteksi pada sinar UV 254 nm berwarna gelap dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna kuning kehijauan dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak kuning kecoklatan. Nilai Rf fraksi etil asetat senyawa flavonoid sebesar 0,82 dan nilai Rf standar baku senyawa quercetin sebesar 0,88. Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil identifikasi golongan senyawa flavonoid dapat dilihat pada lampiran 18.

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa tanin menggunakan asam galat sebagai standar baku pembanding. Dideteksi pada sinar UV 254 nm berwarna hitam dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan warna biru kehitaman dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna hitam. Nilai Rf fraksi etil asetat senyawa tanin sebesar 0,77 dan nilai Rf standar baku senyawa asam galat sebesar 0,75. Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat positif mengandung senyawa flavonoid. Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dapat dilihat pada lampiran 18.

Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis Hasil identifikasi Kromatografi Lapis Tipis golongan senyawa steroid menggunakan stigmaterol sebagai standar baku pembanding. Dideteksi pada sinar UV 254 nm berwarna hijau gelap dan pada sinar UV 366 nm menunjukkan fluoresensi warna kuning dan pada sinar tampak menunjukkan adanya bercak berwarna hijau. Nilai Rf fraksi etil asetat sebesar 0,7 dan 0,9 sedangkan nilai Rf standar baku stigmasterol 0,66.

Dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat tidak mengandung senyawa steroid. Hasil identifikasi golongan senyawa tanin dapat dilihat pada lampiran 18.

Hasil identifikasi golongan senyawa terhadap fraksi yang paling efektif terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara kromatografi lapis tipis (KLT) menunjukan bahwa golongan senyawa kimia yang terkandung pada fraksi teraktif yaitu fraksi etil asetat adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid memiliki aktivitas sebagai antijamur dengan mekanisme kerja mendenaturasi protein, menganggu lapisan lipid yang dapat mengakibatkan kerusakan pada sel (Gunawan dan Mulyani 2004). Tanin memiliki mekanisme kerja sebagai antijamur dengan cara menghambat sintesa kitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada jamur dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan jamur terhambat. Tanin merupakan senyawa lipofilik sehingga mudah terikat pada dinding sel dan mengakibatkan kerusakan dinding sel (Silamba 2014).