

Bab VI Hasil dan Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antifungi dari ekstrak etanol dan fraksi daun 4 tanaman famili *Asteraceae* yaitu tanaman Insulin, Bandotan, Sembung dan Afrika terhadap jamur *Candida albicans* secara in-vitro. Penelitian dilakukan dari bulan Februari sampai bulan Juni 2019 di Laboratorium Sekolah Tinggi Farmasi Bandung, Bandung – Jawa Barat.

VI.I Persiapan Bahan dan Determinasi

Pengujian aktivitas antifungi dari 4 ekstrak dan fraksi daun tanaman famili *Asteraceae* yaitu Insulin, Bandotan, Sembung dan Afrika terhadap jamur *Candida albicans* diawali dengan proses pencarian simplisia daun yang telah dikeringkan beserta bagian tanaman dalam kondisi segar yang didapat dari Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan Tanaman Obat Manoko Lembang (Afrika, Insulin), Perkebunan Daerah Taraju Tasikmalaya (Sembung dan Bandotan). Determinasi dilakukan di Laboratorium Hayati, Sekolah Ilmu dan Teknologi Hayati, Institut Teknologi Bandung dan Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UNPAD. Determinasi dilakukan untuk menguji kebenaran tanaman yang akan digunakan dalam percobaan apakah termasuk kedalam jenis *Tithonia diversifolia*, *Ageratum conyzoides*, *Blumea balsamifera* dan *Vernonia amygdalina* dengan cara melakukan pengujian secara makroskopik dan mikroskopik terhadap bagian tanaman yang

kemudian dibandingkan dengan pustaka. Hasil determinasi kelima tanaman tersebut dapat dilihat pada Lampiran 1.

VI.2 Karakterisasi Simplisia

Pengujian karakterisasi simplisia yang dilakukan terdiri dari beberapa parameter pengujian yaitu penetapan kadar air, kadar abu total, kadar sari larut etanol dan kadar sari larut air. Tujuan karakterisasi ini adalah untuk menjamin mutu simplisia sehingga akan diperoleh bahan baku simplisia yang seragam yang pada akhirnya dapat menjamin efek farmakologi tanaman tersebut. Hasil karakterisasi dapat dilihat pada Tabel VI.1.

Tabel VI. 1 Hasil Karakterisasi Tanaman Famili *Asteraceae*

Tanaman	Kadar abu total (%)	Kadar air (%)	Kadar sari larut air (%)	Kadar sari larut etanol (%)
Insulin	0,61	6,90	1,93	9,33
Bandotan	0,95	1,26	2,09	9,96
Sembung	0,83	4,68	2,39	11,07
Afrika	0,83	4,20	1,75	11,32

Uji karakterisasi yang dilakukan meliputi uji kadar abu total, kadar air, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol. Uji kadar air dilakukan untuk mengetahui berapa banyak kandungan air yang ada dalam simplisia, hal ini akan mengetahui kondisi simplisia tersebut jika melebihi persentase 10% maka simplisia akan rentan akan pertumbuhan mikroba.

Uji kadar abu dilakukan untuk mengetahui banyaknya sisa senyawa mineral dan senyawa organik setelah dilakukan pembakaran.

Kemudian uji kadar sari larut air dilakukan untuk mengetahui persentase senyawa dalam simplisia yang dapat larut dalam air. Uji kadar sari larut etanol dilakukan untuk mengetahui kadar senyawa dalam simplisia yang dapat terlarut dalam etanol.

VI.3 Pembuatan Ekstrak

Ekstraksi simplisia menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Metode ini dipilih karena mudah, sederhana, dan tidak memerlukan peralatan khusus. Penggunaan pelarut etanol karena sifatnya yang universal sehingga diharapkan banyak golongan senyawa yang terlarut. Maserat yang diperoleh dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* yang dilengkapi dengan pompa vakum sehingga proses penguapan dapat dilakukan dibawah titik didih pelarut dan proses penguapan lebih cepat. Penguapan pelarut diuapkan dibawah titik didihnya yaitu 50°C agar senyawa aktif yang terkandung tidak rusak karena pemanasan. Hasil ekstrak etanol simplisia menghasilkan rendemen yang dapat dilihat pada tabel VI.2.

Tabel VI. 2 Rendemen Ekstrak dan Fraksi Tanaman Famili Asteraceae

Rendemen (%)	Tanaman			
	Insulin	Afrika	Sembung	Bandotan
Ekstrak	13.63	8.73	8.20	9.43
Fraksi n-heksan	16.65	18.95	58.20	34.35
Fraksi Etil Asetat	21.40	25.00	6.50	9.15
Fraksi Air	41.55	41.55	23.40	62.70

VI.4 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan terhadap simplisia dan ekstrak 4 tanaman famili *Asteraceae* tersebut, meliputi pengujian senyawa alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, kuinon, steroid/triterpenoid dimana pengerjaannya dilakukan secara kualitatif dengan melihat adanya reaksi warna dengan menggunakan suatu pereaksi. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel VI.3.

Tabel VI. 3 Hasil Skrining Fitokimia Daun Insulin, Bandotan, Sembung dan Afrika

Uji	Tanaman							
	Insulin		Bandotan		Sembung		Afrika	
	S	E	S	E	S	E	S	E
Alkaloid	+	+	+	+	+	+	+	+
Flavonoid	+	+	+	+	+	+	+	+
Saponin	+	+	-	-	+	+	-	-
Tanin	+	+	+	+	+	+	+	+
Kuinon	-	-	-	-	-	-	-	-
Steroid/ Triterpenoid	+	+	+	+	+	+	-	-

Ket : S = Simplisia; E = Ekstrak;

(+) = Terdeteksi senyawa uji; (-) = Tidak terdeteksi senyawa uji

Dilakukan uji skrining fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang dimiliki oleh setiap tanaman uji. Metabolit sekunder merupakan komponen yang diduga berperan menghasilkan aktivitas pada tanaman tersebut. Berdasarkan tabel diatas setiap tanaman memiliki kandungan metabolit sekunder yang berbeda-beda. Tanaman yang mengandung alkaloid diantaranya

Afrika, Bandotan, Sembung, dan Insulin. Alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol kemudian membentuk lubang sehingga menyebabkan kebocoran membran sel dan jamur kehilangan bagian intrasel seperti elektrolit (terutama kalium) dan molekul kecil sehingga menyebabkan kematian pada sel jamur (Mycek, et.al., 2001; Setiabudy & Bahry, 2007).

Selanjutnya tanaman yang mengandung tanin adalah Afrika, Bandotan, Sembung, dan Insulin. Tanin bersifat lipofilik sehingga mudah terikat pada dinding sel dan mengakibatkan kerusakan sel (Watson dan Preedy, 2007). Selanjutnya tanaman yang mengandung senyawa flavonoid adalah Bandotan, Sembung, Insulin, dan Afrika. Flavonoid yang bersifat lipofilik dapat mengganggu lapisan lipid dan mengakibatkan kerusakan dinding sel. Sifat lipofilik tersebut akan mengikat fosfolipid pada membran sel jamur dan mengganggu permeabilitas membran sel (Putri, 2015).

Tanaman yang mengandung saponin adalah tanaman Sembung, Insulin dan Afrika. Diduga bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, sehingga sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2001). Tanaman yang mengandung steroid adalah Bandotan, Sembung, dan Insulin. Triterpenoid dan steroid memiliki aktivitas antijamur dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran sel yang akhirnya dapat menyebabkan membran sel lisis (Liu dan Nes, 2009).

Tanaman yang mengandung Terpenoid adalah Afrika. Diduga senyawa ini dapat memberikan aktivitas antifungi karena senyawa tersebut mengganggu atau menghambat fungsi membran sel mikroba (Cowan, 1999).

VI.5 Uji Efek Antijamur

Uji aktivitas antibakteri dilakukan terhadap empat tanaman uji yaitu, Insulin (*Tithonia diversifolia*), Bandotan (*Ageratum conyzoides*), Sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC), dan Afrika (*Vernonia amygdalina*) menggunakan metode difusi dengan cakram kertas yang dilelupkan ke dalam ekstrak dan fraksi tanaman uji.

Dalam menentukan konsentrasi pengujian, sebelumnya dilakukan uji pendahuluan pada ekstrak tanaman. Selanjutnya konsentrasi yang didapat untuk melakukan uji aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans* adalah 5%, 8%, dan 16%, dengan menggunakan dua kontrol yaitu, DMSO 8% sebagai kontrol negatif dan ketokonazol 0,25% sebagai kontrol positif.

Larutan DMSO 8% juga digunakan untuk melarutkan ekstrak dan fraksi tanaman dalam melakukan pengujian, karena diketahui DMSO 8% tidak memberikan daya hambat pertumbuhan jamur sehingga tidak mempengaruhi pengujian. Aktivitas antifungi tanaman ditentukan dengan mengukur diameter zona hambat sehingga dapat ditentukan tanaman yang paling efektif dalam menghambat

pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel VI.4.1.

Tabel VI. 4 Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol dan Fraksi

Konsentrasi		Rata-rata diameter zona hambat (mm)			
		Afrika	Bandotan	Smbung	Insilin
Ekstrak	5%	0	0	0	9,32
	8%	0	0	0	10,50
	16%	12,27	10,57	12,13	13,11
Fraksi n-heksana	5%	0	0	0	0
	8%	0	0	11,60	0
	16%	0	0	17,85	0
Fraksi Etilasetat	5%	0	0	0	0
	8%	14,24	10,18	10,80	14,32
	16%	19,11	15,03	19,10	19,22
Fraksi Air	5%	10,23	0	0	11,82
	8%	14,08	11,80	0	15,01
	16%	16,09	15,80	10,89	20,28
Ketokonazol		26,25	26,25	26,25	26,25

Tabel VI. 5 Klasifikasi Respon Hambatan pertumbuhan Mikroba (Stout, 1971)

Diameter Zona Hambat (KHM)	Respon Hambatan Pertumbuhan
≤ 5	Lemah
5-10	Sedang
10-20	Kuat
≥ 20	Sangat kuat

Data diatas menunjukkan hasil uji aktivitas antibakteri dari keempat tanaman famili *Asteraceae*, dimana semakin tinggi konsentrasi maka daya hambat tanaman terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* semakin tinggi. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi mempengaruhi sensitivitas tanaman dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Dari keempat tanaman uji, yang paling berpotensi menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara berurutan dihasilkan oleh tanaman Insulin, Afrika, Sembung dan Bandotan. Sedangkan dari pengujian ekstrak dan fraksi tanaman, yang paling berpotensi menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ditemukan pada fraksi air. Hal ini terlihat pada besaran diameter zona hambat yang dihasilkan pada fraksi air adalah yang paling tinggi.

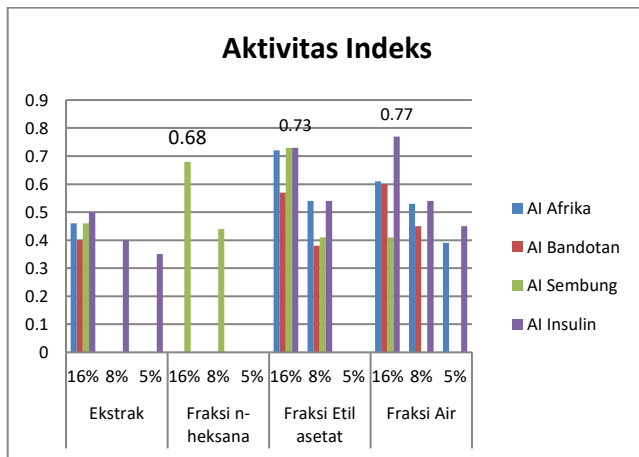
Sedangkan potensi yang paling lemah untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ditemukan pada fraksi n-heksana. Hal ini terlihat dari banyaknya hasil uji yang tidak ditemukan daya hambat tanaman terhadap pertumbuhan jamur. Hal ini menandakan bahwa senyawa aktif yang dapat memberikan aktivitas sebagai antibakteri pada tanaman lebih larut dalam pelarut polar yaitu pada fraksi air.

Data pada tabel diatas kemudian diolah menggunakan perhitungan AI (*Activity Index*) dan PI (*Proportion Index*) untuk menentukan

fraksi tanaman yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

VI.6 Activity Index (AI) dan Proportion Index (PO)

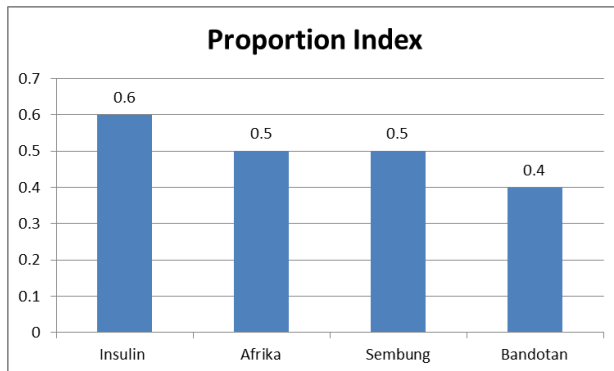
Berdasarkan data hasil pengujian aktivitas antifungi, data tersebut kemudian diolah untuk menentukan fraksi tanaman terbaik dari keempat tanaman yang dapat memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* menggunakan perhitungan AI dan PI dengan rumus yang tercantum pada gambar VI.1



Gambar VI. 1 Aktivitas Indeks Fraksi Ekstrak Etanol Tanaman Famili *Asteraceae* Terhadap Jamur *Candida albicans*

Dari grafik di atas dapat dilihat bahwa Fraksi Air Daun Tanaman Insulin memiliki Activity Index yang lebih tinggi yaitu 0,77. Oleh karena itu Fraksi Air Daun Tanaman Insulin dipilih untuk dilakukan

pengamatan morfologi kerusakan jamur dengan menggunakan *Scanning electron Microskop* (SEM).



Gambar VI. 2 *Proportions Index* Fraksi Ekstrak Etanol Tanaman Famili *Asteraceae* Terhadap Jamur *Candida albicans*

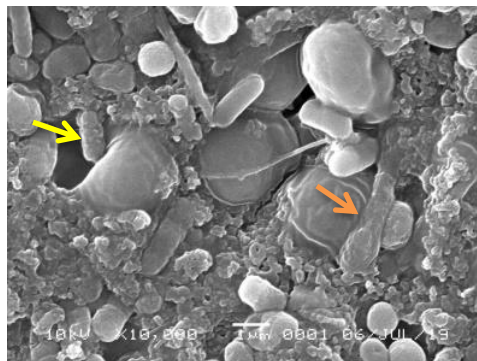
Kemampuan aktivitas antifungi dari keempat tanaman dibandingkan dengan menggunakan *Proportion Index* yang dapat dilihat dari grafik di atas. Tanaman yang paling baik menghambat pertumbuhan jamur yaitu Daun Tanaman Insulin dengan jumlah PI sebesar 0.6.

VI.6 Pengujian Scanning Electron Microskop (SEM)

Hasil dari perhitungan *Activity Index* (AI) dan *Proportion Index* (PI) digunakan untuk melakukan pengamatan morfologi sel jamur menggunakan SEM. Sehingga sampel yang digunakan adalah tanaman Insulin pada fraksi air dengan konsentrasi 16%. Hasil pengamatan morfologi sel jamur dapat dilihat pada gambar VI.2.



Gambar VI. 3 *Candida albicans*



Gambar VI. 4 *Candida albicans* + fraksi air Insulin 16%

Keterangan:

→ = Pori

→ = Pengerutan

A= Menunjukkan sel *Candida albicans* normal yaitu berbentuk batang dengan permukaan yang halus (perbesaran 10.000x). B= menunjukkan

sel *Candida albicans* yang rusak dengan terjadinya pengerutan dan pori pada jamur (perbesaran 10.000x).

Berdasarkan hasil pengamatan morfologi sel bakteri menggunakan SEM , terjadi perubahan sel antara jamur normal dengan jamur yang dikontakan dengan fraksi air tanman Insulin konsentrasi 16%. Perubahan tersebut yaitu terbentuknya pengerutan dan pori pada dinding sel jamur. Diduga perubahan ini terjadi akibat senyawa pada fraksi air Insulin berinteraksi dengan peptidoglikan sel jamur. Sehingga menyebabkan permeabilitas membran sel terganggu dan pembentukan dinding sel jamur terhambat (miksusanti, *et al.*, 2008).