

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Penelitian Terdahulu

Tujuan penelitian yang dilakukan pada tahun 2022 oleh Vivin Novia Putri, Riza Linda, dan Rikhsan Kuniatuhadi adalah untuk mengetahui aktivitas antijamur konsentrasi ekstrak metanol daun sengkubak (*P. cauliflora*). Berdasarkan temuan penelitian, adanya zona hambat yang dihasilkan menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sengkubak (*P. cauliflora*) dapat menekan jamur *M. furfur*. Pertumbuhan jamur *M. furfur* dapat dihambat secara efektif pada konsentrasi 1,5 g/ml dengan zona hambat fungistatik 13,21 mm bila daun sengkubak (*P. cauliflora*) diekstraksi dengan metanol (Novia Putri et al., 2023).

2.2 Simplisia

Simplisia atau herba kering adalah bahan alami yang digunakan untuk terapi dan belum melalui proses pengolahan dimana suhu pengeringannya tidak boleh melebihi 600°C (Ditjen POM, 2008). Komponen obat alam yang belum mengalami modifikasi bentuk atau masih dalam bentuk aslinya disebut simplisia (Gunawan, 2010). Oleh karena itu, simplisia merupakan bahan kering kecuali ditentukan lain dan merupakan bahan alami yang digunakan sebagai obat yang belum melalui proses pengolahan. Simplisia dibedakan menjadi tiga kategori, yaitu simplisia mineral, simplisia nabati, dan simplisia hewani. (Melinda, 2014). Simplisia yang digunakan pada penelitian ini adalah sebagai berikut :

2.2.1 Sengkubak (*Pycnarhenna Cauliflora* Diels.)

Sengkubak merupakan kelompok liana yang termasuk dalam famili Menispermaceae. Secara taksonomi dapat dikategorikan sebagai berikut tergantung pada identifikasi jenis yang dilakukan. (Backer & Brink., et al 1963) :

Kingdom	: plantae
Division	: magnoliophyta

Kelas	: liliopsida
Ordo	: ranunculales
Famili	: Menispermaceae
Genus	: <i>Pycnarhenna</i>
Spesies	: <i>Pycnarhenna cauliflora</i> (Miers.) Diels.

2.2.2 Morfologi dan Kandungan

Sengkubak memiliki daun pada tangkai bunga dengan panjang 3-9,5 cm. (Fathur *et al.*, 2021). Daun Sengkubak memiliki metabolit sekunder yang paling dominan terkandung di dalam daunnya adalah Alkaloid. Pada penelitian Purba *et al.*, (2014) di dalam ekstrak metanol daun sengkubak mengandung senyawa alkaloid dan tanin. Pada tahun 2020 dilakukan penelitian oleh Puspita dan Wulandari yang menganalisis kandungan senyawa $C_{15}H_{22}O$ yang berperan sebagai antifungi, hal ini diperkuat dengan sumber penelitian terdahulu yang terkait dari penelitian senyawa tersebut dapat digunakan sebagai anti jamur (Rukayadi *et al*, 2006).



Gambar 2. 1 Morfologi Daun Sengkubak (Backer & Brink, 1963)

2.3 Ekstraksi

Dengan menggunakan filter tertentu, proses ekstraksi melibatkan penghilangan komponen kimia dari jaringan tumbuhan atau hewan. Ekstrak merupakan sediaan pekat yang dibuat dengan memanfaatkan pelarut yang sesuai

untuk mengekstrak bahan aktif. Pelarut kemudian diuapkan sebagian besar atau seluruhnya, dan bubuk atau sisa massa diproses hingga memenuhi kriteria yang disyaratkan. (Depkes RI 1995). Metode Ekstraksi yang dapat digunakan antara lain dengan menggunakan pelarut, yaitu :

1. Cara Dingin

Salah satu keuntungan ekstraksi dingin dibandingkan metode ekstraksi lainnya adalah mengurangi potensi kerusakan zat termolabil dalam sampel. Sebagian besar molekul dapat diekstraksi dengan ekstraksi dingin, meskipun ada beberapa senyawa yang memiliki kelarutan buruk dalam pelarut pada suhu kamar. Ada beberapa teknik ekstraksi dingin yang mencakup ekstraksi bahan kering pada suhu kamar secara bertahap menggunakan pelarut yang semakin polar. Karena ekstrak tidak dimasak, kecil kemungkinan terjadinya degradasi senyawa alami, sehingga proses ini menjadi prosedur ekstraksi yang mudah. Maserasi dan perkolasi adalah dua metode ekstraksi dingin. (Istiqomah, 2013).

2. Cara Panas

Tidak dapat disangkal bahwa panas digunakan dalam prosedur ini. Jika dibandingkan dengan pendekatan dingin, proses filtrasi secara alami akan berjalan lebih cepat dengan adanya panas. Hasibuan mengklaim terdapat berbagai teknik ekstraksi panas yang digunakan pada tahun 2016, seperti berikut ini :

a. Refluks

Refluks adalah proses mengekstraksi pelarut dalam jumlah terbatas pada suhu yang sama dengan titik didihnya selama jangka waktu tertentu sementara pendinginan terbalik terjadi. Biasanya, tiga sampai lima kali pengulangan proses dilakukan pada tempat tinggal awal untuk memastikan prosedur ekstraksi yang ideal.

b. Sokletasi

Soxhletasi adalah proses ekstraksi bahan dengan pelarut baru. Hal ini sering dilakukan dengan peralatan khusus untuk memungkinkan ekstraksi terus menerus dengan jumlah pelarut yang cukup konstan dan pendinginan terbalik. Biomassa dimasukkan ke dalam wadah soxlet yang terbuat dari

kertas saring, yang memungkinkan pelarut terus direfluks. Ketika pelarut mencapai kadar tertentu, alat soket akan mengalirkan isinya ke dalam labu yang alasnya bulat. Setelah pemasukan pelarut baru, peralatan menggunakan pendingin refluks. Karena konsentrasi awal pelarut yang rendah, ekstraksi menjadi sangat efektif dan bahan kimia dari biomassa berhasil ditarik ke dalamnya.

c. Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperature ruangan (kamar). Secara umum dilakukan pada temperature 40-50°C.

d. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada tempreatur penangas air. Bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama waktu tertentu 15-20 menit.

e. Destilasi uap

Distilasi uap adalah proses mengekstraksi senyawa yang mudah menguap, seperti minyak atsiri, dan bahan segar, seperti simplisia, menggunakan uap air. Hal ini dilakukan dengan cara terus menerus menyesuaikan tekanan parsial senyawa volatil tersebut dengan fasa uap air dalam ketel hingga tercapai hasil yang diinginkan, yaitu uap campuran yang mengembun. fase ke dalam air sulingan yang mengandung komponen-komponen yang terpisah seluruhnya atau sebagian (senyawa volatil juga disuling).

2.4 Pelarut

Zat-zat yang perlu diperhatikan mempengaruhi pemilihan pelarut. Pemilihan pelarut dipengaruhi oleh beberapa faktor, termasuk kuantitas dan variasi senyawa yang akan diekstraksi, kecepatan ekstraksi senyawa, kemudahan ekstraksi dan penanganan setelahnya, toksisitas pelarut selama proses bioassay, dan potensi apa pun termasuk resiko kesehatan. (Tiwari, dkk. 2011).

- a) **Air** adalah pelarut serba guna yang banyak digunakan dan biasanya digunakan untuk mengekstrak senyawa tanaman antibakteri. Ekstrak tumbuhan dari pelarut organik diketahui memberikan aksi antibakteri yang lebih konstan dibandingkan ekstrak air, meskipun pada kenyataannya terapi umumnya menggunakan air sebagai pelarut. Selain itu, zat fenolik dengan sifat antioksidan dapat dilarutkan dalam air. (Tiwari, dkk. 2011).
- b) **Aseton** dapat melarutkan sejumlah unsur yang terdapat pada senyawa tumbuhan lipofilik dan hidrofilik. Pelarut ini memiliki ciri toksisitas rendah, mudah menguap, dan bercampur dengan air. Karena aseton dapat digunakan untuk mengekstrak berbagai macam bahan kimia fenolik, aseton banyak digunakan dalam penelitian antimikroba. (Tiwari, dkk. 2011)
- c) **Etanol** Ketika pelarut etanol digunakan untuk ekstraksi dibandingkan pelarut air, aktivitas antibakterinya lebih besar. Hal ini disebabkan karena ekstrak yang dibuat dengan pelarut etanol lebih banyak mengandung polifenol dibandingkan ekstrak yang dibuat dengan pelarut air. Karena etanol 70% lebih polar daripada etanol murni, sejumlah besar molekul flavonoid ditemukan di dalamnya. Bahan kimia intraseluler tanaman lebih mudah diekstraksi dari membran sel menggunakan etanol. Metanol tidak cocok untuk ekstraksi karena lebih beracun dibandingkan etanol meskipun lebih polar. (Tiwari, dkk. 2011).
- d) **Klorofom** adalah pelarut semipolar yang biasanya digunakan untuk mengekstrak zat seperti terpenoid dan tanin. (Tiwari, dkk. 2011).
- e) **Eter** biasanya digunakan secara selektif untuk menyari kumarin dan asam lemak (Tiwari, dkk. 2011).
- f) **n-heksana** terdiri dari sifat nonpolar yang sangat bervariasi dengan bau khas yang dapat menyebabkan pingsan. Dengan berat molekul 86,2 g/mol dan kisaran suhu 94,3 hingga 95,3°C. Kisaran suhu untuk 760 mmHg adalah 66 hingga 71°C. (Tiwari, dkk. 2011).
- g) **Etil asetat** adalah pelarut dengan sifat semipolar. Zat semipolar seperti fenol dan terpenoid akan tertarik pada etil asetat secara spesifik. (Tiwari *et al.*, 2011).

2.5 Fraksinasi

Proses pemisahan fraksi-fraksi yang mempunyai sifat berbeda yang terdapat dalam suatu larutan atau suspensi disebut fraksinasi (Yuliasih et al., 2007). Metode cair-cair, juga dikenal sebagai ekstraksi pelarut, digunakan untuk melakukan fraksinasi. Ini adalah prosedur pemisahan yang didasarkan pada variasi distribusi komponen yang dipisahkan antara dua fase cair. Dua jenis pelarut berbeda yang tidak dapat bercampur digunakan untuk proses pemisahan. (Febriyanti et al., 2004). Karakteristik zat yang larut dalam air dan zat yang larut dalam pelarut organik membuat hal ini dapat dilakukan. Fraksinasi dimulai dengan pelarut non-polar, semi-polar, dan polar dan berlanjut terus dari sana. Fraksi yang terdiri dari molekul-molekul yang bersifat non-polar, semipolar, dan polar secara progresif akan terbentuk pada akhir proses fraksinasi (Purwanto, 2015). Pemisahan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) digunakan dalam proses fraksinasi untuk penelitian ini.

Lapisan yang sesuai, seperti pelat kaca, dapat digunakan sebagai substrat bahan granular (fasa diam) untuk dipisahkan secara fisikokimia menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Kombinasi yang perlu dipisahkan terdapat pada pelat KLT dalam bentuk bercak dan berbentuk larutan. Senyawa-senyawa tersebut akan terpisah setelah pelat dimasukkan ke dalam tangki tertutup rapat dengan larutan pengembangan yang sesuai (fasa gerak). (Stahl, 1985:3)

2.6 Fungi

Fungi merupakan organisme yang tergantung pada organisme lain untuk mencukupi kebutuhan makanannya. Fungi atau jamur mempunyai sifat heterotrof, tidak berklorofil, dinding selnya mengandung selulosa atau kitin atau keduanya, pada umumnya memiliki hifa yang berinti tunggal (mononukleat) atau banyak (multinukleat) (Gandahusada et al., 2004).

Adapun jenis jamur yang digunakan untuk penelitian ini adalah *Candida albicans* merupakan jamur berbentuk oval, sel ragi bertunas berukuran 2-3 x 4-6 µm. Ini dapat menghasilkan pseudomycelium dalam eksudat jaringan serta dalam kultur. Sebenarnya jamur ini merupakan bagian dari flora khas kulit serta selaput

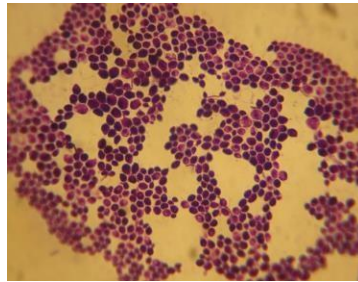
lendir saluran pencernaan, pernafasan, dan alat kelamin wanita. Ragi berpotensi berkembang biak di lingkungan tertentu dan menciptakan keadaan yang tidak sehat (Jawetz, Melnick, dan Adelberg's, 2013)

Sel bulat, lonjong, atau bulat lonjong membentuk jamur *Candida*. Pada media padat, koloni mempunyai permukaan halus, licin, atau terlipat, agak menonjol dari permukaan media, berwarna putih kekuningan, dan berbau ragi. Usia menentukan ukuran koloni. Hifa semu terlihat di dekat tepi koloni sebagai benang kecil yang menembus medium. Jamur biasanya tumbuh di dasar tabung dalam media cair (Suprihatin, 1982)

Kandidiasis adalah penyakit pada selaput lendir, mulut, vagina, dan saluran pencernaan yang disebabkan oleh *Candida albicans* (Pelcar & Chan, 1986). Kebanyakan infeksi bersifat endogen, karena paparan sinar matahari sudah ada di tubuh pasien, di banyak organ, terutama di usus. Variabel predisposisi biasanya muncul ketika infeksi dimulai. Akibatnya *Candida albicans* termasuk dalam kelompok jamur oportunistik (Suprihatin, 1982).

Terdapat klasifikasi dari jamur *Candida albicans* menurut Frobisher (1983) adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Division	: <i>Thallophyta</i>
Kelas	: <i>Deuteromycetes</i>
Ordo	: <i>Moniliales</i>
Famili	: <i>Cryptococcaceae</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>



Gambar 2. 2 Jamur Candida albicans

2.7 Antifungi

Antifungi adalah zat yang digunakan untuk mengobati penyakit menular yang disebabkan oleh jamur (Siswando dan Soekardjo, 2000). Aktivitas antijamur fungistatik dan fungisida dapat dipisahkan berdasarkan toksisitasnya. Fungisida adalah zat yang dapat membunuh jamur, sedangkan fungistatik adalah zat yang dapat menghambat jamur tanpa membunuhnya (Ganiswara, 2007).

Menurut Siswandono dan Soekardjo (2000), mekanisme penghambatan mikroba oleh zat antifungi adalah sebagai berikut:

1. Gangguan pada komponen sel
Struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan sel atau mengubah sel setelah terbentuk.
2. Bereaksi dengan membran sel
Membran sel dapat dirusak dengan cara senyawa antifungi berikatan kuat dengan ergosterol membentuk suatu kompleks yang dapat mengakibatkan perubahan permeabilitas dan kehilangan komponen penyusun sel.
3. Penghambatan terhadap sintesa protein dan asam nukleat
Asam nukleat, RNA, dan DNA sangat penting untuk fungsi normal sel. Kerusakan sel akan terjadi jika bahan kimia ini dihambat.

2.8 Mekanisme Kerja Pada Antifungi

Berikut mekanisme penghambatan antijamur yaitu :

a. Kerusakan pada dinding sel

Selain berfungsi sebagai penghalang sel, dinding sel juga terlibat dalam fungsi fisiologis lainnya. Menghambat produksi dinding sel atau mengubah bentuknya dapat menyebabkan kerusakan pada struktur.

b. Perubahan permeabilitas sel

Membran sitoplasma mengontrol pergerakan selektif zat masuk dan keluar sel serta pelestarian komponen tertentu di dalam sel. Integritas komponen seluler dijaga oleh membran. Reaksi enzim terjadi pada membran sitoplasma. Sel jamur yang mengalami kerusakan pada membran sitoplasmanya akan mati atau kemampuannya untuk berkembang biak terhambat.

c. Perubahan molekul protein dan asam nukleat

Asam nukleat dan molekul protein harus ada dalam membran alami sel agar dapat bertahan hidup. Perubahan protein dan asam nukleat berpotensi membahayakan sel secara permanen. Komponen seluler penting pada jamur dapat mengalami denaturasi akibat suhu tinggi dan konsentrasi kimia tertentu.

d. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Protein, RNA, dan DNA sangat penting untuk fungsi reguler sel. Oleh karena itu, gangguan apa pun pada sintesis DNA, RNA, atau protein pada jamur akan mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1988).

2.9 Metode Pengujian Pada Antifungi

2.9.1 Metode Difusi

Metode ini adalah metodologi penelitian yang paling umum digunakan. Obat yang aktivitasnya dievaluasi akan meresap ke dalam Media Agar setelah disuntikkan oleh mikroorganisme yang digunakan untuk menguji senyawa. Mengukur diameter wilayah yang mencegah pertumbuhan mikroba adalah metode dasar untuk mengetahuinya (Ganiswara, 2007). Terdapat 2 jenis pengerjaan metode difusi yaitu sebagai berikut :

a. Metode Sumuran (Perforasi)

Media agar diisi dengan bakteri uji yang berumur 18–24 jam, dan suhu dijaga sekitar 45°C. Cawan petri steril diisi dengan suspensi bakteri. Lubang berukuran diameter 6 hingga 8 mm dibuat setelah agar-agar mengeras. Setelah memasukkan 20µL bahan kimia untuk dievaluasi aktivitasnya ke dalam lubang, diinkubasi selama 18–24 jam pada suhu 37°C. Area bening di sekitar lubang berlubang menunjukkan bukti aktivitas antimikroba.

a. Metode Cakram Kertas

Dengan meneteskan larutan antimikroba dengan volume tertentu dan konsentrasi tertentu ke dalam kertas cakram kosong, zat yang akan diuji diserap ke dalam cakram. Setelah bakteri ditaburkan pada permukaan agar padat, kertas cakram diletakkan di atasnya dan diinkubasi selama 18 hingga 24 jam pada suhu 37°C. Area penghambatan pada cakram kertas menunjukkan tindakan antimikroba.

2.9.2 Metode Dilusi

Agen antibakteri digabungkan dengan media dan selanjutnya disuntikkan dengan kuman dalam prosedur pengenceran. Tujuan pengamatan adalah untuk mengetahui berkembangbiaknya mikroorganisme atau tidak. Pendekatan ini dapat diklasifikasikan menjadi tiga kategori berdasarkan media yang digunakan: turbidimetri, pengenceran serial, dan pengenceran pada cawan agar (Ganiswara, 2007).

Terdapat 2 jenis pengerjaan metode dilusi yaitu sebagai berikut :

a. Metode Pengenceran Tabung

Dengan menggunakan banyak tabung reaksi, antijamur disuspensikan dalam agar *Tryptic Soy Broth* (TSB), yang memiliki kisaran pH 7,2–7,4. Jamur uji kemudian diinokulasi. Ini telah disuspensikan dalam TSB atau NaCl fisiologis steril; setiap mililiter TSB mengandung sekitar 10⁵–10⁶ jamur. Tabung bening menunjukkan obat antijamur aktif, sedangkan

tabung keruh menunjukkan pertumbuhan jamur setelah masa inkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C.

b. Metode Pengenceran Agar

Dengan menggunakan jumlah zat aktif yang berbeda, zat antimikroba dicampur hingga homogen pada agar steril yang masih cair pada suhu serendah mungkin ($\pm 45^{\circ}\text{C}$). Campuran tersebut kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril, dan setelah mengeras, jamur uji diletakkan di permukaan.

2.10 Sinar Lampu UV

Cahaya yang tidak terlihat oleh mata manusia dan radiasi elektromagnetik dengan panjang gelombang antara 1 dan 4000 Å disebut sebagai sinar ultraviolet. Ketika sinar UV ini pertama kali diidentifikasi pada tahun 1677, peneliti Denmark Niels Ryberg Finsen menggunakannya untuk menghancurkan kuman berbahaya. Sifat sinar ultraviolet mempengaruhi kerusakan kulit dan memiliki kekuatan untuk membunuh kuman di dalam, sehingga memperlambat pertumbuhannya. Gelombang cahaya yang dipancarkan lampu ultraviolet memiliki panjang gelombang antara 100 dan 390 nm, lebih pendek dari cahaya tampak. Satu-satunya panjang gelombang di mana radiasi pembasmi kuman dari lampu kabut Merkuri dapat membunuh mikroorganisme adalah 2537 unit Armstrong, atau 253,7 milimeter. Suatu zat menyerap sinar UV, yang melepaskan energi ke dalam orbital elektron atom penyusunnya. Keadaan energi atom meningkat akibat energi yang diserap ini, sehingga mengubah reaktivitasnya.

Mengenai Sinar Lampu UV yang dipakai pada penelitian ini, berguna untuk memantau senyawa metabolit sekunder yang dielusi dalam proses KLT. Sampel yang ditotolkan pada plat silika gel setelah dielusi dengan fase gerak, diamati menggunakan

Sinar Lampu UV. Ada 2 jenis UV yang digunakan yaitu 254 nm dan 366 nm. Masing-masing memiliki perbedaan yaitu dari panjang gelombangnya.