

## **BAB IV**

### **HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

##### **1. Identifikasi Tanaman**

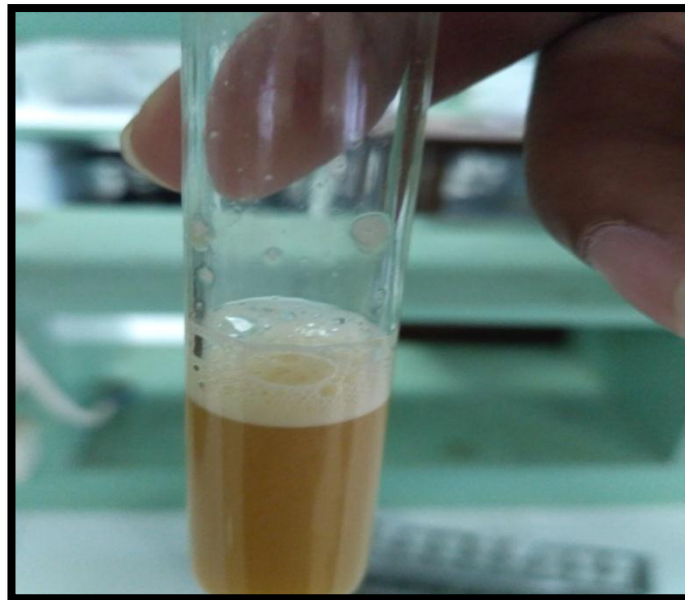
Hasil determinasi tanaman yang dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada menyatakan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelepah pisang Ambon (*Musa paradisiaca var.sapientum*).

##### **2. Pembuatan Ekstrak Etanolik**

Pelepah pohon pisang Ambon diambil dari kebun pisang di kecamatan Kencong – Kabupaten Jember. Pengambilan pelepah 5 cm dari batang pohon pisang. Bagian pelepah yang sudah diambil ditimbang sebanyak 5 kg. Pelepah dipotong dengan ukuran 0,5x0,5 cm lalu dirajang kecil-kecil sehingga mudah dalam proses pengeringan. Pelepah yang sudah dipotong kecil-kecil kemudian dijemur sampai kering dengan ditutup kain hitam. Blender pelepah pisang yang sudah kering hingga menjadi serbuk. Hasil dari proses ini didapatkan serbuk kering sebanyak 964 gram. Proses ekstraksi untuk penarikan metabolit sekunder menggunakan metode maserasi dengan pelarut alkohol 96% dengan perbandingan 1 : 5 selama 3 hari. Lalu dilakukan remaseri dengan penambahan pelarut hingga mencapai perbandingan 1 : 8. Proses ekstraksi yang telah dilakukan menghasilkan ekstrak kental etanolik sebanyak 14,06 gram berwarna hitam.

### 3. Identifikasi Senyawa Saponin

Uji identifikasi senyawa golongan saponin pada ekstrak etanol menggunakan uji Forth. Uji ini bertujuan untuk mengidentifikasi ada tidaknya senyawa saponin pada ekstrak kental. Langkah pertama sampel ekstrak 2 mg tambahkan aquades 2 ml, aduk hingga larut, lalu ditambahkan aquades lagi hingga 10 ml, kocok selama 30 detik, kemudian ditambahkan HCl (Suyono, 2005). Uji Forth yang telah dilakukan menimbulkan busa yang mantap dan tidak hilang, yang menandakan bahwa ekstrak ini mengandung senyawa saponin.



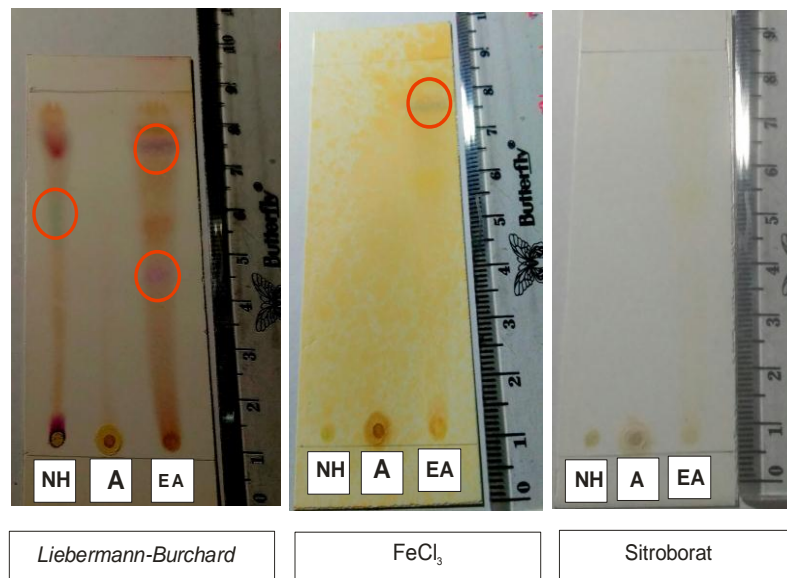
**Gambar 5.** Hasil uji Forth golongan senyawa saponin

#### **4. Fraksinasi Ekstrak Pelepah Pisang Ambon**

Pembuatan fraksi ekstrak dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair (*liquid extraction*) dengan menggunakan pelarut etanol, etil asetat, dan *n*-heksan. Fraksinasi dilakukan pada 11,21 gram ekstrak kental etanolik untuk masing-masing pelarut. Hasil fraksinasi ini diperoleh fraksi etanol sebanyak 5,46 gram dengan randemen 48,70 % berwarna coklat tua, fraksi etilasetat sebanyak 2,3 gram dengan randemen 20,51 % berwarna coklat, dan fraksi *n*-heksan sebanyak 2,55 gram dengan randemen 22,74 % berwarna coklat kekuningan.

#### **5. Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Etanol, Etilasetat, dan *n*-heksan**

Uji KLT pada penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa saponin, tanin, dan flavonoid. Fase diam yang digunakan yakni silika gel GF<sub>254</sub> dengan panjang lempeng 3 x 10 cm. Sedangkan fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksan dan etilasetat dengan perbandingan 1 : 2. Sebelum dilakukan penotolan pada lempeng silika, fraksi dilarutkan dengan pelarutnya masing-masing, kemudian ditotolkan pada fase diam dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng silika gel. Hasil uji KLT fraksi etanol, fraksi etilasetat, dan fraksi *n*-heksan ekstrak etanolik pelepah pisang Ambon bisa dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6.** Hasil uji KLT fraksi etanol, etilasetat, dan *n*-heksan

Keterangan : NH = fraksi *n*-heksan

A = fraksi etanol

EA = fraksi etilasetat

Uji analisis senyawa saponin menurut teori akan memberikan bercak warna coklat, violet, sampai biru kehijauan setelah disemprot pereaksi penampak bercak *Liebermann-Burchard* (Jaya, 2010). Hasil uji KLT diperoleh fraksi *n*-heksan dan fraksi etilasetat timbul warna biru pada sinar UV 366 nm, tidak timbul warna pada sinar UV 254 nm, dan timbul warna coklat, violet sampai biru kehijauan pada sinar tampak setelah disemprot dengan *Liebermann-Burchard*. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi tersebut mengandung senyawa saponin.

Identifikasi selanjutnya yang dilakukan pada uji analisis KLT ini yakni mengidentifikasi kandungan senyawa tanin dalam fraksi etanol, fraksi

etilasetat, dan fraksi *n*-heksan. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Damayanti (2001) tanin akan memberikan bercak warna biru atau ungu kehitaman jika disemprotkan dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Hasil uji KLT didapatkan fraksi etilasetat timbul warna biru pada UV 366, tidak timbul warna pada UV 254, dan timbul warna biru pada sinar tampak setelah disemprot dengan FeCl<sub>3</sub>. Hasil ini menunjukkan bahwa fraksi etilasetat mengandung senyawa tanin.

Analisis uji flavonoid akan timbul warna kuning kemerahan setelah disemprot pereaksi penampak bercak Sitroborat (Markham, 1982). Hasil uji KLT pada ketiga fraksi tidak timbul warna pada UV 366, UV 254, dan sinar tampak sebelum dan setelah disemprot dengan peraksi semprot Sitroborat. Hasil ini menunjukkan bahwa tidak ada kandungan flavonoid dalam fraksi etanol, fraksi etilasetat, dan fraksi *n*-heksan ekstrak etanolik pelepah pisang Ambon (*Musa paradisiaca var. sapientum*).

**Tabel 1.** Hasil uji KLT fraksi etanol, etilasetat, dan *n*-heksan

No	Fraksi	Pereaksi semprot	Warna	Rf	Hasil
1.	etanol	FeCl <sub>3</sub>	-	-	Saponin (-)
		LB	-	-	Tannin (-)
		Sitroborat	-	-	Flavonoid (-)
2.	etilasetat	FeCl <sub>3</sub>	Biru	0,81	Saponin (+)
		LB	Cokelat dan Violet	0,43 dan 0,81	Tannin (+) Flavonoid (-)
		Sitroborat	-	-	
3.	<i>n</i> -heksan	FeCl <sub>3</sub>	-	-	Saponin (+)
		LB	Biru kehijauan	0,56	Tannin (-) Flavonoid (-)
		Sitroborat	-	-	

## 6. Uji Aktivitas Antijamur

Uji potensi antijamur dilakukan pada fraksi etanol, etilasetat, dan *n*-heksan menggunakan metode dilusi cair. Uji ini dilakukan untuk mengetahui apakah fraksi tersebut berpotensi membunuh atau menghambat aktivitas jamur *Candida albicans*. Fraksi etanol, etilasetat, dan *n*-heksan dibuat kadar seri konsentrasinya dengan berbagai variasi yakni 6,25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50 mg/ml, dan 100 mg/ml. Masing-masing konsentrasi ekstrak etanolik tersebut dilakukan replikasi pengujian antijamur sebanyak 3x.

Data yang diperoleh dari uji antijamur dengan metode dilusi cair ini adalah nilai Kadar Hambat minimum (KHM) dan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan cara melihat kekeruhan pada semua kadar konsentrasi ekstrak di dalam tabung reaksi dan dibandingkan dengan kontrol

negatif dan kontrol positif. Penentuan nilai KHM didasarkan pada kadar konsentrasi terendah dari masing-masing konsentrasi fraksi yang masih mampu untuk menghambat pertumbuhan jamur yang ditandai dengan kejernihan pada tabung reaksi. Sedangkan penentuan KBM didasarkan pada kadar konsentrasi yang benar-benar jernih yang berarti tidak ditumbuhi jamur sama sekali. Namun hasil pengamatan kekeruhan ini tidak dapat dilakukan karena fraksi yang didapatkan sudah berwarna coklat pada tabung reaksi sebelum diberikan suspensi jamur.

Untuk mengamati dan menegaskan hasil dari uji aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair, maka dilakukan uji penegasan dengan cara menggosokkan dari setiap tabung reaksi ke media agar. Jika masih terdapat pertumbuhan jamur pada media berarti fraksi tersebut tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dan sebaliknya jika tidak terdapat pertumbuhan jamur pada media, berarti fraksi ini memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Pengamatan hasil penggosokan pada media tumbuh dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 7.

**Tabel 2.** Hasil pengamatan pertumbuhan jamur *C. albicans* pada sampel uji

Seri Konsentrasi	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
A 100	–	+	+
A 50	–	–	–
A 25	–	–	–
A 12,5	–	–	–
A 6,25	–	–	–
EA 100	+	+	+
EA 50	–	–	–
EA 25	–	–	–
EA 12,5	–	–	–
EA 6,25	–	–	–
NH 100	+	+	+
NH 50	–	–	–
NH 25	–	–	–
NH 12,5	–	–	–
NH6,25	–	–	–
KONTROL (+)	+	+	+
KONTROL (-)	–	–	–

Keterangan : + = berpotensi antijamur (tidak terdapat pertumbuhan jamur)

– = tidak berpotensi antijamur (terdapat pertumbuhan jamur)

A = fraksi etanol



EA = fraksi etilasetat

NH = fraksi *n*-heksan

Hasil uji penegasan antijamur dengan metode dilusi cair pada penelitian ini dapat dilihat pada tabel 3. Pada tabel diatas dapat dilihat bahwa hasil penggoresan dari ketiga fraksi menunjukkan adanya aktivitas antijamur masing-masing pada konsentrasi 100 mg/ml baik fraksi etanol, etil asetat, maupun fraksi *n*-heksan. Namun pada konsentrasi 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, dan 6,25 mg/ml semua masih ditumbuhi jamur. Pada penggoresan kontrol positif tidak terjadi pertumbuhan *Candida albicans*, sedangkan pada kontrol negatif ditumbuhi jamur.

Hasil uji fraksi etanol replikasi pertama semua seri konsentrasi masih ditumbuhi jamur. Pada konsentrasi 6,25 mg/ml sudah mulai terlihat aktivitas antijamur dimana hasil penggoresan pada fraksi tersebut lebih sedikit dibanding kontrol negatif, namun pada konsentrasi 100 mg/ml pertumbuhan jamur jauh lebih sedikit dibanding kontrol negatif. Lalu pada replikasi kedua dan ketiga konsentrasi 100 mg/ml sama sekali tidak ditumbuhi jamur. Dari hasil ini disimpulkan bahwa nilai KHM darai fraksi etanol berada pada konsentrasi 6,25 mg/ml dan nilai KBM fraksi etanol berada pada konsentrasi 100 mg/ml.

Pada fraksi etilasetat semua replikasi mendapatkan hasil yang relatif sama di semua konsentrasi baik 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, maupun 6,25 mg/ml. Pada konsentrasi 100 mg/ml ketiga replikasi menunjukkan bahwa jamur *Candida albicans* sama sekali tidak tumbuh pada media penggoresan, hal ini menandakan bahwa pada konsentrasi 100 mg/ml fraksi

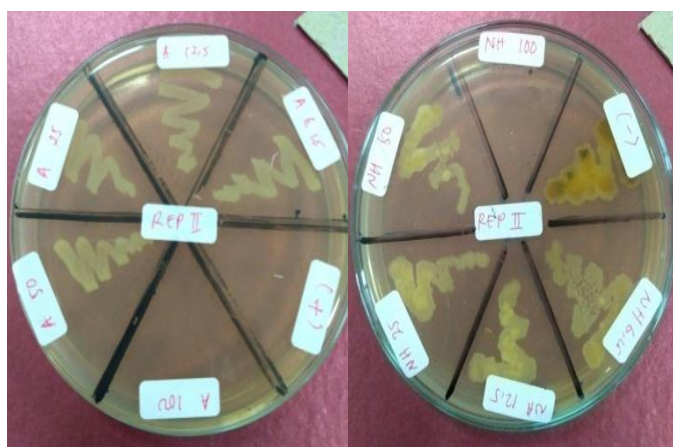
etilasetat dapat membunuh jamur *Candida albicans*. Sedangkan aktivitas penghambatan mulai terlihat pada konsentrasi terkecil yaitu 6,25 mg/ml. Hasil ini menunjukkan bahwa nilai KHM fraksi etilasetat berada pada konsentrasi 6,25 mg/ml dan nilai KBM fraksi etilasetat berada pada konsentrasi 100%.

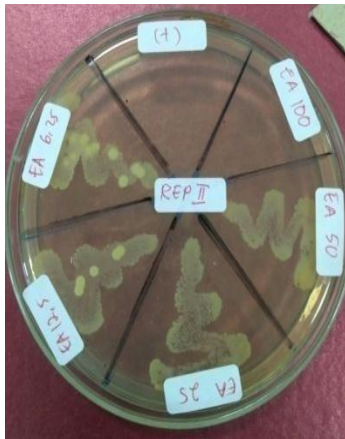
Hasil uji pada fraksi *n*-heksan juga tidak jauh berbeda dengan fraksi etilasetat, ketiga replikasi mendapatkan hasil yang relatif sama yakni pada konsentrasi 100 mg/ml tidak terjadi pertumbuhan jamur *Candida albicans*, sedangkan pada konsentrasi 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, dan 6,25 mg/ml masih ditumbuhi jamur *Candida albicans* meskipun hasil penggoresan tidak sebanyak pada kontrol negatif. Aktivitas penghambatan sudah terlihat pada konsentrasi 6,25 mg/ml, maka konsentrasi 6,25 mg/ml adalah nilai KHM untuk fraksi *n*-heksan dan nilai KBM fraksi *n*-heksan berada pada konsentrasi 100 mg/ml.

Kontrol positif yang digunakan menggunakan ketokonazol tablet konsentrasi 10 % dengan pelarut DMSO, hasil yang diperoleh dari ketiga fraksi menunjukkan bahwa kontrol positif dapat membunuh jamur *Candida albicans*, untuk memastikan yang membunuh jamur adalah ketokonazol, maka DMSO juga dimasukkan kedalam kontrol negatif dan terbukti jamur *Candida albicans* tetap tumbuh pada media penggoresan.

Pada penggoresan kontrol negatif diperoleh hasil ketiga replikasi ditumbuhi jamur

*Candida albicans*.





**Gambar 7.** Hasil penggoresan pada uji antijamur masing-masing fraksi

## B. PEMBAHASAN

Indonesia memiliki banyak tumbuhan yang sudah terbukti dapat digunakan sebagai agen antimikroba untuk pengobatan tradisional (Dalimartha, 2008). Munculnya falsafah hidup “*back to nature*” mendorong minat masyarakat Indonesia untuk memanfaatkan kembali bahan alam untuk pengobatan tradisional. Beberapa tumbuhan tertentu memiliki kandungan zat antijamur yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan, salah satunya yaitu pisang Ambon.

Banyak penelitian telah dilakukan terhadap bagian tumbuhan dari pisang Ambon, diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Hastari (2012) menggunakan pendekatan uji antimikroba. Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak pelepah pisang Ambon terbukti memiliki aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa mikroba penyebab infeksi.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui berapa konsentrasi dari fraksi-fraksi pelarut pelepah pisang Ambon yang mempunyai aktivitas daya hambat maupun daya bunuh terhadap *Candida albicans*. Langkah awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel uji yang telah didapat untuk keperluan penelitian dengan cara menggunakan uji

determinasi tanaman. Uji determinasi ini dilakukan untuk memberikan kepastian terhadap keaslian dari pelepah pisang Ambon yang digunakan. Sehingga hasil akhir dari penelitian ini tidak akan menimbulkan kekeliruan. Berdasarkan hasil uji determinasi tanaman yang dilakukan di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta dapat diperoleh informasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tumbuhan pisang Ambon (*Musa paradisiaca*).

Setelah uji determinasi dilakukan, selanjutnya dilakukan proses pembuatan serbuk pelepah pisang Ambon untuk keperluan ekstraksi. Pembuatan serbuk ini dilakukan dengan cara pelepah pisang Ambon yang telah diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dengan cara dicuci. Pencucian bertujuan untuk membersihkan tanaman dari debu serta menghilangkan bahan pengotor seperti tanah yang ikut menempel pada tanaman agar tidak mempengaruhi kualitas sampel (Dirjen POM, 2000). Selanjutnya pelepah pisang Ambon dipotong-potong dan dirajang kecil-kecil sehingga proses pengeringan bisa memberikan hasil yang rata dan kering sempurna. Proses pengeringan dilakukan dibawah sinar matahari dengan ditutupi kain hitam untuk menghindari kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam pelepah pisang Ambon (*Musa paradisiaca*) (Dirjen POM, 2000). Tujuan dari proses pengeringan ini dimaksudkan untuk menghilangkan kadar air pada sampel tanaman agar tidak merusak kandungan atau senyawa yang diduga sebagai agen antijamur oleh reaksi enzimatik dan juga mencegah terjadinya pembusukan selama proses penyimpanan (Katno, 2008). Proses pengeringan

dihentikan apabila pelepah pisang Ambon yang dikeringkan tersebut sudah berubah warna menjadi coklat merata dan sudah mudah untuk dipatahkan. Setelah proses pengeringan selesai dilanjutkan dengan proses penyerbukan menggunakan blender. Pembuatan serbuk dengan cara diblender ini berfungsi memperluas kontak permukaan antara bahan pelarut dan sampel sehingga memaksimalkan kelarutan senyawa yang akan diisolasi ketika proses ekstraksi (Baraja, 2008).

Ekstraksi pelepah pisang Ambon dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama 4 hari ditambah dengan remaserasi. Etanol digunakan sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut universal yang bersifat semipolar, sehingga dapat digunakan untuk menarik keluar senyawa yang memiliki tingkat kepolaran dari tingkat rendah hingga tinggi dalam sel (Wulandari, 2011). Selain itu etanol juga merupakan cairan penyari yang bersifat netral, kapang dan kuman sulit untuk tumbuh dalam etanol pada konsentrasi 20% keatas, dan tidak beracun. Etanol juga dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan, selektif dalam menghasilkan jumlah senyawa aktif yang optimal, serta panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih sedikit (Depkes RI, 1986).

Proses ekstraksi pada penelitian ini dilakukan menggunakan 800 gram serbuk pelepah pisang Ambon yang direndam dalam 4 liter pelarut etanol 96% dengan perbandingan 1 : 5 b/v. Kemudian dilakukan remaserasi dengan penambahan total 2,4 liter hingga didapatkan perbandingan 1 : 8. Menurut Voigh (1995) menyatakan bahwa semakin besar perbandingan antara serbuk

simplisia dengan cairan pengekstraksi, maka akan semakin banyak hasil yang akan diperoleh dari proses maserasi tersebut. Selama proses ekstraksi, dilakukan pengadukan secara berulang-ulang. Pengadukan dilakukan dengan tujuan agar memudahkan pelarut untuk melarutkan senyawa kimia yang ingin diisolasi di dalam sel tanaman (Baraja, 2008).

Apabila terjadi keadaan diam selama proses maserasi berlangsung, hal ini dapat menyebabkan turunnya perpindahan bahan aktif dari dalam sel menuju ke luar sel sehingga memperlama proses terjadinya keseimbangan konsentrasi di dalam dan diluar sel (Voigh, 1995). Ekstrak direndam selama 3 hari, kemudian ditambahkan pelarut lagi, didiamkan dan dilakukan remaserasi lagi. Setelah maserasi selesai dilanjutkan dengan proses evaporasi. Proses evaporasi dilakukan dengan menggunakan *rotary evaporator* dilanjutkan dengan pemansan diatas *waterbath* suhu 60°C. Pemekatan dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut dan meningkatkan konsentrasi larutan agar lebih tinggi (Voigh, 1995). Hasil akhir ekstraksi yang diperoleh berupa ekstrak kental etanolik pelepah pisang Ambon (*Musa paradisiaca*) sebanyak 14,06 gram berwarna hitam pekat.

Analisa kualitatif yang dilakukan terhadap hasil ekstraksi yang telah diperoleh menggunakan metode uji Forth dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Uji Forth dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin dalam ekstrak pelepah pisang Ambon. Saponin perlu diketahui keberadaannya karena senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas sebagai agen antijamur.

Uji Forth dilakukan dengan cara memasukkan 2 ml sampel kedalam tabung reaksi kemudian ditambahkan 10 ml akuades lalu dikocok selama 30 detik, diamati perubahan yang terjadi. Apabila terbentuk busa yang mantap (tidak hilang selama 30 detik) maka identifikasi menunjukkan adanya saponin (Suyono, 2005). Busa yang terbentuk disebabkan karena senyawa saponin memiliki sifat fisika yaitu mudah larut dalam air dan akan menimbulkan busa ketika dikocok (Agung, 2014). Reaksi saponifikasi terjadi akibat adanya hidrolisis dari ester dengan hidroksida sehingga membentuk garam dari asam lemak.

Ekstrak pelepah pisang Ambon yang diperoleh dan terbukti mengandung senyawa saponin selanjutnya dilakukan fraksinasi dengan pelarut etanol, etilasetat, dan *n*-heksan berdasarkan metode ekstraksi cair-cair (*liquid extraction*). Pelarut etanol, etilasetat, dan *n*-heksan digunakan untuk mendapatkan fraksi ekstrak berdasarkan tingkat kepolaran senyawa yaitu sebagai fraksi polar, semipolar, dan non-polar. Fraksinasi pada penelitian ini bertujuan untuk memisahkan senyawa golongan saponin dengan senyawa golongan lain yang terkandung dalam pelepah pisang Ambon. Saponin merupakan senyawa polar dan bersifat mudah larut dalam air dan glikosida – glikosida yang mempunyai tegangan permukaan yang kuat (Suradikusumah 1989). Karena saponin tersebut merupakan senyawa polar, maka senyawa ini akan terikat oleh pelarut etanol yang bersifat polar. Senyawa golongan alkaloid, steroid/terpenoid, flavonoid, dan tanin diperkirakan akan terikat pada

pelarut etilasetat yang bersifat semipolar atau pelarut *n*-heksan yang bersifat nonpolar (Harborne, 1984).

Ekstrak kental mula-mula diencerkan dengan air suling hangat untuk melarutkan ekstrak ekstrak yang cenderung kental. Campuran tersebut kemudian ditambahkan dengan masing-masing pelarut (etanol, etilasetat, *n*-heksan) dan dihomogenkan. Hasil proses ini akan terbentuk dua lapisan cairan yang terpisah yang disebabkan karena perbedaan massa jenis dari kedua cairan. Proses ini juga menyebabkan ekstrak yang masih mengandung berbagai konstituen akan terpisah berdasarkan polaritas senyawa terhadap pelarut sehingga untuk pelarut etanol, etilasetat, dan *n*-heksan secara berurutan akan mendapatkan senyawa yang polar, semipolar, dan non-polar. Hasil yang diperoleh dari proses ini untuk fraksi etanol, etilasetat, dan *n*-heksan secara berurutan sebanyak 5,46 g, 2,3 g, dan 2,55 g.

Analisis kualitatif dilakukan terhadap hasil fraksinasi yang telah diperoleh menggunakan metode pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa saponin, tanin, dan flavonoid dalam masing-masing fraksi karena ketiga senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas sebagai agen antijamur. Analisis ketiga senyawa tersebut menggunakan fase diam dan fase gerak yang sama yaitu fase diam silika gel GF<sub>254</sub> nm, sedangkan fase gerak menggunakan *n*-heksan dan etilasetat 1 : 2, perbedaan terdapat pada pereaksi semprot yang digunakan.

Sampel dikatakan positif mengandung saponin apabila terbentuk warna cokelat, violet, sampai biru kehijauan setelah dilakukan penyemprotan



menggunakan *Liebermann-Burchard*. Sampel dikatakan positif mengandung flavonoid ketika timbul warna kuning kemerahan setelah disemprot dengan reagen sitroborat, dan dikatakan positif mengandung tanin apabila timbul warna biru setelah disemprot dengan reagen  $\text{FeCl}_3$ . Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru pada sampel setelah ditambahkan reagen  $\text{FeCl}_3$  karena gugus fenol pada tanin yang akan membentuk senyawa kompleks dengan ion  $\text{Fe}^{3+}$  (Harborbe, 1996).

Hasil penyemprotan *Lieberman-Burchard* memperoleh hasil positif pada fraksi etilasetat dan *n*-heksan yakni timbul warna cokelat violet pada etilasetat dan warna biru kehijauan pada fraksi *n*-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi tersebut mengandung senyawa golongan saponin. Pada penyemprotan  $\text{FeCl}_3$  reaksi warna hanya timbul pada fraksi etilasetat, yaitu warna biru. Sedangkan pada penyemprotan sitroborat tidak terjadi reaksi warna pada ketiga fraksi. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi tersebut tidak mengandung flavonoid.

Uji aktivitas antijamur ekstrak etanol, fraksi etilasetat dan fraksi *n*-heksan ekstrak etanolik pelepah pisang Ambon dilakukan terhadap *Candida albicans* dengan variasi konsentrasi 6,25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 25 mg/ml, 50mg/ml, dan 100 mg/ml pada masing-masing fraksi. Metode dilusi cair dipilih karena metode ini spesifik untuk mengetahui potensi dan untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) atau KBM (kadar bunuh minimum) dari ekstrak etanol, fraksi etilasetat dan fraksi *n*-heksan pelepah pisang Ambon.

Sebelum dilakukan perlakuan, alat dan bahan yang digunakan dilakukan sterilisasi terlebih dahulu. Sterilisasi mempunyai peranan yang sangat penting dalam keberhasilan terhadap penelitian yang sedang dilakukan, karena menurut Schwartz (2000) Sterilisasi adalah penghancuran atau pemusnahan terhadap semua mikroorganisme. Hal ini bertujuan untuk meminimalisir adanya gangguan dari kontaminan dalam penelitian. Setelah dilakukan sterilisasi dilanjutkan pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* dengan menggunakan BHI (*brain heart infusion*) dan standart McFarland sebagai standart uji yang memungkinkan perbandingan visual dari kepadatan bakteri atau jamur.

Penelitian aktivitas antijamur ini digunakan kontrol positif dan kontrol negatif sebagai pembanding. Kontrol positif berfungsi sebagai pembanding apakah setiap perlakuan memiliki efek yang sama terhadap antijamur yang digunakan sebagai kontrol positif. Sedangkan kontrol negatif selain berfungsi sebagai pembanding antara jamur yang tumbuh pada perlakuan dan pada kontrol negatif, juga berfungsi untuk mengetahui apakah pelarut pengencer sampel yang digunakan memiliki efek antijamur. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazol 10%. Ketokonazol dipilih sebagai kontrol positif karena mudah untuk diperoleh dan juga efektif untuk menghambat pertumbuhan dari *Candida albicans* (Kayser dkk, 2005). Keefektifan ketokonazol terbukti dengantidak terdapatnya pertumbuhan *Candida albicans* pada penelitian ini. Mekanisme ketokonazol dalam mempengaruhi keberlangsungan hidup dari jamur patogen adalah dengan cara menghambat

atau menghambat enzim sitokrom *Porphylin 450* (P-450) lanosterol 14- $\alpha$ -*demethylase*. Enzim ini mengubah lanosterol menjadi ergosterol yang dibutuhkan dalam sistem membran sel jamur. Sehingga dengan terhambatnya pembentukan ergosterol pada jamur akan menyebabkan rusaknya membran sel jamur tersebut (Rex dan Arian, 2003). Sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah campuran antara suspensi jamur dengan DMSO.

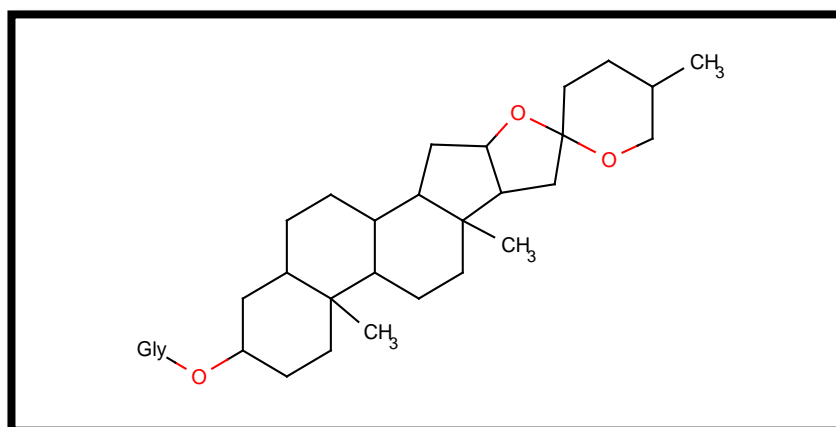
Hasil penelitian membuktikan bahwa masing-masing fraksi memiliki efek yang sama seperti ketokonazol sebagai kontrol positif, hal ini dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur pada konsentrasi 100 mg/ml pada tiap fraksi. Sedangkan kontrol negatif banyak ditumbuhi jamur yang membuktikan bahwa pelarut DMSO yang digunakan tidak mempunyai efek antijamur. Jadi yang menyebabkan tidak adanya pertumbuhan jamur adalah fraksi dari pelepah pisang Ambon (*Musa paradisiaca*).

Data dari ketiga replikasi yang dilakukan tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan, yang berarti penelitian yang dilakukan sudah presisi. Hanya saja replikasi pertama pada fraksi etanol konsentrasi 100 mg/ml mendapatkan hasil yang berbeda dengan replikasi kedua dan ketiga. Tidak dilakukannya sterilisasi bahan uji pada sinar UV selama 30 menit pada replikasi pertama, memungkinkan bahan uji terdapat kontaminasi yang menyebabkan perbedaan hasil dengan replikasi kedua dan ketiga.

Pengujian aktivitas antijamur dalam penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui fraksi mana yang terbukti paling baik dalam menghambat

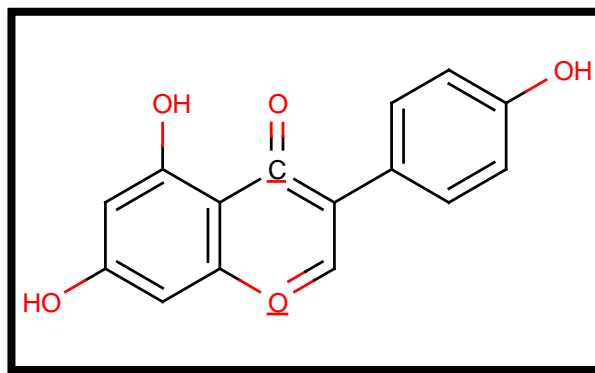
pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Namun hasil yang diperoleh dari ketiga fraksi menunjukkan hasil yang sama. Fraksi etanol, fraksi etilasetat dan fraksi *n*-heksan pada konsentrasi terkecil yaitu 6,25 mg/ml sudah terlihat adanya aktivitas antijamur jika dibandingkan dengan kontrol negatif. Kadar bunuh minimum pun juga sama yaitu berada pada konsentrasi 100 mg/ml yang dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur pada konsentrasi 100 mg/ml dari ketiga fraksi. Hal ini menunjukkan bahwa tidak hanya golongan senyawa saponin yang mempunyai aktivitas antijamur pada pelepah pisang Ambon (*Musa paradisiaca*). Kandungan flavonoid dan tanin dalam pelepah pisang Ambon diduga juga bisa sebagai agen antijamur (Bambang, 2006).

Saponin merupakan suatu glikosida dengan steroid dan triterpen sebagai aglikon yang dihasilkan. Saponin steroid kemudian dihidrolisis menghasilkan sapogenin yang berfungsi sebagai agen antijamur (Robinson, 1995). Salah satu jenis contoh saponin ini adalah asparagosida. Struktur asparagosida dapat dilihat pada gambar 8.



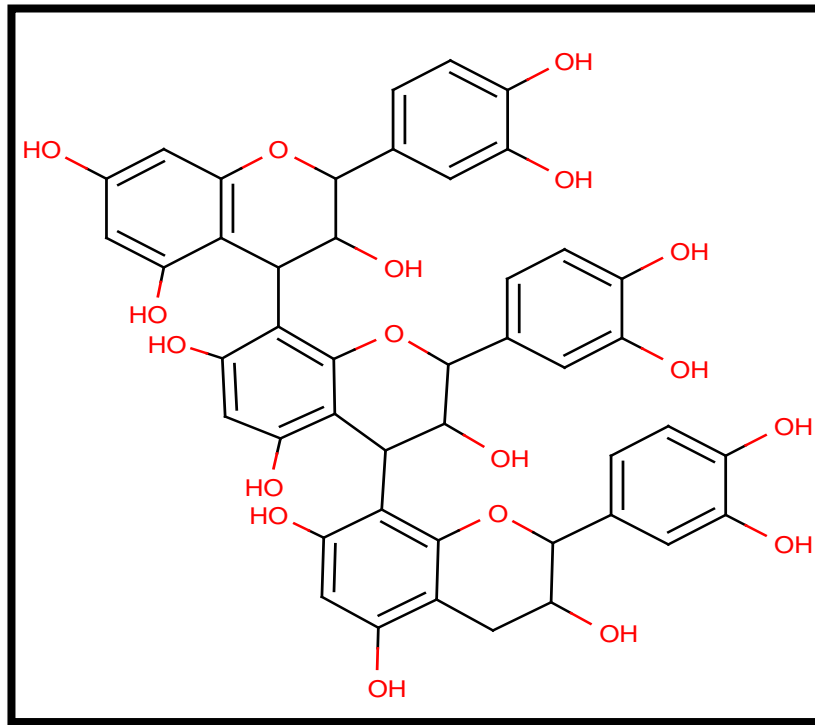
**Gambar 8.** Struktur saponin steroid asparagosida

Flavonoid yang terkandung dalam pelepah pisang Ambon juga dapat berkhasiat sebagai antijamur. Golongan senyawa isoflavon pada flavonoid mempunyai fungsi fitoaleksin yaitu mampu menghambat penyebaran jamur pada tubuh tanaman. Fungsi isoflavon sebagai antijamur tidak hanya pada tumbuhan, namun juga pada manusia (Iqbal, 2001). Isoflavon dalam bentuk aglikonnya mempunyai bioaktivitas lebih tinggi. Salah satu contoh isoflavon dalam bentuk aglikonnya adalah genistein. Struktur genistein dapat dilihat pada gambar 9.



**Gambar 9.** Struktur isoflavon genistein

Tanin secara kimia dibagi menjadi empat bagian yaitu tanin terhidrolisis, tanin terkondensasi, tanin kompleks, dan pseudotanin (Hagerman, 2002). Tanin yang banyak terdapat pada buah-buahan, biji-bijian, dan tanaman pangan adalah golongan tanin terkondensasi. Tanin terkondensasi yang sering disebut proantosianidin dapat mengikat protein-protein penting pada jamur sehingga sel jamur tidak dapat terbentuk (Robinson, 1995). Proantosianidin merupakan polimer dari katekin dan epikatekin (Maldonado, 1994). Struktur proantosianidin bisa dilihat pada gambar 10.



**Gambar 10.** Struktur tanin terkondensasi (proantosianidin)