

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

1. Determinasi Tumbuhan Putri Malu (*Mimosa pudica* Linn)

Identifikasi tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil dari identifikasi yang didapat menunjukkan bahwa sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang termasuk ke dalam suku *Mimosaceae* (Lampiran 1).

2. Ekstrak Etanolik Putri Malu (*Mimosa pudica* Linn)

Tumbuhan putri malu yang terdiri dari bagian akar, batang, daun, biji serta bunga terlebih dahulu dicuci hingga bersih menggunakan air yang mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat. Tumbuhan putri malu yang telah dibersihkan, selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 4 hari berturut-turut. Tumbuhan putri malu yang telah dikeringkan kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus untuk meningkatkan luas permukaan bahan simplisia. Hasil dari proses ini diperoleh serbuk kering sebanyak 1.037,80 gram. Proses ekstraksi untuk penarikan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7 b/v selama 48 jam. Proses ekstraksi yang telah dilakukan menghasilkan ekstrak kental etanolik sebanyak 99,95 gram berwarna hitam.



Gambar 1. Ekstrak kental putri malu (*Mimosa pudica* Linn)

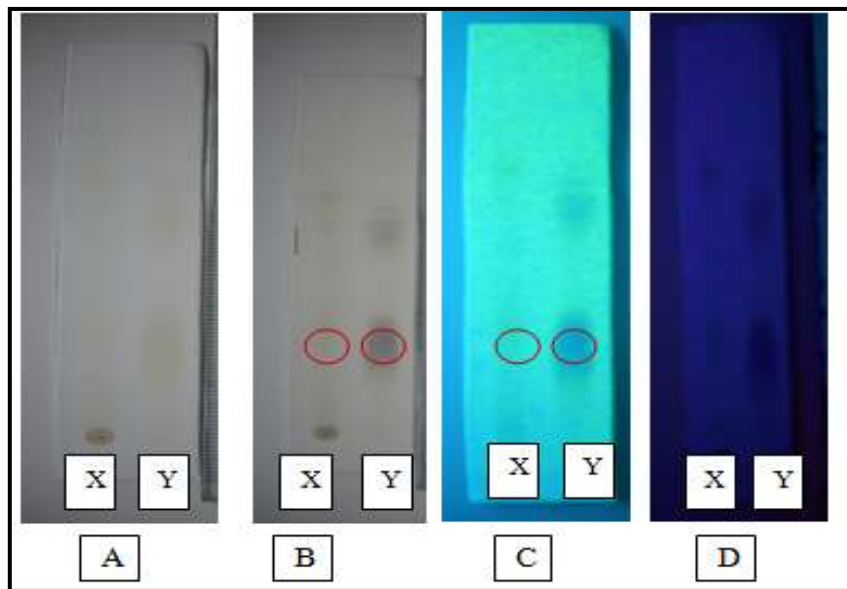
3. Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Putri Malu (*Mimosa pudica* Linn)

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa tanin dan saponin secara kualitatif. Fase diam yang digunakan untuk identifikasi senyawa tanin dan saponin yakni menggunakan silika gel GF₂₅₄ dengan panjang lempeng 2 x 10 cm. Sedangkan fase gerak yang digunakan untuk uji senyawa tanin dan saponin menggunakan pelarut campuran yang berbeda-beda yang telah disesuaikan. Untuk keperluan penotolan pada lempeng silika, ekstrak etanolik putri malu dilarutkan terlebih dahulu menggunakan etanol 70% agar tidak terlalu kental. Larutan sampel selanjutnya ditotolkan pada fase diam dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng silika gel.

Uji analisis senyawa tanin menggunakan fase gerak yang digunakan adalah campuran antara pelarut n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dengan total larutan sebanyak 5 ml. Pereaksi penampak bercak warna yang digunakan yakni larutan FeCl₃. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Damayanti (2001) tanin akan memberikan bercak warna biru atau ungu kehitaman jika disemprotkan dengan

pereaksi FeCl_3 . Perbandingan yang digunakan pada uji analisis senyawa tanin ini adalah asam galat 10 mg dalam 1 ml etanol. Uji identifikasi ini menghasilkan bercak warna biru kehitaman di bawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 dan nilai Rf yang dihasilkan 0,31 (Tabel 3).

Hasil ini sesuai dengan perbandingan yang menghasilkan bercak warna biru kehitaman dengan nilai Rf 0,32. Dari identifikasi ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik putri malu mengandung senyawa golongan tanin (Gambar 7).



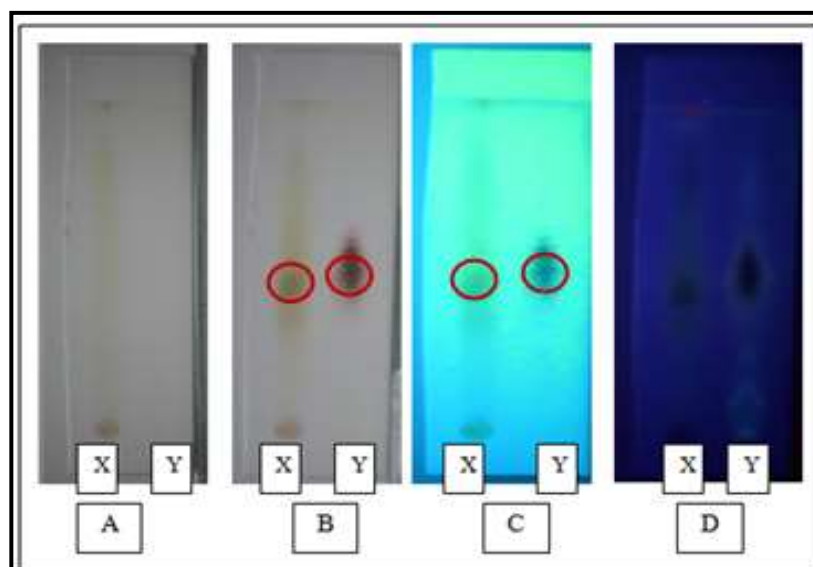
Gambar 2. Hasil uji KLT senyawa tanin

Keterangan: (A) tanin tanpa pereaksi FeCl_3 di sinar tampak, (B) tanin dengan pereaksi FeCl_3 di sinar tampak, (C) tanin dengan pereaksi FeCl_3 di sinar UV 254, (D) tanin dengan pereaksi FeCl_3 di sinar UV 366, (X) perbandingan, (Y) sampel.

Identifikasi selanjutnya yang dilakukan pada uji analisis KLT ini, yakni mengidentifikasi kandungan senyawa saponin di dalam ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Fase gerak yang digunakan yakni campuran antara pelarut kloroform : metanol (95:5) dengan total pelarut sebanyak 5 ml. Pereaksi penampak bercak warna yang digunakan adalah larutan *Liebermann-Burchard*.

Pereaksi *Liebermann-Burchard* menurut teori akan memberikan bercak warna coklat sampai violet menandakan adanya saponin triterpenoid sedangkan jika menghasilkan warna biru atau biru kehijauan menunjukkan adanya saponin steroid (Jaya, 2010). Perbandingan yang digunakan pada uji analisis senyawa saponin ini adalah senyawa saponin 10 mg dalam 1 ml etanol.

Uji identifikasi senyawa saponin menghasilkan bercak warna coklat di bawah sinar tampak setelah disemprot dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* dan nilai Rf yang dihasilkan adalah 0,45 (Tabel 3). Hasil ini sesuai dengan senyawa perbandingan yang menghasilkan bercak warna coklat dengan nilai Rf 0,43. Dari hasil identifikasi ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik putri malu mengandung senyawa golongan saponin. Hasil uji ini dapat dilihat pada Gambar 8.



Gambar 3. Hasil uji KLT senyawa saponin

Keterangan: (A) saponin tanpa pereaksi *Liebermann-Burchard*, (B) saponin dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*, (C) saponin dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* di sinar UV 254, (D) saponin dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* di sinar UV 366, (X) perbandingan, (Y) sampel.

Tabel 1. Hasil uji KLT ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn)

Senyawa kimia	Pereaksi	Deteksi		Warna hasil deteksi	<i>Retradation factor</i>	KET
Tanin	FeCl ₃	Sinar tampak	Sebelum disemprot	-	0,31	+
			Setelah disemprot	Biru kehitaman		
		Sinar UV 254 nm	Sebelum disemprot	Biru		
			Setelah disemprot	Biru		
		Sinar UV 366 nm	Sebelum disemprot	Biru		
			Setelah disemprot	Biru		
Saponin	<i>Liebermann-Burchard</i>	Sinar tampak	Sebelum disemprot	-	0,45	+
			Setelah disemprot	Cokelat		
		Sinar UV 254 nm	Sebelum disemprot	-		
			Setelah disemprot	Cokelat		
		Sinar UV 366 nm	Sebelum disemprot	-		
			Setelah disemprot	Cokelat		

4. Uji Pendahuluan Aktivitas Antijamur Metode Dilusi Cair

Ekstrak kental etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang telah didapatkan dari proses ekstraksi maserasi, kemudian dilakukan uji pendahuluan aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair untuk mengetahui apakah ekstrak etanolik tersebut memiliki aktivitas antijamur atau tidak. Pengujian aktivitas antijamur pada penelitian ini menggunakan jamur *Candida albicans* yang disuspensikan pada media cair BHI. Ekstrak kental etanolik yang telah diperoleh selanjutnya dibuat kadar konsentrasinya dengan berbagai variasi yakni 70%, 80%, 90% dan 95% v/v sebagai rentang konsentrasi yang dianggap dapat mewakili. Masing-masing dari variasi konsentrasi ekstrak etanolik tersebut dilakukan replikasi pengujian antijamur sebanyak 3 kali.

Data yang dapat diperoleh dari uji antijamur dengan metode dilusi cair ini adalah nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan cara melihat kekeruhan pada semua kadar konsentrasi ekstrak di dalam tabung reaksi. Penentuan nilai KHM didasarkan pada kadar konsentrasi terendah dari ekstrak yang masih mampu untuk menghambat pertumbuhan jamur yang ditandai dengan kejernihan pada tabung reaksi.

Apabila nilai KHM yang telah diperoleh digoreskan pada media pertumbuhan agar, dan jamur masih bisa tumbuh berarti aktivitas dari ekstrak putri malu pada kadar tersebut dapat menghambat yang berarti didapat KHM. Tetapi jika tidak terdapat lagi pertumbuhan jamur pada media agar tersebut berarti aktivitas ekstrak putri malu dapat membunuh jamur dan diperoleh nilai KBM. Hasil uji aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair dapat dilihat pada Tabel 4

dan Gambar 9. Hasil pengamatan ini belum dapat dipastikan apakah kekeruhan yang terjadi pada tabung reaksi disebabkan oleh pertumbuhan jamur atau disebabkan oleh ekstrak kental tumbuhan putri malu itu sendiri. Hal ini dikarenakan ekstrak akhir dari tumbuhan putri malu sudah berwarna coklat-hitam pada tabung reaksi sebelum ditumbuhi jamur.

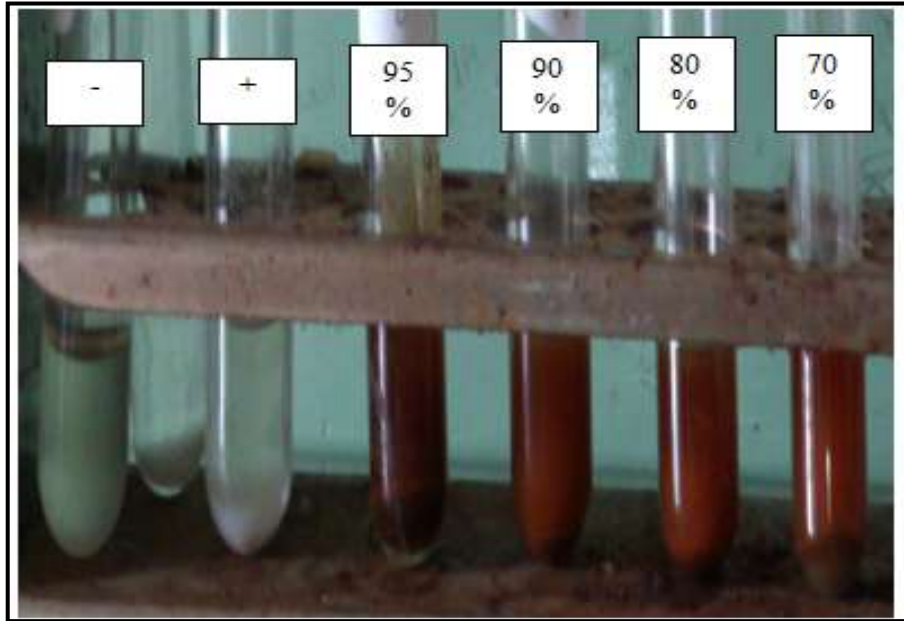
Tabel 2. Hasil uji aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair

Sediaan uji	Pertumbuhan <i>C. albicans</i>		
	P1	P2	P3
Ekstrak 70% v/v	+	+	+
Ekstrak 80% v/v	+	+	+
Ekstrak 90% v/v	+	+	+
Ekstrak 95% v/v	+	+	+
Kontrol negatif	+	+	+
Kontrol positif	-	-	-

Keterangan : + : terjadi kekeruhan di dalam tabung reaksi
 - : tidak terjadi kekeruhan di dalam tabung reaksi
 Kontrol positif : ketokonazol 14 mg/ml + suspensi jamur
 Kontrol negatif : 1 ml suspensi jamur + media BHI
 P1 : perlakuan pertama
 P2 : perlakuan kedua
 P3 : perlakuan ketiga

Hasil uji antijamur dengan metode dilusi cair dapat dilihat pada Gambar 9. Gambar ini diambil setelah sampel yang diuji selesai diinkubasi selama 48 jam. Berdasarkan gambar tersebut dapat dilihat hasil akhir dari uji dilusi cair ini tidak terlihat jernih atau terjadi kekeruhan pada semua larutan uji dengan berbagai kadar konsentrasi ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Namun pada kontrol

positif tidak terjadi kekeruhan, hal ini menandakan kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Tabung reaksi yang berisi kontrol negatif terjadi kekeruhan yang menandakan adanya pertumbuhan *Candida albicans*.



Gambar 4. Hasil uji antijamur dengan metode dilusi cair

Keterangan: (-) suspensi jamur + BHI
(+) suspensi jamur + ketokonazol 14 mg/ml

Untuk memastikan hasil dari uji aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair, maka dilakukan uji penegasan dengan cara menggoreskan dari setiap tabung reaksi ke media agar. Jika masih terdapat pertumbuhan jamur pada media berarti ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dan sebaliknya jika tidak terdapat pertumbuhan jamur pada media, berarti ekstrak etanolik putri malu memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Pengamatan hasil penggoresan pada media tumbuh dapat dilihat pada Tabel 5 dan Gambar 10. Berdasarkan Tabel 5 dapat dilihat bahwa pada tiap

penggoresan kadar ekstrak masih terdapat pertumbuhan jamur. Hal ini menandakan ekstrak kental putri malu (*Mimosa pudica* Linn) tidak memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*.

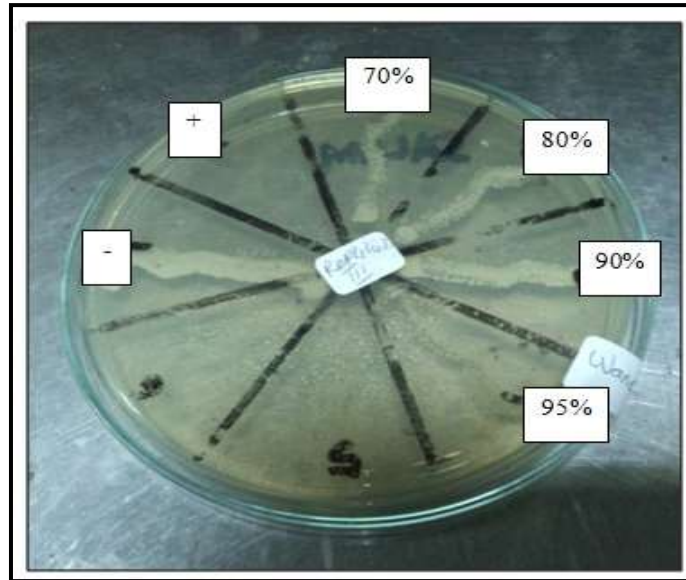
Tabel 3. Hasil penggoresan dari dilusi cair ke media pertumbuhan agar

Sediaan uji	Pertumbuhan <i>C. albicans</i>		
	P1	P2	P3
Ekstrak 70% v/v	+	+	+
Ekstrak 80% v/v	+	+	+
Ekstrak 90% v/v	+	+	+
Ekstrak 95% v/v	+	+	+
Kontrol negatif	+	+	+
Kontrol positif	-	-	-

Keterangan : + : terdapat pertumbuhan jamur
 - : tidak terdapat pertumbuhan jamur
 Kontrol positif : ketokonazol 14 mg/ml + suspensi jamur
 Kontrol negatif : 1 ml suspensi jamur + media BHI
 P1 : perlakuan pertama
 P2 : perlakuan kedua
 P3 : perlakuan ketiga

Hasil uji penegasan antijamur dengan metode dilusi cair pada penelitian ini dapat dilihat pada Gambar 10. Gambar ini diambil sesaat setelah media agar selesai diinokubasi selama 48 jam. Pada gambar ini dapat dilihat bahwa hasil akhir dari penggoresan semua kadar uji ekstrak putri malu masih terdapat pertumbuhan *Candida albicans* sehingga dapat dikatakan ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap jamur uji. Pada penggoresan kontrol positif tidak terjadi pertumbuhan *Candida albicans* ini menandakan tidak

terjadinya kontaminasi pada sediaan uji. Namun pada penggoresan kontrol negatif masih terdapat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.



Gambar 5. Hasil penggoresan uji antijamur

Keterangan: (-) suspensi jamur + BHI
(+) suspensi jamur + ketokonazol 14 mg/ml

5. Uji Aktivitas Antijamur Metode Difusi Agar

Uji aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu selanjutnya diuji dengan metode difusi agar yang telah diinokulasi dengan jamur *Candida albicans*. Uji metode difusi agar ini dilakukan dengan tujuan sebagai penegasan hasil data yang telah diperoleh dari uji pendahuluan sebelumnya dengan metode dilusi cair. Pengujian metode difusi agar, menggunakan kadar konsentrasi ekstrak etanolik 70%, 80%, 90% dan 95% v/v. Masing-masing dari setiap konsentrasi tersebut dilakukan replikasi pengujian sebanyak 3 kali. Data yang dapat diperoleh dari pengujian ini adalah nilai DDH (Diameter Daerah Hambat) yang menggambarkan kemampuan sampel yang diuji untuk menghambat pertumbuhan dari jamur

Candida albicans di sekitar kertas cakram. Hasil pengujian ini disajikan dalam Tabel 6 dan Gambar 11.

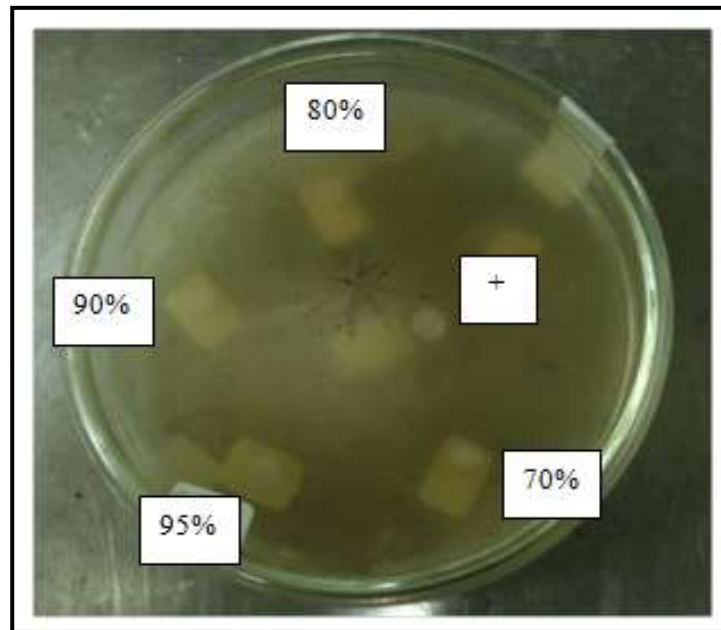
Tabel 4. Hasil pengukuran DDH antijamur metode difusi agar

Sediaan uji	Diameter hambatan (mm) <i>C. albicans</i>		
	P1	P2	P3
Ekstrak 70% v/v	0	0	0
Ekstrak 80% v/v	0	0	0
Ekstrak 90% v/v	0	0	0
Ekstrak 95% v/v	0	0	0
Kontrol positif	11	12	11

Keterangan: 0 mm = tidak terdapat diameter daerah hambat

Hasil uji antijamur difusi agar dapat dilihat pada Gambar 11. Pengambilan gambar ini dilakukan setelah sampel uji selesai diinkubasi. Berdasarkan gambar ini dapat dilihat daerah di sekitar kertas cakram tidak terdapat zona bening dikarenakan masih terdapatnya pertumbuhan jamur *Candida albicans* di sekitar kertas cakram.

Pada daerah kontrol positif yang berisi ketokonazol tidak terdapat pertumbuhan jamur, hal ini dapat dilihat dengan terbentuknya zona bening dengan diameter 11 mm di sekitar kertas cakram. Terbentuknya zona bening pada kontrol positif menunjukkan bahwa ketokonazol yang digunakan dalam penelitian ini dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.



Gambar 6. Uji antijamur dengan metode difusi agar

Keterangan: (+) suspensi jamur + ketokonazol 14 mg/ml

Berdasarkan Tabel 6 dan Gambar 11 di atas dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik tumbuhan putri malu pada konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 95% v/v tidak menunjukkan adanya aktivitas antijamur karena masih terdapat pertumbuhan jamur *Candida albicans* di sekitar daerah kertas cakram.

B. Pembahasan

Indonesia memiliki banyak tumbuh-tumbuhan yang sudah terbukti dapat digunakan sebagai agen antimikroba untuk pengobatan tradisional. Salah satu tumbuhan yang dapat digunakan sebagai agen antijamur yakni putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang termasuk ke dalam suku *Mimosaceae*. Tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) sangat banyak dan mudah untuk ditemui di Indonesia. Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap putri malu, diantaranya

adalah penelitian yang dilakukan oleh Tamilarasi dan Ananthi (2012) menggunakan pendekatan uji antimikroba. Berdasarkan penelitian tersebut, putri malu terbukti memiliki aktivitas yang dapat menghambat pertumbuhan beberapa mikroba penyebab infeksi.

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas daya hambat putri malu 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 keaslian dari putri malu yang digunakan. Sehingga nantinya hasil akhir dari penelitian ini tidak akan menimbulkan kekeliruan. Berdasarkan hasil uji determinasi tanaman yang telah dilakukan di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, dapat diperoleh informasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn).

Setelah uji determinasi selesai dilakukan, selanjutnya dilakukan proses pembuatan serbuk tumbuhan putri malu untuk keperluan ekstraksi. Pembuatan serbuk ini dilakukan dengan cara tumbuhan putri malu yang telah diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dengan cara dicuci. Pencucian bertujuan untuk membersihkan tanaman dari debu serta menghilangkan bahan pengganggu seperti tanah yang ikut menempel pada tanaman agar tidak mempengaruhi kualitas sampel (Dirjen POM, 2000). Selanjutnya, tumbuhan putri malu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 4 hari. Pengeringan pada suhu 60°C dilakukan untuk menghindari kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam

putri malu (*Mimosa pudica* Linn) (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 tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang dikeringkan tersebut, sudah berubah warna menjadi cokelat pada bagian daunnya serta bagian batang yang sudah mudah untuk dipatahkan. Setelah selesai melalui proses pengeringan, dilakukan proses pembuatan serbuk dengan cara diblender hingga halus. Hal ini berfungsi untuk memperluas kontak permukaan antara bahan pelarut dan sampel sehingga memaksimalkan kelarutan senyawa yang akan diisolasi ketika proses ekstraksi (Baraja, 2008).

Ekstraksi putri malu dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan pelarut etanol 70% selama 2 x 24 jam. Etanol digunakan sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut universal yang bersifat semipolar, sehingga dapat digunakan untuk menarik keluar senyawa yang memiliki tingkat kepolaran dari rendah hingga tinggi di dalam sel (Wulandari, 2011). Selain itu, etanol juga merupakan cairan penyari yang bersifat netral, di mana kapang dan kuman sulit untuk tumbuh dalam etanol pada konsentrasi 20% ke atas, 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 1.037,80 gram serbuk putri malu yang direndam dalam 7 liter pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7 b/v. Menurut Voigh (1995) menyatakan bahwa semakin besar perbandingan antara serbuk simplisia dengan cairan pengestraksi, 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 di luar sel (Voigh, 1995). Ekstrak direndam selama 2 hari kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator*. 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 putri malu (Gambar 6).

Analisis kualitatif dilakukan terhadap hasil ekstraksi yang telah diperoleh menggunakan metode pengujian Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa tanin dan saponin dalam ekstrak putri malu. Tanin dan saponin perlu diketahui keberadaannya, karena kedua senyawa tersebut diduga memiliki aktivitas sebagai agen antijamur. Pengujian KLT tanin dan saponin dilakukan menggunakan pembanding senyawa asam galat 10 mg dalam 1 ml etanol untuk uji senyawa tanin dan saponin 10 mg dalam 1 ml etanol

untuk uji senyawa saponin. Tujuan penggunaan pembanding adalah untuk menegaskan adanya senyawa tanin dan saponin di dalam sampel uji berdasarkan nilai Rf yang sama antara sampel dengan pembanding yang telah diketahui. Hasil yang didapat dari uji KLT adalah nilai *retardation factor* (Rf). Rf merupakan hasil dari jarak migrasi analit atau sampel uji dari titik awal penotolan dibagi dengan jarak migrasi fase gerak setelah pengembangan atau elusi (Rohman, 2007).

Analisis senyawa tanin pada penelitian ini dilakukan dengan cara ekstrak kental putri malu dilarutkan dalam etanol kemudian ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄. Lempeng silika gel GF₂₅₄ menandakan bahwa lempeng mengandung silika yang terdiri dari pengikat *gypsum* dan indikator fluoresensi yang akan berfluoresensi pada sinar UV dengan panjang gelombang (λ) 254 nm. Fase gerak yang digunakan pada uji analisis tanin ini adalah pelarut n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dengan volume total 5 ml. Penggunaan fase gerak ini didasarkan pada sifat senyawa tanin yang mudah larut dalam senyawa polar dan penggunaan fase diam silika gel yang bersifat polar. Senyawa polar akan lebih mudah terelusi oleh fase gerak yang bersifat polar dari pada fase gerak yang non polar. Sebaliknya, senyawa non polar lebih mudah terelusi oleh fase gerak non polar dari pada fase gerak yang polar (Rohman, 2007).

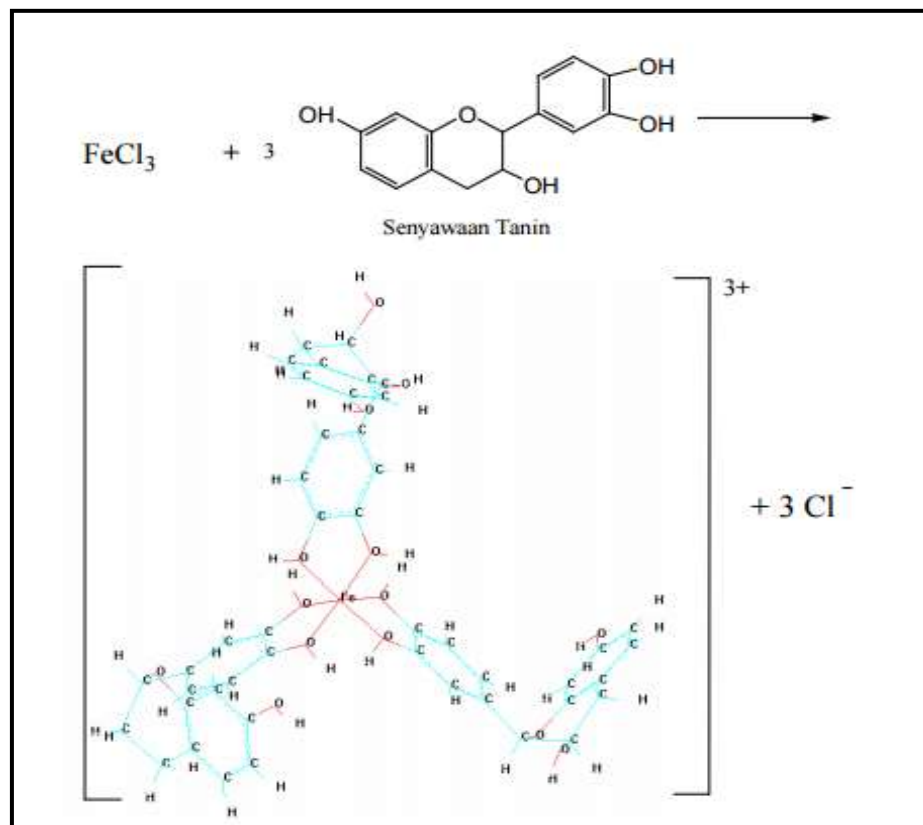
Proses elusidasi dilakukan menggunakan bejana yang telah jenuh dengan fase gerak. Bejana dibuat dalam keadaan terjenuhi dengan cara menutup rapat bejana. Indikator kejenuhan dapat diketahui dengan menempelkan kertas saring yang ujung bawahnya tercelup atau mengenai fase gerak yang ada di dalam bejana sehingga fase gerak akan merambat ke atas membasahi kertas saring. Keadaan

jenuh dapat diketahui apabila fase gerak telah sampai pada mulut bejana. Tujuan penjenjuran bejana adalah untuk membuat rata arah rambat fase gerak sehingga mempermudah perhitungan R_f KLT. Totolan sampel yang terdapat pada silika gel akan merambat naik melalui serta-serat kertas oleh gaya kapiler pada lempeng silika gel yang terelusi oleh fase gerak. Batas rambatan fase gerak pada penelitian ini adalah 8 cm.

Lempeng silika dikeluarkan dari bejana setelah rambatan fase gerak telah mencapai batas yang ditentukan. Bercak warna yang dihasilkan digunakan untuk menghitung nilai R_f sebagai parameter keberadaan suatu senyawa. Namun pada lempeng silika tidak terlihat bercak warna di bawah sinar tampak sehingga perlu dilakukan reaksi penyemprotan untuk memperjelas penampakan bercak. Proses penyemprotan pada uji analisis senyawa tanin ini dilakukan dengan menggunakan reagen $FeCl_3$. Sampel dikatakan positif mengandung senyawa tanin apabila terbentuk warna hijau kehitaman atau biru setelah penyemprotan. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru pada sampel setelah ditambahkan reagen $FeCl_3$ karena gugus fenol pada tanin yang akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Harborne, 1996). Reaksi pembentukan warna ini dapat dilihat pada Gambar 12.

Setelah penyemprotan sampel uji pada lempeng silika, kemudian lempeng tersebut dipanaskan menggunakan kompor elektrik untuk mempercepat reaksi pembentukan warna pada sampel. Bercak pada lempeng silika gel dapat dilihat secara visualisasi setelah proses penyemprotan (Gambar 7). Nilai R_f yang diperoleh dari uji senyawa tanin ini adalah 0,31 sedangkan nilai R_f dari senyawa

pembanding adalah 0,32. Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan di dalam sampel uji yakni ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) terdapat golongan senyawa tanin.



Gambar 7. Reaksi pembentukan warna antara tanin dengan FeCl_3

Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap uji analisis KLT senyawa saponin di dalam ekstrak etanolik putri malu. Hal yang membedakan antara uji analisis senyawa tanin dan saponin pada penelitian ini adalah dalam penggunaan fase gerak dan reagen penyempurnanya. Untuk senyawa pembanding digunakan larutan saponin 10 mg dalam 1 ml etanol. Fase gerak yang digunakan pada uji analisis senyawa saponin ini adalah kloroform : metanol (95:5). Fase gerak yang digunakan mengikuti sifat kelarutan dari senyawa uji saponin yakni larut dalam senyawa polar.

Senyawa sampel dan pembanding ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄ yang kemudian dikembangkan dalam bejana yang berisi fase gerak. Hasil akhir pengembangan tidak tampak bercak warna di bawah sinar tampak sehingga dilakukan reaksi penyemprotan dengan *Liebermann-Burchard*. Senyawa saponin triterpen akan menghasilkan warna coklat atau violet sedangkan senyawa saponin steroid akan menghasilkan warna hijau atau biru (Jaya, 2010).

Pada penelitian ini diperoleh warna coklat setelah penyemprotan pada sinar tampak (Gambar 8). Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan pada sampel uji positif mengandung senyawa saponin triterpen. Setelah bercak warna terlihat jelas, kemudian dilakukan perhitungan nilai Rf dengan menggunakan alat bantu ukur. Nilai Rf yang diperoleh dari uji senyawa saponin ini adalah 0,45 sedangkan nilai Rf dari senyawa pembanding adalah 0,43. Kedua senyawa ini memiliki nilai Rf yang hampir sama sehingga dapat dikatakan di dalam sampel uji yang digunakan terdapat senyawa saponin triterpen.

Pratiwi (2008) berpendapat bahwa mekanisme aktivitas tanin sebagai antijamur yakni tanin bersifat astringen atau zat yang dapat mengkerutkan dinding sel atau membran jamur sehingga mengganggu permeabilitas sel, akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup yang mengakibatkan pertumbuhannya terhambat atau mati. Sedangkan senyawa saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, hal tersebut mengakibatkan proses difusi bahan atau zat-zat yang diperlukan oleh jamur dapat terganggu, akhirnya sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2001).

Uji aktivitas antijamur ekstrak putri malu dilakukan terhadap *Candida albicans* dengan metode dilusi cair. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazol 14 mg dalam 1 ml aquadest. Ketokonazol dipilih sebagai kontrol positif karena mudah untuk diperoleh dan juga efektif untuk menghambat pertumbuhan dari *Candida albicans* (Kayser dkk, 2005). Keefektifan ketokonazol terbukti dengan tidak terdapatnya pertumbuhan *Candida albicans* pada uji dilusi cair dan difusi agar pada penelitian ini. Mekanisme ketokonazol dalam mempengaruhi keberlangsungan hidup dari jamur patogen adalah dengan cara menghambat atau menginhibisi enzim sitokrom *Porphyrin 450* (P-450) lanosterol 14- α -demethylase. Enzim ini mengubah lanosterol jadi ergosterol yang dibutuhkan dalam sistem membran sel jamur. Sehingga dengan terhambatnya pembentukan ergosterol pada jamur akan mengakibatkan rusaknya membran sel jamur tersebut (Rex dan Arian, 2003).

Uji aktivitas antijamur dilakukan pada konsentrasi ekstrak putri malu 70%, 80%, 90%, 95% v/v. Hasil yang didapat dari pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu dengan metode dilusi cair dengan kadar konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% v/v menunjukkan bahwa ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*. Hal ini dapat dibuktikan dengan masih adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada bekas goresan di media tumbuh SDA (Gambar 10).

Uji selanjutnya yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji aktivitas antijamur dengan metode difusi agar. Uji aktivitas antijamur metode difusi agar sebenarnya tidak perlu dilakukan karena pada uji dilusi cair sebelumnya ekstrak

putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang digunakan tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Namun, uji ini dilakukan sebagai uji penegasan untuk membuktikan apakah hasil yang diperoleh antara uji dilusi cair dan difusi agar dari ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Hasil uji difusi agar ini dapat dilihat pada Gambar 11. Berdasarkan gambar tersebut dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) dengan konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 95% v/v tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* karena tidak terdapatnya zona bening di sekitar kertas cakram pada media agar. Daerah di sekitar kertas cakram yang berisi ketokonazol sebagai kontrol positif terdapat zona bening yang menandakan adanya aktivitas antijamur di sekitar daerah tersebut. Hasil akhir dari uji aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu menunjukkan hasil yang sama antara uji dengan metode dilusi cair dan difusi agar yakni tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*.

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan di Filipina yakni oleh Racadio dkk (2008) berpendapat bahwa ekstrak etanolik daun putri malu (*Mimosa pudica* Linn) memiliki aktivitas antibakteri yang kuat terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis*. Namun ekstrak ini memiliki aktivitas penghambatan yang negatif terhadap *Candida albicans*. Hasil yang sama juga didapatkan pada penelitian yang dilakukan oleh Dissanayaka dkk (2010) di Sri Lanka yang mengatakan bahwa ekstrak air dari daun putri malu (*Mimosa pudica* Linn) tidak memiliki aktivitas antimikroba yang signifikan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*.

Tidak terdapatnya aktivitas hambatan pada uji antijamur dengan metode dilusi cair dan difusi agar, dikarenakan dinding sel jamur yang tebal. Dinding sel *Candida albicans* merupakan struktur berlapis yang terdiri dari mikrofibril yang mengandung khitin yang terdapat pada matriks yang terdiri dari polisakarida, protein, lipid, dan pigmen yang menutup skeletal. Mikrofibril pada dinding sel jamur terbentuk atas susunan dari rantai-rantai polisakarida yang saling bersilang membentuk anyaman. Jalinan ini kuat berikatan dengan matriks. Khitin sendiri memiliki bentuk yang padat dan bersifat tidak larut dalam air dan pelarut organik. Khitin juga memiliki sifat yang sukar untuk didegradasi karena dinding selnya dilapisi oleh protein dan lipid. Berdasarkan sifat dari khitin inilah yang dapat menyebabkan ketidak efektifan dari ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Struktur dinding sel jamur yang banyak mengandung khitin akan mengakibatkan dinding selnya sukar untuk ditembus oleh senyawa-senyawa polar dari ekstrak etanolik putri malu yang memiliki aktivitas antijamur (Firdianita, 2007).

Hal lain yang menyebabkan tidak terdapatnya zona hambatan pada uji aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) terhadap *Candida albicans* juga dikarenakan ketidak efektifan selama proses penarikan zat aktif di dalam sel tanaman. Pada penelitian ini, proses ekstraksi hanya dilakukan selama 48 jam menggunakan etanol 70% tanpa remaserasi. Proses remaserasi tidak dilakukan karena warna cairan penyari atau pelarut sudah berwarna cokelat kehitaman pada hari kedua. Warna cokelat kehitaman pada rendaman putri malu ini menandakan sudah terjadinya proses penarikan senyawa aktif pada ekstrak.

Warna coklat kehitaman yang pekat juga menandakan bahwa telah terjadinya kejenuhan atau keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel sehingga proses ekstraksi dapat dinyatakan cukup (Voigh, 1995).

Remaserasi yang tidak dilakukan mengakibatkan kurangnya kadar senyawa aktif seperti senyawa tanin dan saponin di dalam ekstrak kental yang telah diperoleh. Kurangnya kadar zat aktif ini dapat mengakibatkan tidak tercapainya potensi terapi yang maksimal di dalam ekstrak. Lamanya suatu proses ekstraksi minimal dilakukan selama 5 hari yang kemudian dilanjutkan dengan prosedur remaserasi selama 2 hari agar hasil lebih optimal (Depkes RI, 1986). Menurut Ditjen POM (2000) menyatakan proses ekstraksi suatu tanaman harus dilakukan secara berulang agar bisa mendapatkan kadar zat aktif yang maksimal sehingga bisa dicapai potensi terapi yang maksimal.