

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

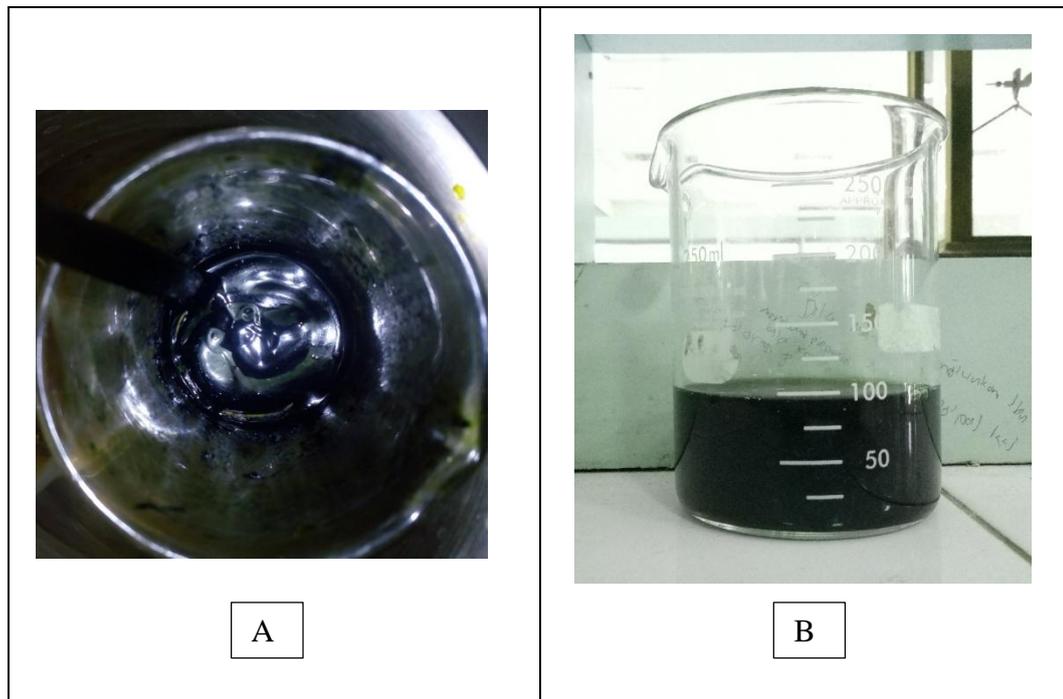
A. Hasil Penelitian

1. Determinasi Daun Sirsak (*Annona muricata*)

Identifikasi Daun Sirsak (*Annona muricata*) dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Determinasi yang dilakukan memberikan hasil bahwa sampel yang digunakan pada penelitian adalah daun sirsak yang termasuk ke dalam suku *Annonaceae* (Lampiran 1).

2. Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*)

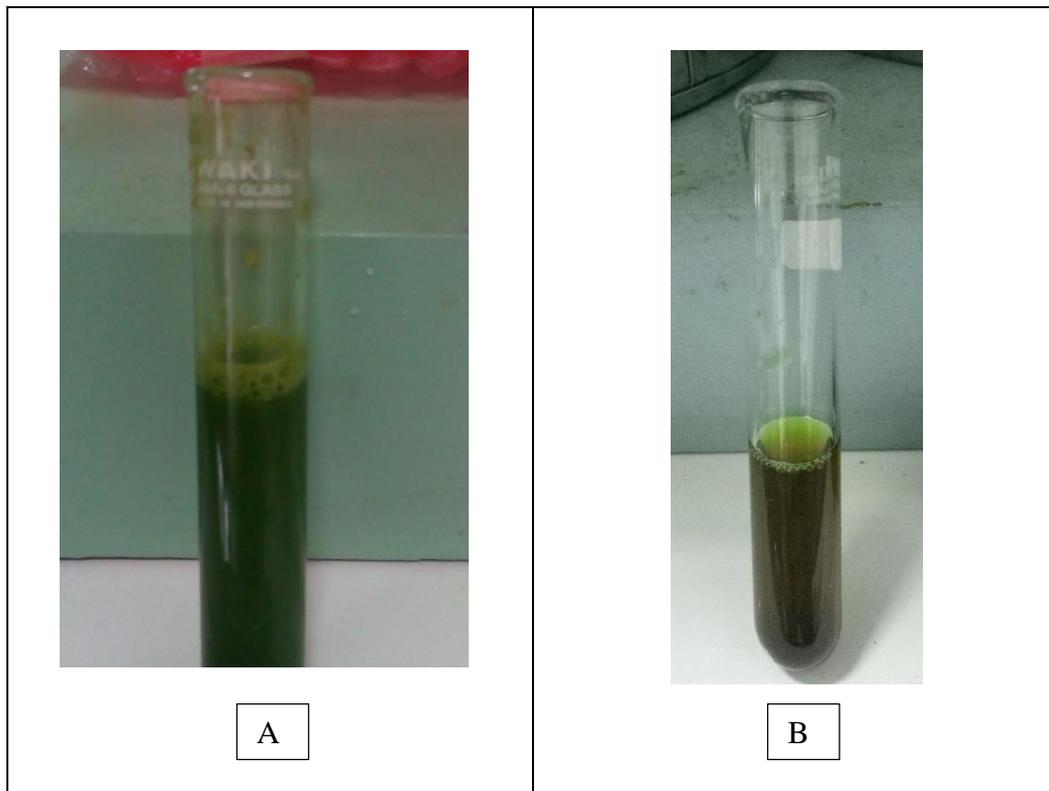
Daun Sirsak terlebih dahulu dicuci hingga bersih menggunakan air yang mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat. Daun sirsak yang telah dibersihkan, selanjutnya dikeringkan pada suhu kamar dengan cara diangin-anginkan. Daun sirsak yang telah dikeringkan kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus untuk meningkatkan luas permukaan bahan simplisia. Hasil dari proses ini diperoleh serbuk kering. Proses ekstraksi untuk penarikan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dan metode infundasi dengan pelarut air. Proses maserasi dengan pelarut metanol menghasilkan ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dan infundasi menghasilkan ekstrak berwarna hijau.



Gambar 1. Ekstrak metanol daun sirsak (A), ekstrak air daun sirsak (B)

3. Uji Golongan Saponin

Pada uji saponin yang telah dilakukan, ekstrak metanol terbentuk busa yang stabil selama 10 menit setelah dilakukan penggojogan. Hal ini menunjukkan bahwa sampel positif mengandung saponin. Sedangkan pada ekstrak air tidak terbentuk busa yang stabil selama 10 menit setelah penggojogan. Hal ini menunjukkan bahwa sampel tidak mengandung saponin. Hasil uji saponin dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 2. Hasil uji saponin ekstrak metanol (A), Hasil uji saponin ekstrak air (B)

4. Uji Aktivitas Antijamur Metode Difusi Agar

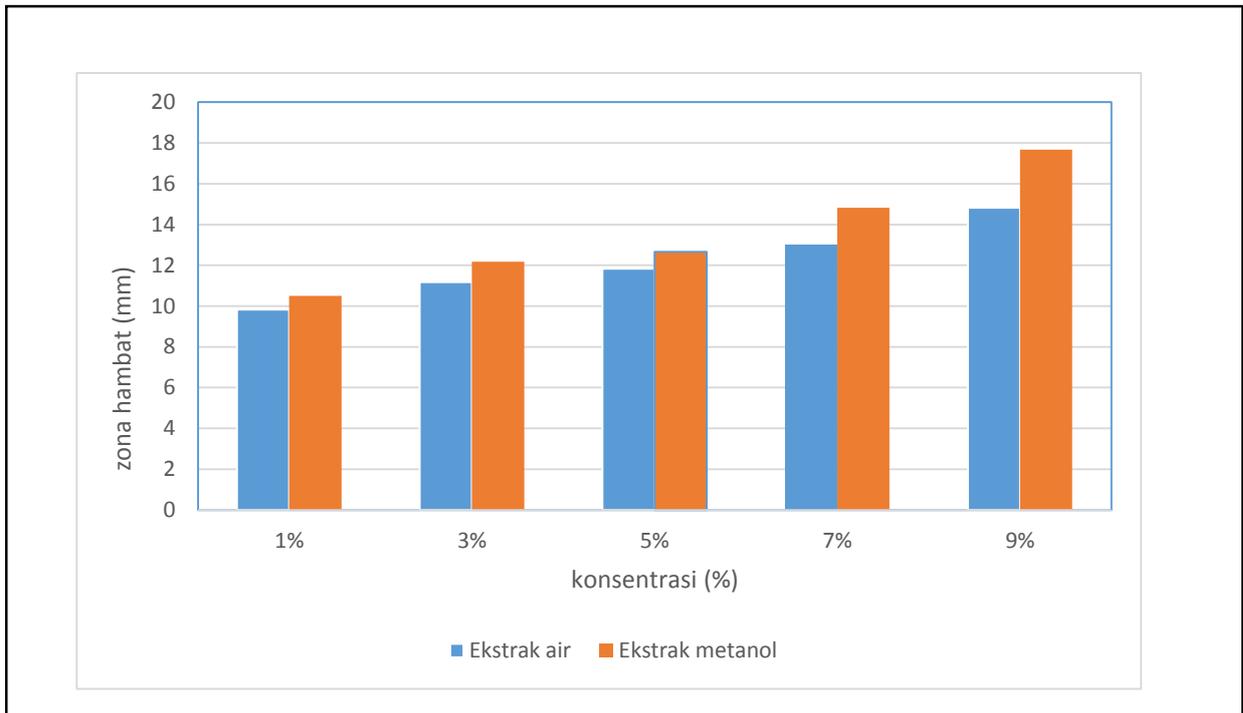
Uji aktivitas antijamur ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata*) diuji dengan metode difusi agar yang telah diinokulasi dengan jamur *Candida albicans*. Pengujian metode difusi agar, menggunakan kadar konsentrasi masing-masing ekstrak 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% b/v. Masing-masing dari setiap konsentrasi tersebut 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. Nilai diameter daerah hambat (DDH) dapat dilihat pada Tabel 2 & Tabel 3.

Tabel 1. Diameter zona hambat ekstrak air

REPLIKASI	DIAMETER ZONA HAMBAT					
	Kontrol positif ketokonazol (mm)	Ekstrak air daun sirsak (mm)				
		1%	3%	5%	7%	9%
1	4,5	10	11	12	13	15
2	4,5	10	11,5	12	13	14,5
3	4,7	9,5	11	11,5	13	15
RATA- RATA	4,57	9,83	11,17	11,83	13,00	14,83
SD	0	0	0	0	0	0

Tabel 2. Diameter zona hambat ekstrak metanol

REPLIKASI	DIAMETER ZONA HAMBAT					
	Kontrol positif ketokonazol (mm)	Ekstrak metanol daun sirsak (mm)				
		1%	3%	5%	7%	9%
1	4,5	10,5	12	12	15	18
2	4,5	10	12	13	14,5	18
3	4,7	11	12,5	13	15	17
RATA- RATA	4,57	10,50	12,17	12,67	14,83	17,67
SD	0	0,707	0	0,577	0	0,577



Gambar 3. Kurva perbandingan zona hambat ekstrak metanol dan ekstrak air

Dari hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak Metanol daun sirsak diperoleh hasil bahwa pertumbuhan jamur tidak terjadi dimulai pada konsentrasi paling rendah yaitu 1% dan pengujian Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak air daun sirsak diperoleh hasil bahwa pertumbuhan jamur tidak terjadi dimulai pada konsentrasi paling rendah 1% . Hal ini dapat dilihat dari zona hambat yang terbentuk pada *Sabouraud Dekstrose Agar* (SDA) dapat diamati secara visual (Gambar 5).



Gambar 4. Zona hambat ekstrak daun sirih terhadap *Candida albicans*

Dari tabel 2 & Tabel 3 menunjukkan bahwa perlakuan pada cawan petri baik ekstrak metanol maupun ekstrak air dengan konsentrasi 1% ; 3% ; 5% ; 7% ; 9% replikasi sebanyak 3 kali, semuanya terbentuk zona hambat. Pada kontrol positif juga terbentuk zona hambat pada media. Berdasarkan Tabel 2 & Tabel 3 di atas dapat diketahui bahwa ekstrak metanol daun sirih dan infusa daun sirih pada konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7% dan 9% b/v menunjukkan adanya aktivitas antijamur karena tidak terdapat pertumbuhan jamur *Candida albicans* di sekitar daerah kertas cakram.

5. Analisis Data

Nilai zona hambat dari kedua ekstrak selanjutnya dilakukan uji analisis menggunakan SPSS yang berguna untuk melihat perbedaan daya hambat dari tiap konsentrasi ekstrak. Terlebih dahulu dilakukan uji normalitas data, dilakukan

pengujian dengan uji *sapiro-wilk* dikarenakan data yang diperoleh sesuai dengan syarat uji *sapiro-wilk* yaitu data yang ingin diujikan kurang dari 50.

a) Ekstrak air daun sirsak

Dari hasil uji normalitas yang dapat dilihat pada Tabel 4 dibawah diketahui bahwa tidak ada data yang digunakan dalam penelitian ini mempunyai nilai signifikansi $> 0,05$ yaitu 0,00 sehingga data yang digunakan dalam penelitian ini tidak terdistribusi normal dan tidak memenuhi syarat uji parametik *one way* ANOVA, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik dengan menggunakan metode *Kruskall-Wallis*.

Tabel 3. Test Normalitas ekstrak air daun sirsak

Tests of Normality							
	persentas	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	e	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter	1%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	3%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	5%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	7%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	9%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
a. Lilliefors Significance Correction							

Tabel 4. Uji Kruskal-Wallis ekstrak air daun sirsak

Ranks			
	persentase	N	Mean Rank
Diameter	1%	3	2,00
	3%	3	5,17
	5%	3	7,83
	7%	3	11,00
	9%	3	14,00
	Total		15

Tabel 5. Test Statistics^{a,b} ekstrak air daun sirsak

Test Statistics ^{a,b}	
	diameter
Chi-Square	13,503
df	4
Asymp. Sig.	0,009
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: persentase	

Dari Tabel 5 menunjukkan informasi mengenai banyaknya data yang diolah untuk masing-masing variable yaitu 3 sampel tiap masing-masing konsentrasi. Dan pada Tabel 6 pada baris Asymp Sig terlihat bahwa nilai probabilitas 0.009 ($<0,05$). Maka itu menunjukkan bahwa diameter tiap-tiap konsentrasi mempunyai perbedaan bermakna.

b) Ekstrak metanol daun sirsak

Dari hasil uji normalitas yang dapat dilihat pada Tabel 7 dibawah diketahui bahwa hanya konsentrasi 1% yang menunjukkan nilai signifikansi $> 0,05$ yaitu 1,00 sedangkan pada konsentrasi lainnya mempunyai nilai signifikansi $< 0,05$ yaitu 0,00 sehingga data yang digunakan dalam penelitian ini tidak terdistribusi normal dan tidak memenuhi syarat uji parametik *one way* ANOVA, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik dengan menggunakan metode *Kruskall-Wallis*.

Tabel 6. Tes Normalitas ekstrak metanol daun sirsak

Tests of Normality							
	persentase	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
diameter	1%	0,175	3	.	1,000	3	1,000
	3%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	5%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	7%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
	9%	0,385	3	.	0,750	3	0,000
a. Lilliefors Significance Correction							

Tabel 7. Uji Kruskal-Wallis ekstrak metanol daun sirsak

Ranks			
	persentase	N	Mean Rank
diameter	1%	3	2,00
	3%	3	5,67
	5%	3	7,33
	7%	3	11,00
	9%	3	14,00
	Total	15	

Tabel 8. Test Statistics^{a,b} ekstrak metanol daun sirsak

Test Statistics^{a,b}	
	diameter
Chi-Square	13,198
df	4
Asymp. Sig.	0,010
a. Kruskal Wallis Test	
b. Grouping Variable: persentase	

Dari Tabel 8 menunjukkan informasi mengenai banyaknya data yang diolah untuk masing-masing variable yaitu 3 sampel tiap masing-masing konsentrasi. Dan pada Tabel 9 pada baris Asymp Sig terlihat bahwa nilai probabilitas 0,010 (<0,05). Maka itu menunjukkan bahwa diameter tiap-tiap konsentrasi mempunyai perbedaan bermakna.

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 daun sirsak (*Annona muricata*) yang termasuk ke dalam suku *Annoneae*. Daun sirsak (*Annona muricata*) sangat banyak dan mudah untuk ditemui di Indonesia. Beberapa penelitian telah dilakukan terhadap daun sirsak, diantaranya adalah penelitian yang dilakukan oleh Nurjanah (2014) menggunakan pendekatan uji antijamur. Berdasarkan penelitian tersebut, ekstrak daun sirsak memiliki aktivitas yang tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan beberapa jamur *Aspergillus niger*.

Pada penelitian yang dilakukan ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas daya hambat daun sirsak terhadap jamur *Candida albicans*. Pertama yang dilakukan dalam penelitian ini adalah uji determinasi tanaman, uji ini bertujuan untuk menetapkan kebenaran sampel uji yang telah didapat untuk keperluan penelitian dan memberikan kepastian keaslian dari daun sirsak yang digunakan, sehingga tidak terjadi kesalahan dalam jenis sampel penelitian. 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 daun sirsak (*Annona muricata*).

Selanjutnya dilakukan proses pembuatan serbuk daun sirsak (*Annona muricata*) untuk keperluan ekstraksi. Pembuatan serbuk ini dilakukan dengan cara daun sirsak (*Annona muricata*) 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 (Ditjen POM, 2000). Selanjutnya, daun sirsak (*Annona muricata*) dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Tujuan dari proses pengeringan ini dimaksudkan untuk menghilangkan kadar air pada sampel daun 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 daun sirsak (*Annona muricata*) 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).

Proses ekstraksi pada penelitian ini dilakukan 2 cara yaitu maserasi menggunakan metanol dan infundasi menggunakan air. Air digunakan sebagai pelarut karena air merupakan pelarut anorganik, sehingga dapat digunakan untuk menarik keluar senyawa-senyawa anorganik dari dalam daun sirsak. Sedangkan metanol digunakan sebagai pelarut karena metanol merupakan pelarut organik, sehingga dapat digunakan untuk menarik keluar senyawa-senyawa organik dari dalam daun sirsak. Untuk membuat ekstrak air dibuat dengan cara infundasi yakni serbuk daun sirsak ditimbang sebanyak 9 g, serbuk daun sirsak dimasukkan kedalam panci infus kemudian dibasahi dengan air sebanyak dua kali bobot sampel.

Lalu didiamkan selama 15 menit kemudian ditambah dengan air 100 ml. Panci infus dipanaskan selama 15 menit terhitung suhu sejak mencapai 90°C sambil sekali-kali diaduk. Infus diserukai selagi panas melalui kertas saring dan bila infus yang diperoleh kurang dari 100 ml maka ditambahkan air panas secukupnya melalui ampasnya hingga diperoleh 100 ml sehingga didapatkan infusa dengan konsentrasi 9%. Prosedur yang sama dilakukan untuk infusa 1%, 3%, 5%, dan 7% dengan menimbang serbuk daun sirsak 1 g, 3 g, 5 g, dan 7 g. (Rumakey, 2014).

Sedangkan untuk membuat ekstrak metanol dibuat dengan cara menggunakan 50 gram serbuk daun sirsak yang direndam dalam 400 ml pelarut metanol dengan perbandingan 1 : 8 b/v. 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 di luar sel (Voigh, 1995). Ekstrak direndam selama 3 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 daun sirsak.

Uji aktivitas antijamur ekstrak daun sirsak dilakukan terhadap *Candida albicans* dengan metode difusi agar. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazol. 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 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 Arikan, 2003).

Uji aktivitas antijamur dilakukan pada konsentrasi ekstrak daun sirsak 1%, 3%, 5%, 7%, 9% b/v. Hasil yang didapat dari pengujian aktivitas antijamur ekstrak methanol dan ekstrak air daun sirsak dengan metode difusi agar dengan kadar konsentrasi 1%, 3%, 5%, 7%, 9% b/v menunjukkan bahwa ekstrak metanol dan ekstrak air daun sirsak memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*. Hal ini dapat dibuktikan dengan tidak adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada daerah sekitar kertas cakram di media tumbuh SDA. Hasil pengukuran zona hambat menunjukkan bahwa zona hambat tertinggi pada ekstrak metanol terdapat pada konsentrasi 9%, dengan nilai rata-rata zona hambatnya sebesar 17,67 mm, dan pada ekstrak air terdapat pada konsentrasi 9%, dengan nilai rata-rata zona hambatnya sebesar 14,83 mm. Berdasarkan nilai zona hambat tersebut, dapat dikatakan bahwa ekstrak

metanol dan ekstrak air daun sirsak memiliki potensi kuat sebagai antijamur *Candida albicans*. Hal ini sesuai dengan ketentuan Davis dalam Rahayu dkk (2009), bahwa daerah hambat atau zona hambat 20 mm atau lebih memiliki potensi antijamur sangat kuat, 10 – 20 mm berpotensi kuat, 5 – 10 mm berpotensi sedang, dan kurang dari 5 mm berpotensi lemah. Dari hasil penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak daun sirsak dapat digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* karena diduga disebabkan oleh senyawa kimia yang terkandung di dalam daun sirsak tersebut.

Daya hambat ekstrak air dan metanol menunjukkan nilai yang berbeda. Hal ini terjadi karena adanya perbedaan metode ekstraksi, yakni infundasi dan maserasi, dan juga adanya perbedaan sifat pelarut air dan metanol yang menyebabkan perbedaan ketertarikan senyawa metabolit sekunder yang menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Pada hasil pengujian menunjukkan zona hambat ekstrak metanol menunjukkan hasil yang lebih baik daripada zona hambat ekstrak air, hal ini disebabkan karena ekstrak metanol menggunakan metode ekstraksi maserasi. Proses maserasi ini sangat menguntungkan karena dengan perendaman sampel tanaman akan mengakibatkan pemecahan dinding sel dan membran sel akibat perbedaan tekanan antara di dalam sel dan di luar sel sehingga metabolit sekunder yang ada dalam sitoplasma akan terlarut dalam pelarut organik dan ekstraksi senyawa akan sempurna karena dapat diatur lama perendaman yang dilakukan. Pemilihan pelarut dalam proses maserasi akan memberikan efektifitas yang tinggi dalam memperhatikan kelarutan senyawa bahan alam dalam pelarut tersebut. Secara umum, pelarut metanol merupakan pelarut yang paling banyak

digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam karena dapat melarutkan golongan metabolit sekunder (Darwis, 2000; Anonim, 1993)

Daun sirsak memiliki senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, flavonoid, tanin, saponin, dan steroid (Purwatresna, 2012). Flavonoid, tanin dan saponin merupakan senyawa yang mempunyai efek farmakologi sebagai antijamur. Dimana flavonoid dengan kemampuannya membentuk kompleks dengan protein dan merusak membran sel dengan cara mendenaturasi ikatan protein pada membran sel, sehingga membran sel menjadi lisis dan senyawa tersebut menembus ke dalam inti sel menyebabkan jamur tidak berkembang (Harmita, 2006; Sulistyawati dkk, 2009).

Dengan melihat hasil penelitian, dapat disimpulkan ekstrak metanolik daun sirsak dan infusa daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Dimana semakin besar konsentrasinya maka semakin besar daya hambat terhadap pertumbuhan jamur. Menurut Pelczar & Chan (1988) bahwa efektifitas suatu senyawa antimikroba oleh dipengaruhi beberapa faktor diantaranya adalah konsentrasi. Semakin tinggi konsentrasi semakin meningkat pula daya antimikroba, sebab dengan konsentrasi tinggi memungkinkan penyebaran zat-zat dalam menghambat dan membunuh mikroorganisme semakin efektif.