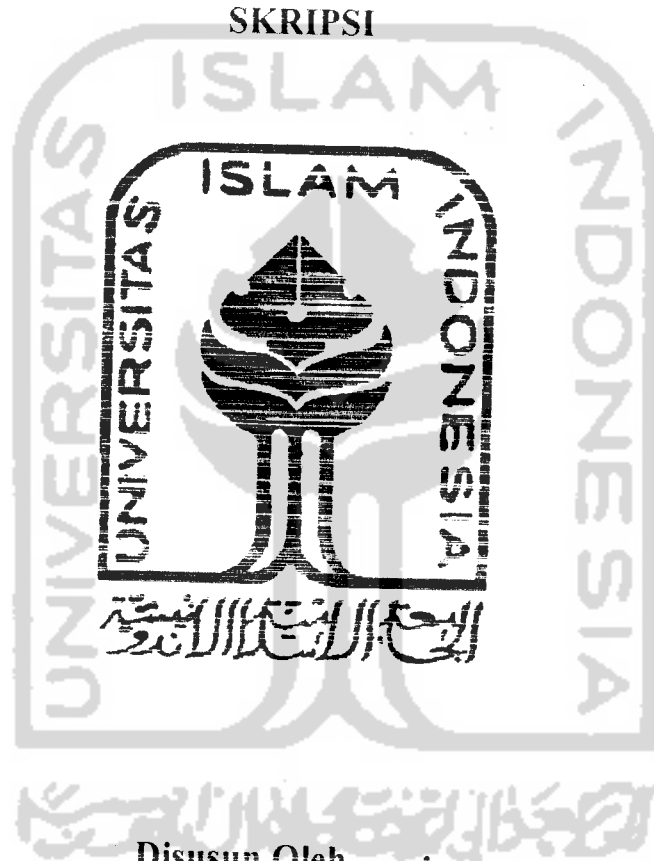


**UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN SEMBUNG
(*Blumea balsamifera* (L) DC) TERHADAP *Candida albicans* DAN
Tricophyton rubrum SECARA IN VITRO BESERTA
PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI



Disusun Oleh :

Nama : FETRI NURINDAH

No. Mhs : 99 613 110

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
2003**

**UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN SEMBUNG
(*Blumea balsamifera* (L) DC) Terhadap *Candida albicans*
DAN *Tricophyton rubrum* SECARA IN VITRO
BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS**

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana Sains (S.Si)
Program Studi Farmasi pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia



Disusun Oleh :

Nama : FETRI NURINDAH

No. Mhs : 99 613 110

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
JOGJAKARTA
2003**

LEMBAR PENGESAHAN DOSEN PEMBIMBING

Berjudul

UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN SEMBUNG [*Blumea*

***balsamifera* (L) DC | TERHADAP *Candida albicans* DAN**

***Tricophyton rubrum* SECARA IN VITRO BESERTA**

PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS



Oleh

FETRI NURINDAH

No. Mhs. 99613110

Telah disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Wahyu'.

Wahyu Joko Priambodo, S.Si.

tanggal 11 September 2003

Dosen Pembimbing II

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Endang Darmawan'.

Endang Darmawan, S.Si. , Apt

tanggal 12 September 2003

HALAMAN PENGESAHAN DOSEN PENGUJI

“UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK DAUN SEMBUNG
[*Blumea balsamifera* (L) DC] TERHADAP *Candida*
albicans DAN *Tricophyton rubrum* SECARA IN VITRO
BESERTA PROFIL KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS “

Oleh

Nama : Fetri Nurindah

No. Mhs : 99 613 110

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

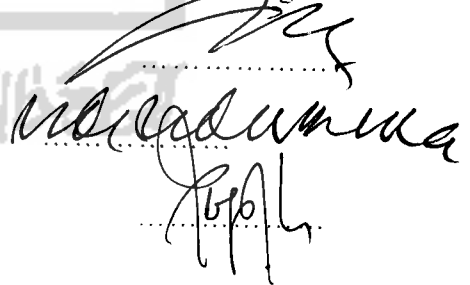
Universitas Islam Indonesia

Tanggal : 30 September 2003

Penguji

1. Wahyu Joko Priambodo, S.Si.
2. Endang Darmawan, S.Si.,Apt.
3. Sri Mulyaningsih, M.Si.,Apt.

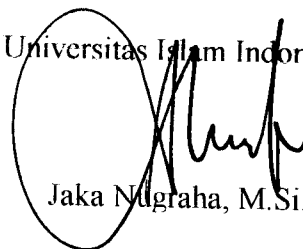
Tanda Tangan



Mengetahui,

Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

Universitas Islam Indonesia



Jaka Nugraha, M.Si.

SKRIPSI INI KUPERSEMBAHKAN

Bismillahirrahmanirrahim

Kepada
Bapak dan Ibu tercinta
atas segala kasih sayang, do'a dan pengorbanan
yang diberikan sepanjang hidupku

suamiku tercinta
Atas semua cinta dan kasih sayangnya

Bapak ibu mertuaku, mas eko, mba'amy, mas
guruh, mba'wik, miko, ito, utap, mba'seli,
de'naning, de' rini dan semua keluarga besarku
Atas segala bantuan do'a dan motivasi yang
diberikan

Kel IDI 54, kel lodadi 34, kel tumaritis, lia,
cris n' wawan, nunu', dini dan semua pihak yang
tidak mungkin penulis sebutkan satu persatu
Atas segala bantuan dan motivasi yang diberikan

Wassalam

KATA MUTIARA

Bismillah

... Niscaya Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman diantaramu dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat ... Al Ayat.

(Al Mujaadilah : 11)

... Hendaklah kamu menerangkan isi kitab itu kepada manusia, dan janganlah kamu menyembunyikannya ... Al Ayat.

(Ali Imron : 187)

Cintailah apa yang kamu cintai dengan sederhana, karena suatu saat bisa menjadi apa yang kau benci. Dan bencilah apa yang kau benci dengan sederhana, karena suatu saat bisa menjadi yang kau cintai.

(Hadits Riwayat Tarmidzi)

Belajar yang sebenarnya bukanlah usaha tuk mencapai gelar, kekayaan maupun jabatan, tetapi belajar adalah usaha terus menerus menelaah dan menambah ilmu

(Penulis)

Hidup di Dunia tidak ada apa-apa dan tidak mempunyai apa-apa

(Penulis)

Wassalam

KATA PENGANTAR

Bismillahirrohmaanirrohiim

Asalamu'alaikum Wr.Wb

Dengan mengucapkan puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya, serta salam dan shalawat kepada junjungan Nabi Muhammad SAW beserta keluarga dan para sahabatnya dan orang-orang yang telah berjuang demi tegaknya agama Allah di bumi ini. Amien

Laporan Tugas Akhir ini disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan jenjang strata satu (S1) pada jurusan farmasi fakultas MIPA, Universitas Islam Indonesia yang dipresentasikan di depan tim penguji. Pada penulisan Tugas Akhir ini, penulis mengambil judul "*Uji Aktivitas In Vitro Ekstrak Daun sembung (Blumea balsamifera (L) DC) Terhadap Candida albicans Dan Tricophyton rubrum) Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis*". Dengan ketulusan dan kerendahan hati, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penyelesaian skripsi ini, terutama kepada :

1. Bapak Wahyu joko priambodo, S.Si, selaku pembimbing pertama.
2. Bapak Endang darmawan, S.Si.,Apt selaku pembimbing kedua
3. Ibu Sri Mulyaningsih, M.Si.,Apt. selaku dosen penguji.
4. Bapak Jaka Nugraha, M.Si, selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.
5. Ibu Farida hayati, M.Si.,Apt, selaku ketua jurusan Farmasi FMIPA UII.

6. Bapak dan ibu tercinta, atas segala doa dan kasih sayang yang diberikan sepanjang hidupku.

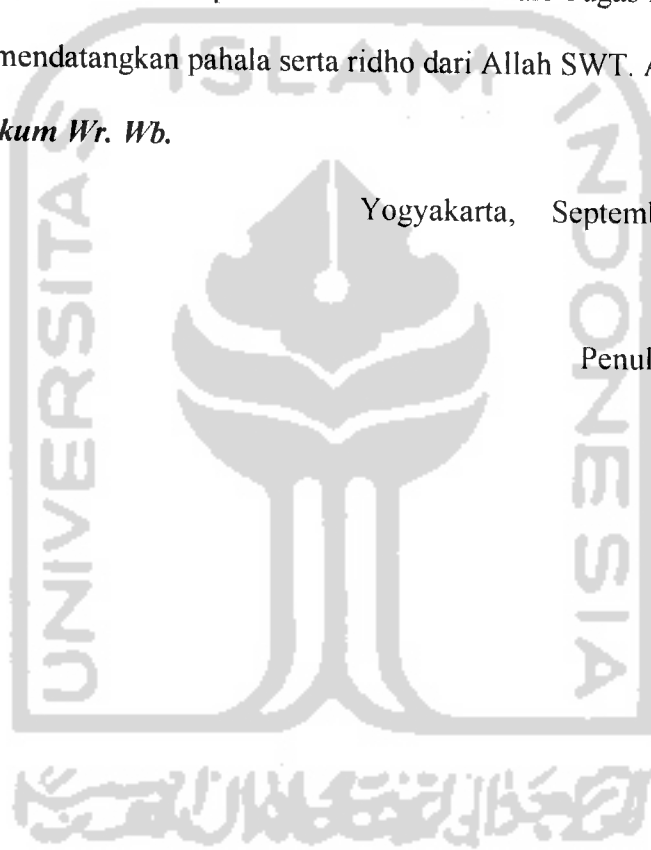
Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik demi penyempurnaan Tugas Akhir ini sangat penulis harapkan dari semua pihak.

Akhirnya penulis berharap bahwa di kemudian hari Tugas Akhir ini dapat bermanfaat dan mendatangkan pahala serta ridho dari Allah SWT. Amien.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb.

Yogyakarta, September 2003

Penulis



DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Pengesahan Dosen Pembimbing.....	ii
Halaman Pengesahan Dosen Pengujii.....	iii
Halaman Persembahan.....	iv
Kata mutiara.....	v
Kata Pengantar.....	vi
Daftar Isi.....	viii
Daftar Tabel.....	xii
Daftar Gambar.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xv
Intisari.....	xvi
Abstract.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah.....	2
C. Tujuan Penelitian.....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
A. Tinjauan Pustaka.....	4
1. Uraian Tentang Tanaman.....	4
a. Sinonim.....	4
b. Klasifikasi.....	4

c. Nama Daerah.....	4
d. Deskripsi.....	5
e. Kandungan Kimia.....	5
f. Kegunaan Tanaman.....	5
2. Metode Ekstraksi.....	6
a. Maserasi.....	6
b. Penyarian dengan Alat Soxhlet	7
c. Perkolasi	7
3. Uraian tentang Mikrobiologi.....	12
a. Sterilisasi.....	12
b. <i>Candida albicans</i>	13
c. <i>Tricophyton rubrum</i>	14
d. Media.....	16
e. Antimikroba.....	19
f. Pemeriksaan daya antibakteri.....	20
4. Kromatografi Lapis Tipis.....	22
B. Keterangan Empiris.....	24
III. CARA PENELITIAN	25
A. Bahan dan Alat	25
1. Bahan	25
2. Alat	25
B. Jalannya Penelitian	25



1. Pengambilan Sampel.....	25
2. Determinasi Tanaman	26
3. Pembuatan Serbuk kering daun sembung	26
4. Penyarian serbuk.....	26
5. Uji Mikrobiologi	27
a) Sterilisasi.....	27
b) Pembuatan Media.....	27
c) Pembuatan Stok Jamur.....	27
d) Pembuatan Inokulum Jamur.....	27
e) Uji Pendahuluan Aktivitas Ekstrak Daun Sembung terhadap fungi.....	28
f) Penyiapan Larutan Uji.....	28
g) Uji Aktivitas Ekstrak Daun Sembung Dengan Berbagai Kadar.....	29
h) Penentuan KHM dengan Menggunakan Metode Delusi Cair.....	29
6. Identifikasi kandungan kimia dengan KLT.....	30
C. Analisis Hasil.....	31
BAB IV. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	32
A. Determinasi Tanaman.....	32
B. Pembuatan Serbuk.....	32
C. Penyarian Serbuk.....	33
D. Uji Mikrobiologi.....	35

1. Sterilisasi.....	35
2. Uji aktifitas antifungi.....	35
a. Uji pendahuluan aktifitas antifungi ekstrak daun sembung....	35
b. Uji aktifitas antifungi ekstrak daun sembung dengan berbagai kadar.....	36
c. Penentuan KHM dengan menggunakan metode delusi cair...	39
E. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia dengan Metode KLT.....	42
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
A. Kesimpulan.....	50
B. Saran.....	50
DAFTAR PUSTAKA.....	51
LAMPIRAN.....	54



DAFTAR TABEL

Tabel I. Bobot ekstrak kental Petroleum Eter, Chloroform dan etanol dari 40 g serbuk kering daun sembung.....	34
Tabel II. Hasil uji pendahuluan aktifitas antifungi masing-masing ekstrak daun sembung kadar 100% terhadap jamur <i>T. rubrum</i> dan <i>C. albicans</i>	37
Tabel III. Hasil uji aktifitas antifungi masing-masing ekstrak daun sembung dengan berbagai kadar terhadap <i>T. rubrum</i>	39
Tabel IV. Hasil penelitian KHM masing-masing ekstrak daun Sembung terhadap <i>T. rubrum</i> dengan seri kadar lebih rendah.....	41
Tabel V. Harga hRf dan warna bercak pengembangan fraksi Petroleum Eter, Chloroform dan etanol menggunakan fase gerak heksan-etil asetat-etanol (70-20-10) dengan pereaksi amoniak.....	46
Tabel VI. Harga hRf dan warna bercak pengembangan fraksi Petroleum Eter, Chloroform dan etanol menggunakan fase gerak toluen-etil asetat (95-5) dengan pereaksi vanilin asam sulfat.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Rangkaian alat perkolasi (Perkolator).....	11
Gambar 2.. Sketsa profil KLT ekstrak Petroleum Eter, Chlorofom, dan etanol daun Sembung menggunakan fase gerak heksan-etil asetat-metanol (70-20-10) dengan pereaksi semprot amoniak.....	45
Gambar 3..Sketsa profil KLT ekstrak Petroleum Eter, Chloroform dan etanol daun Sembung menggunakan fase gerak toluen- etil asetat (95 – 5) dengan pereaksi Vanili asam sulfat.....	47
Gambar 4. Tanaman Sembung (<i>Blumea balsamifera</i> (L) DC).....	55
Gambar 5. Uji pendahuluan masing-masing ekstrak daun Sembung terhadap <i>Tricophyton rubrum</i> dan <i>Candida albicans</i>	56
Gambar 6. Uji aktifitas antifungi ekstrak Petroleum Eter terhadap <i>Tricophyton rubrum</i>	57
Gambar 7.Uji aktifitas antifungi ekstrak Chloroform terhadap <i>Tricophyton rubrum</i>	58
Gambar 8. Uji aktifitas antifungi ekstrak etanol terhadap <i>Tricophyton rubrum</i> .	59
Gambar 9. KHM ekstrak Petroleum Eter terhadap <i>Tricophyton rubrum</i>	60
Gambar 10. KHM ekstrak Chloroform terhadap <i>Tricophyton rubrum</i>	61
Gambar 11. KHM ekstrak etanol terhadap <i>Tricophyton rubrum</i>	62

Gambar 12. Profil KLT ekstrak daun Sembung menggunakan fase gerak heksan-etil asetat,-metanol (70-20-10) dengan pereaksi semprot amoniak dilihat dengan sinar visibel.....	63
Gambar 13. Profil KLT daun Sembung menggunakan fase gerak heksan-etil asetat-metanol (70-20-10) dengan pereaksi semprot amoniak dilihat dengan sinar UV 254.....	64
Gambar 14. Profil KLT ekstrak daun Sembung menggunakan fase gerak heksan-etil asetat-metanol (70-20-10) dengan pereaksi semprot amoniak dilihat dengan sinar UV 365.....	65
Gambar 15. Profil KLT ekstrak daun Sembung menggunakan fase gerak toluen-etil asetat (95–5) dengan pereaksi Vanili asam sulfat.dilihat dengan sinar visibel.....	66
Gambar 16. Profil KLT ekstrak daun Sembung menggunakan fase gerak toluen-etil asetat (95–5) dengan pereaksi Vanili asam sulfat dilihat dengan sinar UV 254.....	67
Gambar 17 Profil KLT ekstrak daun Sembung menggunakan fase gerak toluen-etil asetat (95–5) dengan pereaksi Vanili asam sulfat dilihat dengan sinar UV 365.....	68

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Hasil determinasi tanaman Sembung.....	54
Lampiran 2.	Gambar tanaman Sembung.....	55
Lampiran 3	Gambar uji pendahuluan aktifitas antifungi masing-masing ekstrak daun Sembung kadar 100% terhadap jamur <i>T. rubrum</i> dan <i>C. albicans</i>	56
Lampiran 4	Gambar uji aktifitas antifungi masing-masing ekstrak daun Sembung dengan kadar 20%, 10%, 5%, dan 2,5% terhadap <i>T. rubrum</i>	57
Lampiran 5.	Gambra penentuan KHM masing-masing ekstrak daun Sembung terhadap <i>T. rubrum</i> dengan seri kadar lebih rendah.....	60
Lampiran 6.	Gambar profil KLT masing-masing ekstrak menggunakan fase gerak heksan-etil asetat-metanol (70–20–10) dengan pereaksi semprot amoniak.....	63
Lampiran 7.	Gambar profil KLT masing-masing ekstrak menggunakan fase gerak toluen–etil asetat (95–5) dengan pereaksi Vanili asam sulfat.....	66
Lampiran 8.	Hasil uji Anova 2 arah dan uji Duncan.....	69

INTISARI

Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antifungi ekstrak daun sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC) terhadap *C. albicans* dan *T. rubrum*. Ekstrak daun sembung didapat dari perkolat 40 g serbuk kental dengan menggunakan penyari petroleum eter, chloroform, etanol masing – masing sebanyak 1,5 l. Setelah ekstrak dikentalkan dengan evaporator didapat ekstrak kental. Pemeriksaan pendahuluan dengan metode difusi agar sumuran diketahui pada jamur *C. albicans* tidak memberikan aktivitas sedangkan pada *T. rubrum* memberikan aktivitas antifungi. Pengujian dilanjutkan dengan kadar ekstrak masing - masing 20%,10%,5% dan 2,5%. Analisis hasil dilakukan dengan uji Anava Dua Arah dan dilanjutkan dengan uji Duncan menunjukkan bahwa kontrol + yang menunjukkan hambatan terbesar dengan kadar 20%, pada ekstrak etanol 2.5% mempunyai hambatan terkecil, ekstrak yang efektif sebagai antifungi adalah ekstrak petroleum eter dan kloroform. Nilai KHM ekstrak petroleum eter 0,16%, chloroform 0,31% dan etanol 0,63% yang dilakukan dengan metode dilusi cair. Melihat profil senyawa aktif daun Sembung dilakukan dengan KLT menggunakan lempeng silika gel GF₂₅₄ dan dua fase gerak yaitu heksan-etil asetat-metanol (70-20-10) pereaksi amoniak dan toluen-etil asetat(95-5) pereaksi vanilin sulfat, diperkirakan senyawa yang mempunyai aktivitas antifungi bersifat non polar yaitu golongan terpen dan polifenol.

Kata kunci: Sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC), *Candida albicans*, *Tricophyton rubrum*.

ABSTRACT

This research is aimed to test the antifungal activity of leaf extract sembung [*Blumea balsamifera* (L) DC] against *C. albicans* and *T. rubrum*. The leaf extract sembung got from percolat 40 g powder by using essences petroleum eter, of chloroform, ethanol as much 1,5 l. Preliminary investigation with the diffusion agar method against *C. albicans* do not give the and activity *T. rubrum* give the antifungal activity. Examination continued with the extract rate of each 20%,10%,5% and 2,5%. Analysis result of conducted with the test ANOVA two direction and continued with the test Duncan indicate that the control + showing biggest resistance with the rate 20%, at extract ethanol 2.5% having smallest resistance. Assess the KHM of extract of petroleum eter 0,16%,chloroform 0,31% and ethanol 0,63% what is done with the liquid dilutions method. Analysis the compound conducted by KLT using of silica gel GF 254 and mobile phase is hexane-ethyl asetat-methanol (70-20-10) ammonia and toluen-etil asetat (95-5) reagens vaniline sulphuric acid,spot at the price of hRf of is equal estimated have the activity antifungi.

Keyword: sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC), *Candida Albicans*, *Tricophyton rubrum*.

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Di Indonesia penggunaan obat tradisional sudah ada sejak dahulu dan dilakukan secara turun-temurun. Namun banyak diantaranya belum didasarkan atas penelitian ilmiah baik data klinis maupun data farmakologis. Pada masa sekarang banyak penelitian yang mengembangkan obat tradisional itu didasarkan atas penelitian ilmiah.

Salah satu bahan obat tradisional yang dikenal dan banyak tumbuh di Indonesia adalah sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC) suatu tumbuhan perdu (Hargono, 1982). Seluruh bagian tumbuhan ini dapat digunakan sebagai obat yaitu sebagai bahan jamu, pil atau ekstrak cair.

Penggunaan daun sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC). Sebagai obat tradisional dapat digunakan untuk menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Dari penelusuran pustaka dapat diketahui aktifitas tanaman ini dapat digunakan untuk menyembuhkan penyakit rematik sendi, nyeri haid, sakit kulit, influenza, diare, sariawan, kencing manis. Penelitian tanaman ini masih seputar penggunaannya untuk penyakit kencing manis dan belum ada yang menggunakan untuk antibakteri (Dalimartha, 1999).

Beberapa pustaka menyebutkan bahwa daun sembung bersifat pedas, sedikit pahit, hangat dan baunya seperti rempah. Mengandung berbagai senyawa kimia seperti polifenol, saponin, tanin, glikosida minyak atsiri dan flavonoid.

Senyawa – senyawa ini efektif sebagai bahan dasar obat. Pemanfaatan daun sembung sebagai bahan dasar obat belum begitu dikembangkan dan penelitian tentang ekstrak daun sembung sebagai antifungi belum banyak dilakukan . Padahal beberapa pustaka menyatakan daun sembung efektif sebagai obat tradisional untuk penyakit kulit yang ditimbulkan oleh jamur. Dengan demikian dapat diduga bahwa ekstrak daun sembung mengandung senyawa antifungi.

Atas dasar pertimbangan di atas, maka dilakukan penelitian mengenai uji aktifitas antifungi dari ekstrak daun sembung terhadap jamur *Candida albicans* dan *Tricophyton rubrum*. Dari hasil ini diharapkan akan diperoleh informasi yang jelas mengenai aktifitas antifungi dari daun sembung.

Untuk memahami dan mengetahui lebih jauh tentang aktivitas daun sembung, penyusun merumuskan masalah dalam penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas In Vitro Ekstrak Daun Sembung (*Blumea Balsamifera* (L) DC) Terhadap *Candida albicans* dan *Tricophyton rubrum* Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis.

B. Perumusan Masalah

Permasalahan yang timbul dapat dirumuskan sebagai berikut:

1. Apakah ekstrak daun Sembung mempunyai aktifitas sebagai antifungi?
2. Fraksi apa yang memiliki aktivitas terbesar sebagai antifungi dalam ekstrak daun Sembung.?
3. Bagaimana profil KLT ekstrak daun sembung?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan untuk:

1. Mengetahui aktivitas ekstrak daun Sembung terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan *Tricophyton rubrum*
2. Mengetahui fraksi mana yang aktif dari ekstrak daun Sembung
3. Melihat profil Kromatografi Lapis Tipis dari masing – masing ekstrak daun Sembung



BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Uraian Tentang Tanaman

Sembung (*Blumea Balsamifera* (L) DC)

a. Sinonim

Baccharis Salvia Lour, Conyza balsamifera L , Pluchea balsamifera (L.)

Less. (Dalimartha, 1999)

b. Klasifikasi

Divisi : Spermatophyta

Sub Divisi : Angiospermae

Kelas : Dicotyledoneae

Bangsa : Asterales

Suku : Compositae

Marga : *Blumea*

Jenis : *Blumea balsamifera* (L) DC

(Hutapea, 1993)

c. Nama Daerah

Sumatera; Sembung (melayu). Jawa; Sembung utan (Sunda), Sembung

(Jawa), Kemandin (Madura) (Wijayakusuma, 1992).

d. Deskripsi

Habitusnya merupakan perdu dengan tinggi 2-3 m. berbatang tegak, bulat, bagian atas berbulu lebat dan berwarna hijau. Biasanya memiliki daun tunggal, tersebar, lonjong, berbulu, pangkal dan ujung meruncing, tepi bergerigi, pertulangan menyirip dengan panjang 25-40 cm dan lebar 10-20 cm berwarna hijau. Bunganya majemuk, berbentuk tandan, duduk atau bertangkai, tumbuh diketiak daun dan ujung batang, terkumpul sebagai malai, mahkotanya berwarna putih kekuningan. Bentuk buahnya kotak, silindris, keras, berambut berwarna putih kecoklatan dengan biji pipih berwarna putih. Akarnya tunggang, berwarna putih kotor (Hutapea, 1993).

e. Kandungan Kimia

Daun dan kulit batang *Blumea balsamifera* (L) DC daunnya mengandung tanin, minyak atsiri dan flavonoid, kulit batang dan akarnya mengandung saponin juga akarnya mengandung polifenol (Hutapea, 1993).

f. Kegunaan Tanaman

Secara empiris daun Sembung berkhasiat mengatasi: rematik sendi, persendian sakit setelah melahirkan, nyeri haid, datang haid tidak teratur, sakit kulit, influenza, demam, sesak nafas (asma), batuk, bronchitis, perut kembung, sdiare, perut mulas, sariawan, nyeri dada (angina pectoris) (Dalimartha, 1999).

2. Metode Ekstraksi

Dalam teknologi farmasi yang lebih penting adalah ekstraksi. Tumbuhan segar yang telah dihaluskan atau material tumbuhan yang dikeringkan diproses dengan cairan pengestraksi. Jenis ekstraksi dan bahan ekstraksi mana yang sebaiknya digunakan sangat tergantung dari kelarutan bahan kandungan dan stabilitasnya. Dengan demikian setiap bahan yang terdapat dalam sari perasan mungkin tidak terdapat di dalamnya atau juga bahan lain yang terdapat dalam tumbuhan turut masuk ke dalam larutan. Untuk memperoleh sediaan obat yang cocok umumnya digunakan campuran etanol-air sebagai cairan pegekstrasinya karena banyak bahan tumbuhan yang larut dalam air atau alkohol (Voight, 1994).

Beberapa metode ekstraksi yang banyak dilakukan dengan tiga cara yakni maserasi, dengan alat Soxhletasi dan perkolasi.

a. Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sangat sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat pada Farmakope Indonesia, yakni umumnya berupa serbuk kasar atau terpotong-potong, kemudian disatukan dengan bahan pengestraksi (pelarut yang digunakan harus sesuai dengan metode "Like dissolves Like"). Selanjutnya rendaman tersebut disimpan dan harus terlindungi dari cahaya langsung, untuk menghindari reaksi oksidasi oleh udara atau reaksi yang dikatalisis oleh cahaya sehingga akan terjadi perubahan warna pada simplisia. Setelah itu digojog kembali untuk beberapa waktu. Waktu yang digunakan untuk maserasi berbeda-beda, masing-masing farmakope mencantumkan 4-10 hari. Setelah selesai waktu maserasi, artinya keseimbangan antara bahan yang

diekstraksi pada bagian dalam sel dengan yang masuk ke dalam cairan telah tercapai maka proses difusi segera berakhir. Kemudian rendaman diperas (kain pemeras) dan sisanya diperas lagi. Cairan maserasi dan cairan yang diperoleh melalui perasan disatukan dan diatur hingga mencapai kadar tertentu. Hasil ekstraksi disimpan dalam kondisi dingin selama beberapa hari lalu cairannya dituang dan disaring (Voight, 1994).

b. Penyarian dengan alat *soxhletasi*

Soxhletasi, merupakan penyarian yang berkesinambungan menggunakan alat soxhlet, yakni terdiri dari refluks, pipa uap dan labu. Prinsip kerja soxhletasi adalah cairan penyari yang digunakan diisikan pada labu, serbuk simplisia diisikan pada tabung dari kertas saring. Cairan penyari dipanaskan sampai mendidih. Uap cairan penyari akan naik keatas melalui pipa samping, kemudian diembunkan kembali oleh pendingin tegak. Cairan penyari sambil turun melarutkan zat aktif serbuk simplisia. Cara ini lebih menguntungkan karena uap panas tidak melalui serbuk simplisia tapi melalui pipa samping. Perputaran uap cairan tersebut biasanya berkisar 10-12 kali dalam 2 jam. Cairan hasil proses ini ditampung di dalam erlenmeyer untuk perlakuan berikutnya (Voight, 1994).

c. Perkolasi

Perkolasi adalah cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi.

Prinsip perkolasi adalah sebagai berikut :

Serbuk simplisia ditempatkan dalam suatu bejana silinde, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Cairan penyari dialirkan dari atas kebawah melalui serbuk

tersebut, cairan penyari akan melarutkan zat aktif sel-sel yang dilalui sampai mencapai keadaan jenuh. Gerak kebawah disebabkan oleh kekuatan gaya beratnya sendiri dan cairan di atasnya, dikurangi dengan gaya kapiler yang cenderung untuk menahan.

Kekuatan yang berperan pada perkolasi antara lain: Gaya berat, kekentalan, daya larut, tegangan permukaan, difusi, osmosa, adesi, gaya kapiler dan daya geseran (friksi).

Cara perkolasi lebih baik dibandingkan dengan cara maserasi karena:

- a. Aliran cairan penyari menyebabkan adanya pergantian larutan yang terjadi dengan larutan yang konsentrasinya lebih rendah, sehingga meningkatkan derajat perbedaan konsentrasi.
- b. Ruang diantara butir-butir serbuk simplisia membentuk saluran tempat mengalir cairan penyari. Karena kecilnya saluran kapiler tersebut, maka kecepatan pelarut cukup untuk mengurangi lapisan batas, sehingga dapat meningkatkan perbedaan konsentrasi.

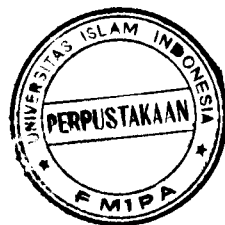
Alat yang digunakan untuk perkolasi disebut perkolator, cairan yang digunakan untuk menyari disebut cairan penyari atau menstrum, larutan zat aktif yang keluar dari perkolator disebut sari atau perkolat, sedang sisa setelah dilakukannya penyarian disebut ampas atau sisa perkolasi.

Simplisia yang akan diperkolasi tidak langsung dimasukkan ke dalam bejana perkolator, tetapi dibasahi atau dimaserasi terlebih dahulu dengan cairan penyari. Maserasi dilakukan dalam bejana tertutup. Maserasi ini penting terutama pada serbuk simplisia yang mengandung bahan yang mudah mengembang bila

terkena air, misalnya serbuk rimpang tanaman suku Zingiberaceae. Bila serbuk simplisia tersebut langsung dialiri dengan cairan penyari maka cairan penyari tidak dapat menembus keseluruhan sel dengan sempurna. Hal ini disebabkan karena tidak seluruh sel mengembang. Maserasi pendahuluan sebaiknya dilakukan juga pada serbuk simplisia yang keras, yang zat aktifnya sulit disari atau jika jumlah cairan penyarinya terbatas. Jika serbuk simplisia sebelumnya dibasahi dengan cairan penyari yang cukup untuk mengembangkan sel dengan sempurna maka aliran cairan penyari tidak akan mengalami hambatan. Setelah seluruh sel serbuk mengembang maka aliran cairan akan merata, sehingga dapat menembus seluruh sel dengan sempurna.

Sebelum serbuk yang telah dimaserasi itu dimasukkan ke dalam perkolator, bagian leher perkolator diberi kapas gabus bertoreh atau dengan cara lain. Kapas atau gabus harus dijaga jangan sampai basah oleh air, kecuali bila cairan penyari mengandung air. Hal tersebut perlu diperhatikan terutama bila serbuk simplisia mengandung damar. Perkolat yang mengandung damar akan mengendap, karena adanya air dalam kapas atau gabus tersebut. Endapan tersebut akan menghalangi aliran perkolat berikutnya. Bila menggunakan gabus sebaiknya diatasnya diberi kertas saring dengan diameter lebih besar dari gabusnya. Pinggir kertas saring digunting teratur, pengguntingan tersebut bertujuan agar kertas saring dapat menempel pada dinding perkolator.

Setelah maserasi, massa dimasukkan ke dalam perkolator. Pemindahan dilakukan sedikit demi sedikit sambil tiap kali ditekan. Penekanan ini merupakan salah satu usaha untuk mengatur kecepatan pengaliran cairan penyari. Bila ada



kekhawatiran bahwa aliran cairan penyari terlalu cepat, hingga zat aktif tidak tersari sempurna maka penekanan dapat dilakukan dengan agak kuat. Sebaiknya bila perkolat tidak dapat menetes berarti massa terlalu padat atau serbuk simplisia terlalu halus. Bila hal ini terjadi, isi perkolator harus dibongkar, dan kemudian dimasukkan kembali dengan penekanan yang agak longgar. Bila diperlukan dapat dibantu dengan mencampur sejumlah kerikil yang telah dibersihkan pada massa tersebut.

Setelah serbuk yang telah dimaserasi itu dimasukkan ke dalam perkolator, kemudian ditutup dengan kertas saring. Kertas saring memiliki garis tengah lebih besar dari pada garis tengah bejana perkolator. Pada pinggir kertas saring digunting beraturan, agar dapat menempel pada dinding perkolator. Diatas kertas saring tersebut diberi pemberat kerikil, kaca atau bahan inert lainnya, untuk mencegah agar kertas saring tidak terangkat keatas pada saat dituangi cairan penyari.

Cairan penyari dituangkan perlahan-lahan hingga diatas permukaan massa masih tergenang dengan cairan penyari. Cairan penyari harus selalu ditambahkan sehingga terjaga adanya lapisan cairan penyari diatas perkolator dipasang botol cairan penyari. Karena penetes cairan penyari diatur sehingga kecepatan menetes cairan penyari sama dengan kecepatan menetes sari.

Setelah massa didiamkan 24 jam dalam perkolator, keran dibuka. Keran diatur sehingga kecepatan menetes 1 ml tiap menit. Jika penetesan terlalu cepat, penyarian tidak sempurna, sebaiknya jika terlalu lambat akan membuang waktu dan kemungkinan menguap lebih besar. Beberapa istilah yang digunakan untuk

3. Uraian Tentang Mikrobiologi

a. Sterilisasi

Hampir semua tindakan yang dilakukan dalam diagnosa mikrobiologi, sterilitas sangat diutamakan baik alat-alat yang dipakai maupun medianya. Proses sterilisasi dipergunakan pada bidang mikrobiologi untuk mencegah pencemaran organisme dari luar. Sterilisasi adalah proses untuk membebaskan suatu benda dari semua mikroorganisme baik vegetatif maupun bentuk spora. Sedangkan desinfeksi adalah proses mematikan semua mikroorganisme patogen yang dapat menyebabkan infeksi. Suatu alat atau bahan dikatakan steril apabila alat atau bahan tersebut bebas dari mikroba, baik dalam bentuk vegetatif maupun spora.

Secara umum terdapat dua cara sterilisasi yaitu secara fisik dan secara kimia. Sterilisasi dengan cara fisik meliputi cara pemanasan basah, pemanasan kering, pengeringan, sinar matahari, penyaringan, radiasi, dan getaran ultrasonik. Sedangkan sterilisasi cara kimia menggunakan zat-zat kimia antara lain asam, basa, garam-garam, halogen, senyawa pengoksidasi dan pereduksi, formaldehid, fenol, sabun, zat-zat warna, aerosol, dan lain-lain. (Anonim, 1993; Gupte, 1990)

Infeksi jamur dapat menyebabkan penyakit kulit, kuku dan mulut. Penyakit infeksi tersebut banyak terdapat di Indonesia, hal ini terutama karena adanya udara yang lembab, daerah tropis, higiene yang kurang baik, lingkungan penduduk yang padat sehingga banyak terjadi kontaminasi mikroba, baik jamur atau bakteri, serta sosioekonomi yang rendah.

b. *Candida albicans*

Merupakan suatu jamur lonjong bertunas yang menghasilkan pseudomiselium, baik dalam jaringan ataupun dalam eksudat. *Candida* merupakan flora normal selaput lendir saluran pernafasan, saluran pencernaan, dan genetalia wanita. Pada tempat-tempat ini jamur dapat menjadi dominan dan dihubungkan dengan keadaan patogen. Kadang-kadang jamur ini menyebabkan penyakit *sistemik progresif* pada penderita yang lemah atau kekebalannya menurun.

Klasifikasi *C. albicans* adalah sebagai berikut :

Divisi : Fungi (Mycota)

Subdivisi : Eumycotina

Kelas : Deuteromycetes (Fungi imperfecti)

Bangsa : Pseudosacharomycetales

Suku : Cryptococaceae

Marga : *Candida*

Jenis : *Candida albicans* (Frobisher, 1974; Alcamo,1983)

Pada sediaan mikroskopis, eksudat *C. albicans* tampak sebagai ragi lonjong bertunas, gram positif, ukuran 2-3 X 4-6 μm , dan sel-sel bertunas yang memanjang menyerupai hifa (*pseudohifa*). Pada agar sabouraud yang diinkubasi pada suhu kamar terbentuk koloni-koloni lunak berwarna putih coklat yang mempunyai bau seperti ragi. *C. albicans* ditemukan dalam jumlah besar pada saluran pencernaan setelah pemberian antibiotik oral misalnya tetrasiklin. Tetapi

hal ini biasanya tidak disertai dengan gejala-gejala *C. albicans* dapat dibawa oleh aliran darah ke organ-organ lain termasuk selaput otak, tetapi biasanya tidak menetap dan menyebabkan abses. *Candidiasis* merupakan infeksi yang disebabkan oleh *Candida*

Penderita yang menerima kemoterapi yang lemah atau menderita limfoma, AIDS, dan lain-lain dapat terjadi sepsis. Faktor-faktor predisposisi utama infeksi *C. albicans* antara lain Diabetus Melitus, kelemahan umum, keteter intra vena, dan pemberian kortikosteroid (Jawetz dkk., 1986).

c *Trichophyton rubrum*

Trichophyton rubrum dapat diklasifikasikan sebagai berikut:

Divisi	: Amastigomycota
Subdivisi	: Ascomycotina
Kelas	: Ascomycetes
Subkelas	: Plectomycetidae
Bangsa	: Onygenales
Suku	: Gymnoascaceae
Species	: <i>Trichophyton rubrum</i>

(Alexopoulos, 1979)

Trikofitid merupakan infeksi kulit yang disebabkan oleh *trichophyton*. *Trikofitid* dibagi berdasarkan tempat terjadinya infeksi, diantaranya tinea capitis bila timbul pada kepala, tinea corporis bila pada badan, tinea manus pada tangan, tinea cruris pada lipatan paha, tinea pedis pada kaki, tinea unguium pada kuku

(*onikomikosis*) dan *tinea barbae* pada daerah jenggot (Adrianto dan Sukardi, 1989).

Trichophyton termasuk jamur dermatofid mikosis superfisialis merupakan jamur filamentosa yang mencernakan keratin, tidak menginvasi sel hidup sehingga terbatas pada kulit, rambut dan kuku dan merupakan spesies antropofilik yang menginfeksi hanya terbatas pada manusia.

Tricophyton membutuhkan 2 – 3 minggu untuk tumbuh di media. Mempunyai konidia besar (makrokonidia), lembut, dinding tipis, septet (0 – 10 septa), dan berbentuk pensil. Koloni mempunyai antena miselium bebas yang tumbuh dengan beragam warna. (Anonim, 2002).

T. rubrum mempunyai banyak strain dan jenis, untuk keperluan praktis dibedakan atas dua jenis: *T. rubrum* downy dan *T. rubrum* tipe glanular. Jenis downy merupakan jenis paling banyak menyebabkan dermatofitosis pada manusia. Sering menyebabkan infeksi kronik pada kulit, kuku dan kepala.

Secara mikroskopik jenis downy digolongkan atas produksi mikrokonidia, bermikrokonidia tipis dan tidak mempunyai mikrokonidia.

Jenis glanular secara mikroskopik menunjukkan produksi mikrokonidia berlimpah dan berdinding tipis. Makrokonidia berbentuk batang, mempunyai ujung terminal atau tidak.

T. rubrum jenis downy pada media saboroud desktrosa agar, koloni berbentuk tipis hingga kecil rata, berwarna putih hingga krem, seperti kulit berbulu dengan warna coklat kuning ke merah. Hampir semua kultur menunjukkan banyak klavat kecil tipis hingga piryform mikrokonidia.

Makrokonidia sering tidak ada, tetapi sering terdapat bentuk seperti klosterospora di puncak. Isolasi pendahuluan beberapa kultur dapat mengakibatkan ketiadaan pigmen dan menghilangkan mikrokonidia. Hal ini memerlukan media subkultur seperti Lactritmel agar atau kentang dekstrosa agar dapat menstimulasi pigmentasi atau sporulasi. Jika sporulasi masih tidak terjadi maka pada media subkultur jamur ditambahkan *Difto Tricophyton* agar No. 1.

Tricophyton jenis glanular pada media Saboroud dekstrosa agar, koloni berbentuk tipis hingga kecil rata, berwarna putih hingga krem, permukaan seperti kulit berbulu kemerahan,. Secara mikroskopis, kultur biasanya banyak klavat hingga piryform mikrokonidia dan lembut, multisepta berdinding tipis, makrokonidia berbentuk silindris. (Anonim, 2002)

Pada biakan *Tricophyton* membentuk koloni dan konidia sehingga dapat menjadi dasar penelitian spesies. Banyak binatang domestik dan binatang lainnya terinfeksi oleh dermatofit dan dapat memindahkannya kemanusia, misalnya anjing dan kucing (Jawetz et al., 1986)

d. Media

Media adalah sebagai kumpulan zat-zat organik maupun anorganik yang digunakan untuk menumbuhkan bakteri dengan syarat-syarat tertentu. Untuk mendapatkan suatu lingkungan yang cocok bagi pertumbuhan mikroorganisme, maka syarat-syarat yang harus dipenuhi dalam pembuatan media adalah sebagai berikut:

1). Susunan makanan

(1). Air

Air digunakan untuk pertumbuhan bakteri disamping untuk menjaga kelembaban juga untuk pertukaran zat (metabolisme). Pada umumnya bakteri peka terhadap kekeringan, kecuali jenis-jenis tertentu yang mampu membentuk spora

(2). Sumber karbon

Sebagai sumber karbon, bakteri dapat menggunakan persenyawaan karbon sederhana misalnya CO_2 dan CH_4 atau persenyawaan karbon yang lebih tinggi misalnya sitrat, tartrat, alkohol atau gula. Berbagai bakteri mempunyai kelakuan yang berbeda terhadap berbagai macam gula (misalnya glukosa, laktosa, maltosa dsb) dan ini dapat dipakai untuk membantu mengidentifikasi bakteri.

(3). Sumber nitrogen

Sebagai sumber nitrogen dapat sebagai unsur nitrogen sendiri atau senyawa-senyawa nitrogen yang sederhana misalnya NO_2 , NO_3 , NH_3 , atau senyawa nitrogen yang lebih tinggi misalnya asam amino, polipeptid, peptid dan pepton.

(4). Mineral

Yang penting adalah Na, K, Mg, Zn, P, S, dan Cl dibutuhkan dalam jumlah yang agak besar, terutama digunakan untuk menjaga tetap dalam keadaan isotonis. Juga pemakaian NaOH digunakan untuk menetapkan pH agar didapat pH yang optimal untuk bakteri tersebut.

(5). Vitamin

Beberapa bakteri membutuhkan vitamin terutama untuk kehidupannya.

(6). Gas

Beberapa bakteri membutuhkan gas tertentu untuk kehidupannya. Sebagai contoh *Gonococcus* sangat membutuhkan CO_2 untuk kehidupannya. Namun ada bakteri tertentu yakni bakteri anaerob, adanya oksigen (O_2) akan menghambat pertumbuhan bahkan membunuhnya.

2). Tekanan osmose

Meningat sifat-sifat bakteri juga sama seperti sifat-sifat sel lain terhadap tekanan osmose, maka bakteri untuk pertumbuhannya membutuhkan media yang isotonis. Bila media tersebut hipotonis maka bakteri akan mengalami plasmoptysis, sedangkan bila media tersebut hipertonis maka akan terjadi plasmolysis.

3). Derajat keasaman (pH)

Pada umumnya bakteri membutuhkan pH yang bersifat netral. Namun pada bakteri tertentu ada yang membutuhkan pH alkalis, yakni *Vibrio*, yang butuh pH antara 8-10 untuk pertumbuhannya yang optimal

4). Temperatur

Untuk mendapatkan pertumbuhan yang optimal dari bakteri membutuhkan temperatur tertentu. Umumnya untuk bakteri yang patogen membutuhkan temperatur sekitar 37°C , sesuai dengan temperatur tubuh. Namun ada bakteri patogen yang membutuhkan sekitar 42°C yakni *Camphylobacter*.

5). Sterilitas

Sterilitas media merupakan suatu syarat yang sangat penting. Adalah tidak mungkin kita dapat melakukan pemeriksaan mikrobiologis apabila media yang digunakan tidak steril, karena tidak dapat dibedakan dengan pasti apakah bakteri tersebut berasal dari material yang diperiksa atau hanya merupakan kontaminan (Anonim, 1993).

e. Antimikroba

Antimikroba adalah zat untuk membasmi mikroba khususnya yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antimikroba yang bersifat menghambat pertumbuhan mikroba, dikenal sebagai aktivitas bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh mikroba yang dikenal sebagai aktivitas bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat mikroba atau membunuhnya, masing – masing dikenal sebagai kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) (Setiabudy dan Gan, 1995).

Mekanisme antifungi dapat dikelompokkan jadi:

1. Gangguan pada membran sel

Mekanisme ini mempengaruhi permeabilitas membran sel, sehingga isi sel akan hilang

2. Menghambat sintesis kitin

Merupakan mekanisme ideal dan selektif tanpa memberikan efek samping pada manusia atau tumbuhan

3. Menghambat sintesis asam nukleat dan protein

Penghambatan pada sintesis ini hanya mempunyai efek fungistatik.

4. Menghambat produksi energi atau ATP

Mekanisme ini merupakan penghambatan respirasi atau menghalangi terjadinya fosforisasi oksidatif yang terjadi di sitoplasma atau mitokondria.

Uji aktifitas antifungi in vitro dilakukan untuk mendapatkan data tentang:

1. potensi suatu obat atau antifungi dalam larutan
2. konsentrasi obat antifungi dalam cairan badan dan jaringan.
3. kepekaan suatu fungi terhadap obat antifungi yang digunakan

(Jawetz, et al., 1986)

f. Pemeriksaan daya antibakteri

Pemeriksaan atau pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan cara :

(a). Metode agar difusi

Pada metode agar difusi dikenal beberapa cara yaitu cara Kirby Bauer, cara sumuran dan cara *Pour plate*.

(1). Cara Kirby Bauer

- (a). Diambil beberapa koloni kuman dari pertumbuhan 24 jam pada agar disuspensikan ke dalam 0,5 ml BHI cair, diinkubasikan selama 5-8 jam pada 37°C
- (b). Suspensi diatas ditambah aquadest steril hingga kekeruhan tertentu sesuai dengan standar konsentrasi kuman 10^8 CFU per ml (CFU = *Colony Forming Unit*)

(c). Kapas lidi steril dicelupkan ke dalam suspensi kuman lalu ditekan pada dinding tabung hingga kapasnya tidak terlalu basah, kemudian dioleskan pada permukaan media hingga rata

(d). Kertas samir (disk) yang mengandung antibiotik diletakkan diatas media. Diinkubasi pada 37°C selama 19-24 jam dan dibaca hasilnya.

Zone radikal : suatu daerah di sekitar disk yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri. Potensi antibakteri diukur dengan mengukur diameter zone radikal.

Zone irradikal : suatu daerah di sekitar disk yang menunjukkan pertumbuhan bakteri dihambat oleh antibiotik tersebut tetapi tidak dimatikan. Di sini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang, dibanding dengan daerah di luar antibiotik tersebut.

(2). Cara sumuran

(a), (b) dan (c) sama dengan cara Kirby Bauer

(d). Pada agar tersebut dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu menurut kebutuhan. Kedalam sumuran tersebut diteteskan larutan antibakteri yang digunakan. Diinkubasi pada 37°C selama 18 – 24 jam. Dibaca hasilnya seperti pada cara Kirby Bauer.

(3). Cara *Pour plate*

(a) dan (b) sama dengan cara Kirby Bauer



- (c). Dengan menggunakan ose khusus, diambil satu ose dan dimasukkan ke dalam 4 ml agar base 1,5% yang mempunyai temperatur 50⁰C (diambil dari *waterbath*)
 - (d). Suspensi kuman dibuat homogen, dituang pada media Mueller Hinton agar dan dibiarkan membeku
 - (e). Disk antibakteri diletakkan diatas media
 - (f). Diinkubasi 15 – 20 jam pada 37⁰C.
 - (g). Hasil dibaca sesuai kadar masing-masing.
- (b). Metode dilusi cair atau dilusi padat

Pada prinsipnya antibiotik diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Pada dilusi cair, masing-masing konsentrasi obat ditambah suspensi kuman dalam media. Sedangkan pada dilusi padat pada tiap konsentrasi obat dicampur dengan media agar, lalu ditanami kuman (Anonim, 1993).

4. Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah suatu cara pemisahan yang biasa atas pembagian campuran dua senyawa atau lebih dalam dua fase, dimana fase gerak bergerak terhadap fase diam. Fase diam adalah zat penyerap yang berupa serbuk halus yang dilapiskan secara merata pada lempeng kaca dan bekerja berdasarkan pada absorpsi, pembagiannya atau gabungannya tergantung pada jenis penyerap dan jenis pelarutnya..

Metode KLT banyak digunakan karena hanya membutuhkan peralatan yang sedikit, memakan waktu yang relatif singkat dan membutuhkan jumlah

cuplikan yang sangat sedikit ($\pm 0,1$ gram). Selain itu hasil palsu yang disebabkan oleh komponen sekunder tidak mungkin terjadi, kebutuhan ruang minimal dan penyimpanannya sederhana (Stahl, 1985).

Penyerap yang umumnya dipakai adalah silika gel, aluminium oksida, keisselgur, selulosa dan turunannya, poliamida dan lain-lain. Agar melekat pada pendukungnya, biasanya silika gel ditambah bahan pengikat kalsium sulfat oleh silika gel G, kadang-kadang untuk mempermudah identifikasi ditambahkan zat yang berfluoresensi dikenal sebagai silika gel GF.

Pelaksanaan pemilihan pelarut pengembang harus disesuaikan dengan lapisan penyerap. Fase gerak sebaiknya dipilih yang polaritasnya rendah, karena jika polaritasnya tinggi menyebabkan mudah lepasnya lapisan penyerap dari lempeng pendukung dan mekanisme berubah menjadi partisi. Campuran fase gerak sebaiknya dua atau tiga komponennya saja dengan kualitas pro analisis.

Setelah pengembangan, hasil pemisahan dapat dideteksi dengan metode kimia, fisika dan biologi. Secara fisika untuk substansi yang berwarna sehingga nampak dengan sinar matahari atau untuk substansi yang berfluoresensi pada sinar UV. Cara kimia dengan penyemprotan atau diuapi dengan pereaksi yang sesuai sehingga bercak menjadi berwarna. Sehingga tidak dapat dilihat secara visual, maka dilihat di bawah sinar UV. Setelah penyemprotan, perlu dipanaskan agar warna yang terbentuk secara optimum (Stahl, 1985).

Jarak pengembangan senyawa pada kromatogram biasanya dinyatakan dengan harga R_f/hR_f .

$$R_f = \frac{\text{jarak titik pusat bercak dari titik awal}}{\text{Jarak garis depan dari titik awal}}$$

Harga hR_f diperoleh dengan mengalikan R_f dengan faktor 100 (Stahl, 1985).

Pelarut yang tidak murni menghasilkan pemisahan yang kurang baik, sedangkan jika dipakai campuran pelarut maka perbandingannya harus dipenuhi. Permukaan lapisan yang tidak rata atau berbeda tebalnya akan memberikan R_f yang berbeda, tebal bahan yang biasa digunakan $\pm 0,25\text{mm}$. Hasil pemisahan dalam dua bejana yang mempunyai kejenuhan berbeda juga memberikan hR_f yang tidak sama (Stahl, 1985).

Faktor kesetimbangan sangat berpengaruh pada gerakan fase gerak, sehingga perlu diusahakan ruang dalam bejana jenuh oleh pelarut, jika tidak maka permukaan terlihat cekung. Sifat kimia, seperti mudah larut, tekanan uap dan polaritas dapat mempengaruhi harga R_f suatu senyawa dibandingkan senyawa lain (Stahl, 1985).

B. Keterangan empiris

Keterangan empiris yang ingin diperoleh yaitu mengetahui aktivitas antifungi ekstrak daun sembung terhadap *Candida albicans* dan *Trichophyton rubrum* dan profil Kromatografi Lapis Tipisnya.

BAB III

CARA PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan yang digunakan

Meliputi daun Sembung yang diserbuk, pelarut-pelarut untuk ekstraksi antara lain Petroleum eter, etil asetat, etanol 70%, aquadest, NaCl 0,9%, PEG 400, ketokonazol, media jamur *Candida albicans* dan *Tricophyton rubrum*. Kemudian bahan-bahan untuk identifikasi (KLT) adalah fase diam dan fase gerak yang disesuaikan dengan fraksi yang aktif mengikuti literatur.

2. Alat-alat yang digunakan

Seperangkat alat untuk ekstraksi (percolator), seperangkat alat untuk pengujian daya hambat fungi, dan seperangkat alat untuk identifikasi kandungan ekstrak daun Sembung.

B. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan sampel

Pengambilan sampel meliputi pengumpulan daun sembung yang diperoleh dari kebun BPTO Tawangmangu Solo. Selain itu juga dilakukan pengambilan sampel jamur untuk pengujian (*Candida albicans* dan *Tricophyton rubrum*) yang diperoleh dari laboratorium Mikrobiologi FKU UGM.

2. Determinasi tanaman Sembung.

Daun Sembung diperoleh dari budidaya kebun tanaman obat BPTO, kemudian dideterminasikan di laboratorium BPTO Tawangmangu-Solo.

3. Pembuatan serbuk kering daun sembung

Daun yang masih segar dibersihkan dari kotoran-kotoran yang menempel dengan cara dicuci menggunakan air bersih yang mengalir kemudian ditiriskan. Bahan yang telah bersih dikeringkan di dalam oven yang bersuhu 50^oC selama 72 jam. Bahan yang telah kering diserbuk menggunakan blender dan diayak dengan menggunakan ayakan no.40

4. Penyarian serbuk

Serbuk kering seberat 40 gram dimaserasi dengan petroleum eter selama 3 jam. Siapkan alat perkolator letakkan kapas yang diatur diatas dan dibawah kertas saring dileher perkolator tepat diatas kran taruh sistent atau pasir laut lapis kembali dengan kertas saring letakkan serbuk yang tadi dimaserasi dengan hati-hati tutup dengan kertas saring kemudian tuangi cairan penyari yaitu petroleum eter sampai 1 cm diatas serbuk, tutup dengan plastik pada bagian mulut perkolator atur tetesan perkolat dijaga agar tetap ada selapis cairan penyari diatas serbuk. Penyarian dihentikan sampai perkolat yang dihasilkan berwarna bening. Sisa perkolasi diambil dengan berlahan begitu pula seperangkat alatnya keringkan dengan diangin anginkan dari penyari sebelumnya lakukan hal serupa dengan cairan penyari chloroform dan etanol ampas terakhir dengan penyari etanol

dibuang perkolat dipekatkan dengan *evaporator* dengan suhu 50°C dan kecepatan 90 rpm dan masukkan dalam eksikator sehingga didapat ekstrak kental. Masing-masing ekstrak diujikan kejamur *C. albicans* dan *T. rubrum* ekstrak yang aktif menghambat pertumbuhan jamur di buat seri kadar 20%, 10%, 5%, 2,5%.

5. Uji mikrobiologi

Uji mikrobiologi dilakukan dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- a. Sterilisasi. Alat dan bahan yang digunakan untuk uji mikrobiologi disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15-20 menit.
- b. Pembuatan media yaitu sabouroud dekstroza agar sebanyak 16,4 gram dilarutkan dalam 250 ml *aquadest* kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 15 psi selama 15-20 menit, tuang dalam petri dan dinginkan hingga media memadat.
- c. Pembuatan stok jamur. Masing-masing jamur (*C. albicans* dan *T. rubrum*) dari biakan murni diambil sebanyak satu ose dan digoreskan pada media agar miring sabouroud dekstroksa agar. Tabung yang berisi *C. albicans* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dan 14X24 jam untuk *T. rubrum*. Setelah tumbuh jamur, tabung disimpan pada suhu 4°C sebagai stok jamur.
- d. Pembuatan inokulum jamur. Jamur diambil satu mata ose dari stok kemudian dicampurkan kedalam media cair nutrien broth 5 ml dalam tabung reaksi. Kemudian diinkubasikan diatas penggojok selama 24 jam untuk *C. albicans* dan 14X24 jam untuk *T. rubrum*.

e. Uji pendahuluan aktivitas ekstrak daun sembung terhadap fungi dilakukan dengan cara inokulum jamur diambil dengan menggunakan pipet tetes kemudian dicampur dengan larutan fisiologis NaCl 0,9% dalam tabung hingga sesuai dengan standar Brown dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml. Dari larutan tersebut diambil 0,5 ml dan dicampurkan 25 ml media sabouroud dekstroksa agar yang sudah dingin tapi belum memadat, tuang dalam cawan petri biarkan memadat. Pada permukaan media dibuat sumuran, masing-masing larutan ekstrak dengan kadar 100% diteteskan kedalam sumuran menggunakan mikropipet sebanyak 100 μ l, lalu inkubasikan *C.albicans* selama 24 jam dan *T. rubrum* 14X24 jam pada suhu 37°C . fraksi yang aktif di buat seri kadar

f. Penyiapan larutan uji. Larutan uji dibuat dari masing-masing fraksi yaitu fraksi petroleum eter, fraksi kloroform dan fraksi etanol. Masing-masing fraksi tersebut dilarutkan dalam pelarut yang sesuai dan dibuat seri kadar 20%, 10%, 5%, 2,5%. Untuk membuat seri kadar, mula-mula dibuat larutan awal 20 % dari setiap fraksi dengan cara pengambilan ekstrak pekat sebanyak 1 g kemudian ditambah PEG 400 sebanyak 5 ml diperoleh larutan dengan volume 5 ml. Dari larutan awal ini dibuat seri pengenceran hingga diperoleh kadar 2,5%. Pengenceran dilakukan dengan cara menyiapkan sebanyak 3 flakon yang masing-masing berisi 2 ml PEG 400. Pertama, diambil 2 ml larutan awal 20% dan dimasukkan ke dalam flakon pertama sehingga kadar larutan menjadi setengah dari kadar larutan awal yaitu 10%. Dari flakon pertama diambil sebanyak 2 ml larutan dan dimasukkan ke dalam flakon kedua sehingga kadar larutan menjadi 5%. Dari flakon kedua

diambil 2 ml larutan dan dimasukkan ke dalam flakon terakhir sehingga kadar larutan menjadi 2,5%.

g. Uji aktivitas ekstrak daun sembung dengan berbagai kadar menggunakan difusi agar cara sumuran. Dibutuhkan tiga buah petri untuk setiap jenis jamur, setiap petri digunakan untuk menguji fraksi petroleum eter, kloroform dan etanol. Pada uji ini digunakan 2 jenis jamur, yaitu *T. rubrum* dan *C. albicans*. Sehingga jumlah petri yang digunakan adalah sebanyak enam buah. Masing-masing petri dituangi dengan 25 ml media sabourout dekstroksa agar yang telah dicampur dengan 0,5 ml suspensi jamur. Media dibiarkan membeku kemudian dibuat sumuran dengan diameter sebesar 5 mm. Pada setiap sumuran dimasukkan larutan uji sebanyak 100 µl. Untuk kontrol negatif digunakan PEG 400 yang digunakan untuk melarutkan setiap fraksi sedangkan untuk kontrol positif digunakan ketokonazol 20% dalam DMSO yang telah diketahui aktivitas antibakterinya. Kemudian media diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam untuk *C. albicans* dan 14X24 jam untuk *T. rubrum*. Hasil uji antifungi diperoleh dengan mengukur diameter zona hambatan radikal.

h. Penentuan KHM, menggunakan metode dilusi cair

Untuk menentukan KHM dengan metode dilusi, yaitu dengan cara siapkan tujuh tabung reaksi steril yang disusun dalam rak, untuk masing – masing ekstrak. Tabung kedua sampai ketujuh diisi dengan 1 ml PEG 400. Tabung pertama dan kedua diisi dengan 1 ml kadar 1,25 % ekstrak daun sembung. Dilakukan pengenceran serial mulai tabung kelima dengan cara mengambil 1 ml campuran PEG 400 dan ekstrak dari tabung kedua kemudian dimasukkan kedalam tabung

ketiga. Hal yang sama dilakukan sampai tabung kelima sehingga didapat seri kadar 1,25%, 0,63%, 0,31%, 0,16%, 0,08%. Tabung pertama sampai tabung kelima diberi larutan suspensi jamur dalam media sabourout masing masing sebanyak 1 ml. Tabung keenam merupakan kontrol positif yang berisi 1 ml PEG 400 dan larutan suspensi jamur dalam sabourout. Tabung ketujuh merupakan kontrol negatif yang berisi 1ml PEG 400 1ml sabourout. Langkah kerja tersebut dilakukan untuk fraksi PE, chloroform dan etanol, sehingga didapat tabung 15 buah yang kemudian di inkubasikan pada suhu 37°C selama 14X24 jam. Tabung-tabung uji yang berisi suspensi jamur dibandingkan dengan tabung kontrol positif dan negatif, apabila didapatkan kekeruhan dalam tabung uji yang serupa dengan kekeruhan dalam tabung kontrol negatif menunjukkan bahwa pertumbuhan jamur tidak dihambat. Apabila pada tabung uji didapat kejernihan yang serupa dengan tabung kontrol positif menunjukkan bahwa pertumbuhan jamur dihambat. Nilai KHM ekstrak daun sembung didefinisikan sebagai konsentrasi terendah ekstrak daun sembung yang masih menghambat pertumbuhan jamur, ditandai dengan tabung uji yang terlihat jernih.

6. Identifikasi kandungan senyawa kimia dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa kimia fraksi petroleum eter, kloroform dan etanol dilakukan dengan metode KLT menggunakan fase gerak heksana-etil asetat-metanol (70-20-10) v/v sebagai pereaksinya amoniak dan toluen-etil asetat (95-5) sebagai fase gerak non polar pereaksinya vanilin asam sulfat. Fase diam silika gel

GF₂₅₄, plat yang digunakan berukuran lebar 3 cm dan panjang 10 cm, sedangkan jarak rambatnya adalah 8 cm. Setiap fraksi dilarutkan kembali dalam pelarut masing-masing dan ditotolkan pada plat KLT tersebut menggunakan pipa kapiler. Setelah ditotolkan dibiarkan sebentar untuk menghilangkan pelarutnya kemudian dikembangkan di dalam bejana yang telah dijenuhi dengan fase gerak. Deteksi senyawa kimia menggunakan sinar visibel, sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 365 nm. Pada deteksi senyawa dengan menggunakan pereaksi semprot tertentu, setelah kromatogram disemprot dengan pereaksi semprot tersebut kemudian dipanaskan di dalam oven pada suhu 110°C selama 10 menit. Warna bercak yang terbentuk diamati dan dihitung hRf-nya.

C. Analisis Hasil

1. Hasil uji aktivitas antifungi ekstrak daun sembung pada jamur *Candida albicans* dan *Tricophyton rubrum* diamati dengan mencatat jari-jari hambatan dari berbagai konsentrasi dan diuji dengan analisis statistik ANOVA dua arah dan apabila ada perbedaan yang signifikan dilanjutkan dengan uji Duncan
2. Hasil pemeriksaan kandungan senyawa
Bercak yang didapatkan setelah direaksikan dengan pereaksi semprot, dihitung harga Rf nya. Dari ketiga ekstrak yang mempunyai harga Rf sama yang kemungkinan punya aktivitas sebagai antifungi.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Determinasi Tanaman

Dari hasil pemeriksaan di laboratorium BPTO Tawangmangu tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar – benar daun tanaman sembung. Hasil determinasi lihat lampiran no. 1

Deskripsi tanaman:

Habitus semak menahun, tinggi 4 – 3 meter. Batang bulat warna hijau, berbulu. Daun tunggal, tersebar, panjang 8 – 40 cm, lebar 2 – 20 cm, bentuk oval, ujung runcing, pangkal runcing, tepi bergigi, mempunyai daun tambahan, warna hijau, berbulu. Bunga majemuk, karangan bentuk malai, anak bunga berkelompok membentuk tabung, berisi 8 – 25, tabung corola panjang 5 – 7 mm, warna putih, saat tua terbang terbawa angin.

B. Pembuatan Serbuk

Pengeringan menggunakan oven dimaksudkan agar suhu pengeringan tetap stabil sehingga diperoleh hasil pengeringan serbuk yang merata. Tujuan pengeringan antara lain adalah untuk mengurangi kadar air dalam daun sekitar 10%, untuk menghentikan proses enzimatik, dan menghindari tumbuhnya mikroorganisme. Daun yang telah kering ditandai dengan kerapuhan dan mudah patah.

Setelah dikeringkan, bahan diserbuk menggunakan blender kemudian diayak dengan menggunakan ayakan no.40. Penyerbukan bahan bertujuan untuk mengecilkan ukuran bahan sehingga meningkatkan luas permukaannya. Dengan bertambahnya luas permukaan maka semakin besar peluang bahan untuk kontak dengan penyari sehingga kandungan senyawa kimia yang tersari lebih banyak. Hal ini merupakan salah satu upaya untuk mengoptimalkan proses penyarian. Dengan ukuran serbuk 40 mesh diharapkan merupakan ukuran yang paling optimal dalam penyarian.

C. Penyarian Serbuk

Untuk mendapatkan kandungan senyawa kimia yang diinginkan dilakukan penyarian serbuk daun sembung. Penyarian serbuk seberat 40 gram menggunakan alat Perkolasi. Pemilihan metode penyarian menggunakan alat Perkolasi karena penyariannya yang sempurna dan cocok untuk menyari bahan yang memiliki kandungan senyawa kimia yang termolabil.

Metode penyarian ini menggunakan tiga jenis pelarut yang berbeda polaritasnya. Penyari yang digunakan berturut-turut adalah petroleum eter yang bersifat non polar, kloroform yang bersifat semi polar dan etanol yang bersifat polar. Penggunaan tiga jenis penyari yang berbeda polaritasnya dikarenakan di dalam tanaman terdapat berbagai senyawa kimia yang berbeda pula polaritasnya. Dengan demikian senyawa yang bersifat non polar akan larut di dalam petroleum eter, dalam literatur adalah minyak asiri. Senyawa yang bersifat semi polar akan

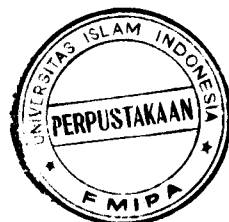
terlarut di dalam kloroform antara lain flavonoid dan senyawa yang paling polar terlarut di dalam etanol contohnya alkaloid, glikosida, tanin

Penyarian dengan petroleum eter dilakukan sampai proses penyarian berlangsung sempurna yang ditandai dengan penyari tidak berubah warna lagi. Setelah itu, serbuk dikeluarkan dan diangin-anginkan untuk menghilangkan pelarutnya kemudian diekstraksi kembali dengan penyari yang lebih polar yaitu Chloroform selanjutnya Etanol.

Masing-masing fraksi yang dihasilkan dari penyarian yang menggunakan pelarut petroleum eter, kloroform dan etanol dipekatkan dengan evaporator dengan suhu 50°C dan kecepatan 90 rpm dan masukkan dalam eksikator, hingga diperoleh ekstrak kental. Masing-masing fraksi yang telah kental ditimbang dan dihitung rendemennya. Bobot kering masing-masing fraksi dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Bobot kering dan rendemen masing-masing fraksi dari 40 g serbuk daun sembung

Fraksi	Ekstrak kental (gram)	Rendemen (%)
Petroleum eter	2,01	5,0
Kloroform	2,24	5,6
Etanol	1,75	4,4



D. Uji Mikrobiologi

1. Sterilisasi

Sebelum dilakukan uji mikrobiologi, alat-alat dan bahan yang akan dipergunakan disterilkan terlebih dahulu. Sterilisasi dimaksudkan untuk membunuh semua bentuk mikroorganisme, baik bentuk vegetatif maupun bentuk spora. Dengan demikian dapat dicegah pencemaran dari luar dan mikroorganisme yang ditumbuhkan benar-benar adalah mikroorganisme yang digunakan dalam penelitian. Sterilisasi alat dan bahan menggunakan alat *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 sampai 20 menit.

2. Uji aktivitas antifungi

a. Uji pendahuluan aktivitas antifungi ekstrak daun sembung

Uji pendahuluan aktivitas antifungi ekstrak daun sembung menggunakan metode difusi sumuran dimana pada media berisi jamur yang telah membeku dibuat beberapa lubang sumuran. Kemudian ditetaskan ekstrak daun sembung dengan kadar 100%, diperoleh hasil sebagai berikut terlihat pada tabel II.

Tabel II. Hasil uji pendahuluan aktivitas antifungi ekstrak daun sembung kadar 100% terhadap *C. albicans* dan *T. rubrum*

Fungi	Zona hambatan
<i>T. rubrum</i>	+++
<i>C. albicans</i>	---

Keterangan : +++ adanya zona hambatan disekitar sumuran

--- tidak adanya zona hambatan disekitar sumuran

Dilihat dari data diatas ekstrak daun sembung menghasilkan zona hambatan terhadap jamur *T. rubrum*, tetapi tidak menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Ketiga fraksi ekstrak daun sembung yaitu petroleum eter, kloroform dan etanol mempunyai aktivitas terhadap fungsi *T. rubrum*, sedangkan uji dengan fungsi *C. albicans* menunjukkan bahwa tidak ada satupun fraksi yang mampu membunuh atau menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*.

b. Uji aktivitas antifungi ekstrak daun sembung dengan berbagai kadar

Setelah diketahui bahwa ekstrak daun sembung mempunyai aktivitas terhadap *T. rubrum*, maka pengujian dilanjutkan menggunakan berbagai seri kadar yaitu kadar ; 20%, 10%, 5%, 2,5%, kontrol negatif dan kontrol positif. Masing-masing larutan yang diteteskan ke dalam sumuran adalah sebesar 100 µl. Kemudian larutan akan berdifusi dari sumuran menuju ke media dan aktivitas antifungi akan menghasilkan daerah jernih di sekitar sumuran. Sebagai kontrol positif ketokonazol 20% dalam DMSO dan kontrol negatif, yaitu PEG 400. Alasan penggunaan PEG 400 karena selain secara umum dapat melarutkan fraksi, juga diketahui tidak memiliki aktivitas antifungi. Jika pelarut yang digunakan untuk melarutkan fraksi juga memiliki aktivitas antifungi, maka sulit ditentukan apakah yang menghambat pertumbuhan fungsi tersebut adalah larutan uji atau pelarutnya. Penggunaan ketokonazol sebagai kontrol positif dikarenakan ketokonazol memiliki aktivitas antifungi spektrum luas.

Setelah diinkubasi selama 14X24 jam pada suhu 37⁰C hasil uji dapat dilihat berupa adanya zona radikal di sekeliling sumuran, Zona radikal ini merupakan zona jernih yang sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan fungsi. Selain

zona radikal, biasanya juga terdapat zona irradikal yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan fungi tetapi tidak dimatikan (Anonim, 1993),

Pengujian menggunakan difusi cara sumuran dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain kemampuan difusi dan ukuran dari molekul senyawa serta keadaan media yang meliputi ketebalan dan kepadatan media. Adanya faktor-faktor tersebut dapat mempengaruhi besarnya diameter zona hambatan pada setiap replikasi. Sehingga perlu dilakukan replikasi beberapa kali untuk memantapkan hasil uji. Seluruh diameter zona hambatan dianalisis menggunakan statistik analisis varian (anava) dua arah. Apabila dari hasil anava terdapat perbedaan yang bermakna maka dilanjutkan dengan uji Duncan

Hasil pengukuran diameter hambatan aktivitas antifungi dari fraksi petroleum eter, kloroform dan etanol dapat dilihat pada tabel III.

Semua fraksi ekstrak daun sembung dapat menghambat pertumbuhan *T. rubrum* pada keempat seri kadar. Selain itu, hasil uji menunjukkan semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka diameter zona radikal semakin besar yang berarti aktivitas antifungi meningkat sebanding dengan peningkatan konsentrasi.

Tabel III. Hasil uji mikrobiologi aktivitas antifungi masing-masing fraksi dari daun sembung dengan berbagai kadar terhadap jamur *Tricophyton rumbrum*

Ekstrak	Kadar (%)	Zona hambatan (mm)			Rerata ± SD
		X ₁	X ₂	X ₃	
Petroleum Eter	2,5	6	2	8	5,33±3,06
	5	10	8	8	8,67±1,15
	10	14	20	14	16,00±3,46
	20	36	20	30	28,67±8,08
Kloroform	2,5	12	2	6	6,67±5,03
	5	20	14	16	16,67±3,06
	10	24	14	20	19,33±5,03
	20	32	18	28	26,00±7,21
Etanol	2,5	2	2	2	2,00±0,00
	5	8	4	2	4,67±3,06
	10	14	8	12	11,33±3,06
	20	18	14	12	14,67±3,06
Kontrol (+)	20	40	40	40	40,00±0,00
Kontrol (-)	-	0	0	0	0,00±0,00

Keterangan :

1. Diameter (mm) terukur adalah zona radikal tidak termasuk diameter sumuran (5mm) dan merupakan nilai rata-rata
2. X₁, X₂, X₃ merupakan replikasi
3. Kontrol negatif adalah PEG 400
4. Kontrol positif adalah Ketokonazol

Hasil pengukuran diameter hambatan dianalisis secara statistik menggunakan analisis varian (anova) dua arah menunjukkan analisis satu faktor terlihat bahwa F hitung kadar adalah 34,404 dengan probabilitas 0,000. Karena probabilitas < 0,05 maka H₀ ditolak berarti rata-rata hambatan memang berbeda secara nyata untuk tiap kadar. Analisis perbedaan rata-rata hambatan terhadap ekstrak F hitungnya 23,738 dengan probabilitas 0,000 karena probabilitas < 0,05 maka H₀ ditolak berarti rata-rata hambatan memang berbeda secara nyata untuk tiap ekstrak. Sedangkan keputusan analisis dua faktor adalah terlihat bahwa F hitung (kadar*ekstrak) adalah 1,731 dengan probabilitas 0,151 karena probabilitas > 0,05 H₀ diterima berarti tidak ada interaksi antara ekstrak dan kadar

terhadap hambatan, selanjutnya dilakukan uji pembandingan ganda dengan metode Duncan hasilnya terlihat bahwa dari kelima ekstrak (PE, chloroform, etanol kontrol + dan kontrol -) berbeda secara signifikan, terlihat dari kelima ekstrak yang mempunyai pengaruh besar terhadap hambatan adalah kontrol + ketokonazol 20% yang paling kecil kontrol – berisi PEG 400. Sedangkan dari keempat variasi kadar ketiga ekstrak yang punya pengaruh besar terhadap hambatan adalah kadar 20% dan terkecil kadar 2,5%. Dengan melihat hasil analisis uji Duncan dari ketiga ekstrak yang efektif sebagai antifungi adalah ekstrak petrolium eter dan chloroform karena kedua ekstrak mempengaruhi nilai hambatan dalam Subset sama dengan nilai PE 14,67 dan kloroform 17,17 yang artinya berbeda tetapi tidak bermakna dalam mempengaruhi diameter hambatan. Aktivitas ekstrak daun sembung berhubungan dengan kadar, aktivitas penghambatan akan naik dengan adanya kenaikan kadar obat antifungi (Jawez dkk,1986)

c. Penentuan KHM dengan menggunakan metode dilusi cair

Dengan demikian KHM dari ekstrak daun sembung belum ditemukan maka dibuat seri kadar yang lebih rendah lagi tapi pengujiannya menggunakan metode dilusi cair.

Hasil pengamatan KHM ekstrak daun sembung terhadap *Tricophyton rubrum* terlihat pada tabel IV.

Tabel IV. Hasil penentuan KHM masing – masing ekstrak daun sembung terhadap *T. rubrum* dengan seri kadar lebih rendah

Ekstrak	Seri kadar(%)	KHM		
		X ₁	X ₂	X ₃
PE	1,25	+	+	+
	0,63	+	+	+
	0,31	+	+	+
	0,16	+	+	+
	0,08	-	-	-
Chloroform	1,25	+	+	+
	0,63	+	+	+
	0,31	+	+	+
	0,16	-	-	-
	0,08	-	-	-
Etanol	1,25	+	+	+
	0,63	+	+	+
	0,31	-	-	-
	0,16	-	-	-
	0,08	-	-	-
Kontrol -		-	-	-
Kontrol media		+	+	+

Keterangan:

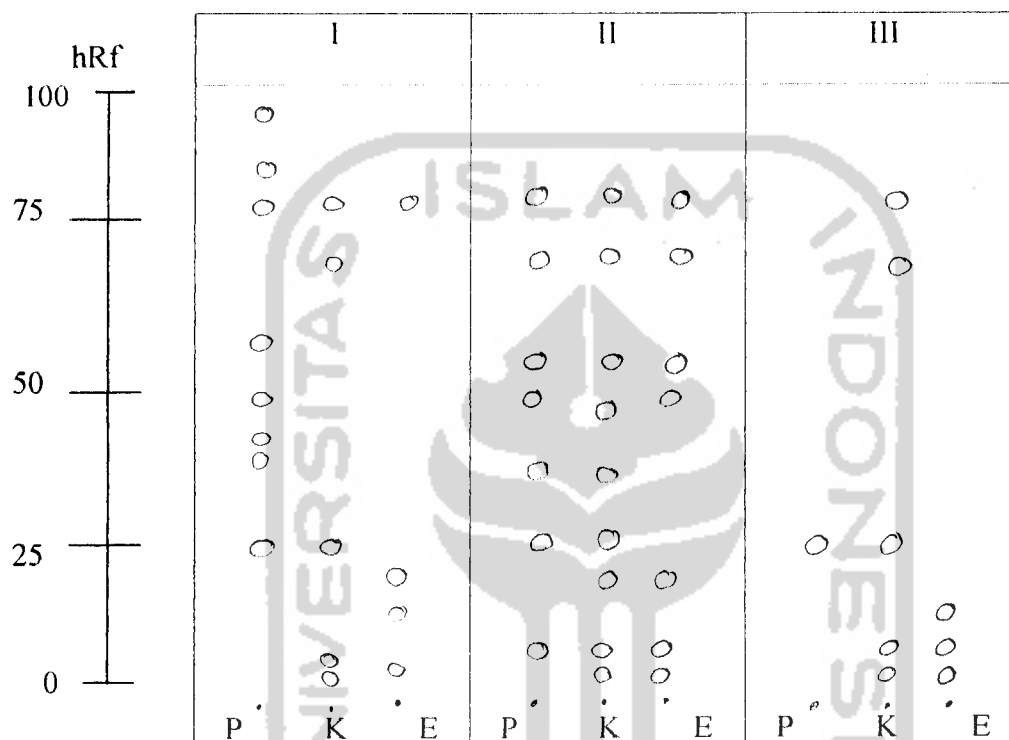
- 1 nilai negatif (-) artinya tidak ada hambatan pertumbuhan jamur *T. rubrum* oleh ekstrak daun sembung
- 2 nilai positif (+) artinya ada hambatan pertumbuhan jamur *T. rubrum* oleh ekstrak daun sembung
- 3 X₁, X₂, X₃ merupakan replikasi
- 4 Kontrol media adalah PEG 400 + media sabourout
- 5 Kontrol negatif adalah PEG 400 + suspensi jamur dalam sabourout

Dengan melihat tabel hasil KHM ekstrak daun sembung terhadap jamur *T. rubrum* menggunakan metode dilusi cair terlihat semakin polar fraksi ekstrak daun sembung nilai KHMnya semakin tinggi. Jika dihubungkan dengan hasil KLT ada beberapa spot senyawa yang muncul pada ketiga fraksi ekstrak dengan harga hRf sama. Menurut Harbone (1987) suatu penyarian yang sempurna untuk memisahkan kandungan senyawa kimia berdasarkan polaritasnya sulit dicapai karena kadang terdapat senyawa kimia yang sama (dalam perbandingan yang berbeda) pada beberapa ekstrak meskipun telah digunakan penyari dengan polaritas yang berbeda. Kemungkinan senyawa dengan harga hRf spotnya sama

yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *T. rubrum* sehingga menghasilkan harga KHM positif pada ketiga ekstrak, hanya yang berbeda pada kadarnya, semakin tinggi konsentrasi pada fraksi polar dan kadar terendah pada fraksi non polar. Karena pada metode pemisahan zat aktif dengan KLT belum bisa menunjukkan kuantitas dari senyawa yang terlarut hanya kualitasnya saja (ada / tidak) atau dimungkinkan juga senyawa – senyawa yang menghambat pertumbuhan jamur pada setiap ekstrak memang berbeda dan efektifitas penghambatannya juga berbeda.

Aktifitas penghambatan pertumbuhan *T. rubrum* oleh ketiga ekstrak daun sembung menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terkandung didalamnya dapat digunakan sebagai antifungi dan diperkirakan memiliki efektifitas untuk menghambat pertumbuhan *T. rubrum*. Peristiwa penghambatan tersebut diperkirakan karena kemampuan senyawa aktif dapat merubah komponen penyusun sel yaitu dengan jalan reaksi penghambatan metabolisme pada tingkat molekuler, yang diperkirakan merubah molekul protein dan asam nukleat dengan jalan mendenaturasi, pendenaturasian protein dan asam nukleat merusak sel secara tetap tanpa dapat diperbaiki lagi (Pelezar dan Chan 1986). Sedangkan pertumbuhan *C. albicans* tidak terhambat oleh ketiga ekstrak daun sembung diperkirakan karena perbebaan komposisi senyawa pembungkus sel antara *T. rubrum* dan *C. albicans*, selain itu diperkirakan *C. albicans* menggunakan senyawa- senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sembung sebagai substrat pertumbuhannya, dimungkinkan juga jamur ini dapat menghasilkan enzim- enzim yang dapat mendegradasi senyawa – senyawa aktifnya yang

Hasil KLT dari ekstrak petroleum eter, kloroform dan etanol dapat dilihat sebagai berikut..



Gambar 2: Profil KLT ekstrak daun sembung

Keterangan :

- Fase diam : silika gel GF₂₅₄
- Fase gerak : heksan-etil asetat-metanol (70-20-10)
- Deteksi : I. Sinar UV 254
II. Sinar UV 365
III. Sinar Visibel
- Pereaksi : amoniak
- P : Ekstrak Petroleum Eter
- K : Ekstrak Chloroform
- E : Ekstrak Etanol

Tabel V. Harga hRf dan warna bercak pengembangan fraksi petroleum eter, kloroform, dan etanol (gambar 12, 13, 14 dan lampiran 5)

Fraksi	No	Deteksi					
		Visibel		UV _{254 nm}		UV _{365 nm}	
		HRf	Warna	HRf	Warna	HRf	Warna
Petroleum Eter	1	-	-	-	-	7	M
	2	21	K	21	R	21	Bt
	3	-	-	-	-	30	M
	4	-	-	33	R	-	-
	5	-	-	36	R	-	-
	6	-	-	40	R	40	M
	7	-	-	-	-	45	M
	8	-	-	49	R	-	-
	9	-	-	-	-	58	M
	10	-	-	67	R	67	Bm
	11	-	-	71	R	-	-
	12	-	-	79	R	-	-
Kloroform	1	4	Hm	4	R	4	M
	2	7	Kb	7	R	7	M
	3	-	-	-	-	16	Mm
	4	21	Hm	21	R	21	Bt
	5	-	-	-	-	30	M
	6	-	-	-	-	40	M
	7	-	-	-	-	45	M
	8	58	Kb	58	R	58	M
	9	-	-	-	-	-	-
Etanol	1	4	Hj	4	R	4	M
	2	7	Kb	-	-	7	M
	3	12	Kb	12	R	-	-
	4	-	-	17	R	17	Mm
	5	-	-	-	-	45	M
	6	-	-	-	-	40	M
	7	-	-	-	-	55	M
	8	-	-	-	-	58	M
	9	-	-	62	R	62	M

Tabel VI. Harga hRf dan warna bercak pengembangan fraksi petroleum eter, kloroform, dan etanol (gambar 15, 16, 17 dan lampiran 6)

Fraksi	No	Deteksi					
		Visibel		UV _{254 nm}		UV _{365 nm}	
		HRf	Warna	HRf	Warna	HRf	Warna
Petroleum eter	1	-	-	7	R	7	M
	2	13	Mm	13	R	-	-
	3	-	-	-	-	17	M
	4	22	M	22	R	-	-
	5	39	M	39	R	-	-
	6	56	M	-	-	-	-
	7	60	M	-	-	-	-
	8	-	M	70	R	-	-
	9	80	M	-	-	-	-
Kloroform	1	4	Kb	-	-	4	M
	2	-	-	7	R	7	M
	3	13	Kb	13	R	13	M
	4	-	-	17	R	17	Mm
Etanol	1	4	Kb	-	-	4	M
	2	-	-	-	-	13	M
	3	-	-	-	-	17	Mm

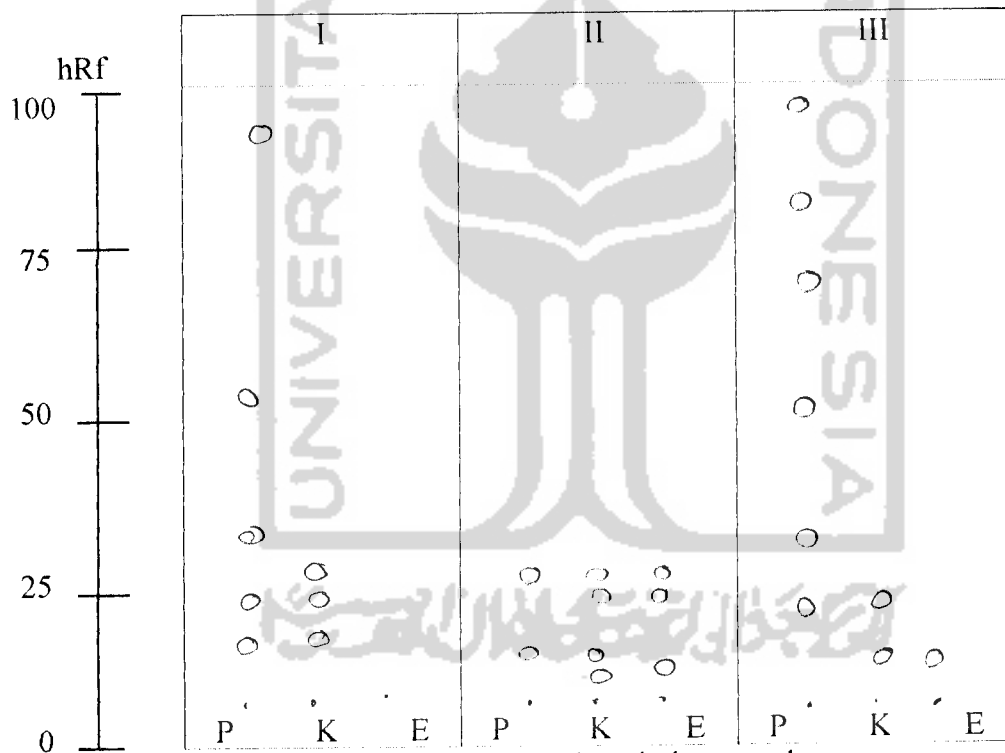
Keterangan :

- B : biru
- Bm : biru muda
- Bt : biru tua
- Hm : hijau muda
- K : kuning
- Kb : kelabu
- M : merah
- Mm : merah muda
- Mv : merah violet
- R : redam

Keterangan :

B : biru
 Bm : biru muda
 Bt : biru tua
 Hm : hijau muda
 K : kuning
 Kb : kelabu
 M : merah
 Mm : merah muda
 R : redam

Hasil KLT dari ekstrak daun sembung dapat dilihat pada gambar 3 berikut:



Gambar 3: Profil KLT ekstrak daun sembung

Keterangan :

Fase diam : silika gel GF₂₅₄
 Fase gerak : toluen-etil asetat (95-5)
 Deteksi : I. Sinar UV 254
 II. Sinar UV 365
 III. Sinar Visibel
 Pereaksi : vanilin asam sulfat
 P : Ekstrak Petroleum Eter
 K : Ekstrak Chloroform
 E : Ekstrak Etanol

Dari hasil KLT ketiga ekstrak daun sembung didapat banyak spot senyawa pada masing-masing spot bukan merupakan senyawa tunggal. dimungkinkan spot dengan harga Rf sama pada masing-masing ekstrak yang mempunyai aktifitas sebagai antifungi.

Menurut pustaka daun sembung mengandung senyawa – senyawa antara lain alkaloid, saponin, flavonoid, minyak atsiri, senyawa – senyawa ini telah diketahui dapat digunakan sebagai antifungi.

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang merupakan derivat dari fenol. Senyawa fenol banyak diketahui mempunyai aktifitas antifungi, dengan cara menghambat pertumbuhan dan penetrasi fungi (Anonim, 1969). Mekanisme penghambatan pertumbuhan fungi dengan cara koagulasi protein, jika protein terkoagulasi maka fungi tidak dapat tumbuh.

Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang umumnya menghambat mikroorganisme dengan cara merusak, mengganggu keutuhan fungsi membran sel. Dengan rusaknya membran sel maka mengakibatkan hilangnya kandungan sitoplasma dan pada kadar tinggi lisisnya sel (Nogrady, 1992) sehingga senyawa saponin bersifat sebagai antifungi.

Senyawa minyak atsiri akan menyebabkan lisisnya membran lipoprotein sehingga menyebabkan terhambatnya pertumbuhan sel (Prasasty dkk, 2003). Lisisnya membran lipoprotein maka komponen dalam sel akan keluar dari sel sehingga pertumbuhan sel terganggu menyebabkan kematian pada sel.

Analisis golongan senyawa menggunakan fase gerak Hexan-Etil asetat-Metanol (70-20-10) dengan pereaksi amoniak mengarah pada pemeriksaan

flavonoid dan senyawa polifenol lainnya. Fase gerak toluen-etil asetat (95-5) dengan pereaksi Vanilin asam sulfat mengarah pada pemeriksaan minyak atsiri, saponin, dan senyawa – senyawa terpenoid. Tetapi tidak menuntut kemungkinan dapat mendeteksi golongan senyawa – senyawa yang lain yang sifat kepolarannya hampir sama. Karena golongan senyawa pada tumbuhan yang satu dengan yang lain tidak sama, perlu adanya orientasi.

Deteksi golongan senyawa dengan sinar UV 254 dan UV 365 dilakukan sebelum penyemprotan dengan pereaksi untuk melihat pemisahan bercak spot suatu golongan senyawa. Deteksi dengan sinar visibel dilakukan setelah plat dismprot oleh pereaksi kemudian dipanaskan pada suhu 110°C selama 5 menit.

◆ Flavonoid

Bercak glikosida flavonoid tampak khas berwarna ungu akan menjadi kuning atau hijau kuning bila diuapi amoniak. Selain warna tersebut terdapat juga sejumlah bercak lain seperti biru, biru muda, merah atau ungu. Deteksi flavonoid tanpa perlakuan kimia dapat dilihat dengan sinar UV 365, senyawa flavonoid berfluoresensi kuning, biru atau hijau tergantung pada struktur kimianya. Untuk mendeteksi senyawa golongan ini pengamatan warna bercak dibawah sinar UV 365 nm bercak berfluoresensi biru tua dengan nilai R_f 21 setelah diuapi amoniak menjafdi kuning pada ekstrak PE, hijau muda pada ekstrak chloroform dan ekstrak etanol yang diamati pada sinar tampak.

◆ Senyawa terpen

Untuk mendeteksi senyawa terpen digunakan pereaksi vanilin-asam sulfat, bisa juga untuk deteksi senyawa saponin. Warna yang ditimbulkan bervariasi merah

ungu, coklat merah, biru hijau, biru abu-abu, dan merah abu-abu (Wagner and Bladt, 1996). Untuk mendeteksi senyawa golongan ini pengamatan warna bercak dibawah sinar UV 365 nm, bercak tidak berwarna setelah disemprot dengan pereaksi vanilin asam sulfat menjadi merah dengan nilai hRf 80 pada ekstrak PE. Pada ekstrak chloroform berwarna merah setelah disemprot menjadi kelabu pada hRf 13 dan pada ekstrak etanol pada hRf 4.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

1. Ketiga ekstrak daun sembung memiliki aktivitas antifungi hanya terhadap fungi *T. rubrum* tetapi tidak terhadap jamur *C. albicans*.
2. Hasil KHM ekstrak daun sembung terhadap *T. rubrum*, pada ekstrak PE bernilai 0,16%, pada ekstrak Chloroform bernilai 0,31% sedang pada ekstrak etanol bernilai 0,63%.
3. Golongan senyawa yang bisa dideteksi dengan KLT pada ekstrak PE, chloroform dan etanol adalah terpen dan polifenol.

B. Saran

1. Perlu dilakukan isolasi dan identifikasi lebih lanjut terhadap senyawa yang memiliki aktivitas sebagai antifungi
2. Perlu dilakukan uji aktivitas antifungi dalam bentuk sediaan oral atau topikal

DAFTAR PUSTAKA

- Alexopoulos, C.J, Mims. C, W. 1979. *Intoductory Mycology*. Ed II. USA, Jhon Wiley and Gons. Inc.
- Andiranto, P. dan Sukardi, E. 1989, *Kapita Selekta Dermato – Venerologi*. Hal 53-63 Jakarta : Penerbit EGC.
- Anonim, 1969, *Fungisides an Advance Treatise. Chemistry and fisiologi*. Vol II. Dewayne C. Torgeson. (Ed). 396,643. New York. London : Academic Press.
- Anonim, 1986, *Sediaan Galenik*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1-28.
- Anonim, 1979, *Materia Medika Indonesia Jilid III*, Depkes RI, Jakarta, Hal:26 – 28.
- Anonim, 1993, *Dasar-dasar pemeriksaa mikrobiologi*, Fakultas kedokteran UGM Press, Yogyakarta.
- Anonim,2002.*Trichophytonrubrum*.www.mycologi.adelaide.edu.au/mycologi/mycos.nfs
- Arif Aliadi, Broto Sudiby, Djoko Hargono, Farouk, Sidik, Sutarydi, Suwijio Pramono, 1996, *Tanaman Obat Pilihan*, Hal: 236-240, Yayasan Sidowyan, Jakarta.
- Auterhoff Kovar, 1987, *Identifikasi obat*, penerbit ITB Bandung, hal; 34-35.
- Chatim, Usman, 1993, *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*, Binarupa aksara, Jakarta. Hal:103 – 111.
- Dalimartha S, 1999, *ATLAS Tumbuhan Obat Indonesia*, Jilid I.
- Fobrisher, Hinsdill, Crabtree, Goodhert., 1974., *Foundamentals Of Microbiology* Ed 9., W.B. Saunders Co., Philadelphia, London., hal 354-556
- Gupte, S., 1990, *Mikrobiologi Dasar*, Edisi ketiga, diterjemahkan oleh Julius E.S. Binarupa aksara, Jakarta, 68-69

- Harborne, J.B, 1984, *Metode fitokimia penuntun cara moderent menganalisis tumbuhan*. ITB Bandung, Hal: 9, 10, 13, 71, 73, 207, dan 209.
- Hargono, D, 1982., *Tanaman Obat Indonesia II.*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia., Jakarta., hal 20.
- Hutapea Johnny Ria, dkk, 1993, *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid II, Hal: 89-92, DEPKES RI, Badan penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A, 1986, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*, diterjemahkan oleh Edi Nugroho dan R.F Maulany, Penerbit Buku Kedokteran EGC , Jakarta 14 239-244 295-296.
- Khan, Z. K. Jain, P. 2000, *Antifungal Agents and Immunodilator in Systemic Mycoses*. [http : // www.proxy-mail.mailcity.lycos.com/bin/antifungal](http://www.proxy-mail.mailcity.lycos.com/bin/antifungal).
- Nogrady, T. 1992, *Kimia Medisinal*. Pendekatan secara Biokimia. Diterjemahkan oleh Raslim Rasyid dan Amir Musadad. Terbitan kedua, 21, Bandung : Penerbit ITB.
- Pelczar, M, 1986, *Dasar-dasar mikrobiologi*, Penerbit UI Press, Jakarta. Hal: 135–136.
- Pramono, S, 1998, *Potensi dan peluang obat tradisional dalam mengatasi masalah kesehatan disaat krisis*. Jurnal eksakta UII, Yogyakarta. Hal: 7-12.
- Prasasty, I., Suranto., Setyaningsih, R. 2003. “Aktifitas anti cendawan biji dan buah kapulaga lokal (*Amomum Cardamomum Willd*) terhadap *botrytis ci nerea* peras. Asal buah anggur (*Vitis sp*) “, *Biosmart Journal of Biological Science*. Vol 5. No.1. 64, Surakarta : jurusan Biologi FMIPA Universitas 11 Maret.
- Sastrohamidjojo. H, 1985, *Kromatografi*, Penerbit liberti, Yogyakarta. , hal: 35-36.
- Stahl. E, 1985, *Analisis obat secara kromatografi dan mikroskopi*, ITB Bandung, Hal: 16.
- Setiabudy, R., dan Gan, V. H. S., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi 4, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran, Universitas Indonesia, Jakarta , 571-572.
- Thomas A.N.S, 1992, *Tanaman obat tradisional 2*, kanisius Press, Yogyakarta. Hal: 373-374.

Voight. R, 1994, *Buku pelajaran teknologi farmasi*, UGM Press, Yogyakarta.

Wagner, H., Blatt, S., Zgainski, E. M., 1996, *Plant Drug Analysis A thin Layer Chromatography Atlas*, 2 nd Edition, Springer Verlag , Germany , 6 74-75 196-197 306.

Wijayakusuma, H, H.M, 1992, *Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia*, Jilid ke I, Hal: 94-95, Pustaka Kartini Jakarta.



Lampiran 1

SURAT KETERANGAN DETERMINASI

No. **KS.01.02.6.4.373.**

Deskripsi Tanaman:

Habitus semak menahun, tinggi 2 – 3 meter. Batang bulat warna hijau, berbulu. Daun tunggal, tersebar, panjang 8 – 40 cm, lebar 2 – 20 cm, bentuk oval, ujung runcing, pangkal runcing, tepi bergigi, mempunyai daun tambahan, warna hijau, berbulu. Bunga majemuk, karangan bentuk malai, anak bunga berkelompok membentuk tabung, berisi 8 – 25, tabung corola panjang 5 – 7 mm, warna putih, saat tua terbang terbawa angin.

Hasil Determinasi (Flora of Java, 1969):

1b, 2b, 3b, 4b, 12b, 13b, 14a, 17b, 18b, 19b, 20b, 21b, 22b, 23a = Familia Asteracea.
1b, 3b, 33b, 41b, 82b, 85b, 96b, 100a, 102b, 112b, 114b, 115b, 116a = Genus Blumea.

1b, 2a, 3a = Spesies Blumea balsamifera (L.) DC

Tawangmangu, **16.06.20**Kepala Instalasi Simplisia, Herbaria
dan Dokumentasi

Sukatno

NIP. **140 168 949**

Mertiyati Ka.Sub Bag TU

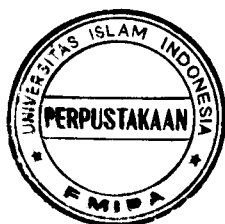
Mertiyati

NIP. **140 301848**

Lampiran 2. Gambar tanaman Sembung



Gambar 4. Tanaman Sembung (*Blumea balsamifera* (L) DC)

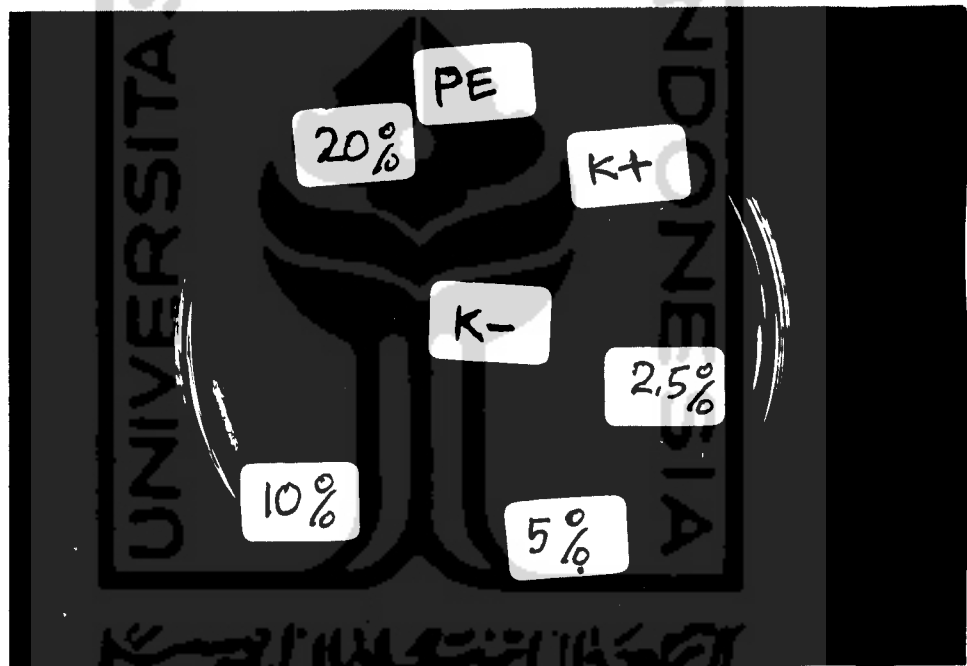


Lampiran 3: Gambar uji pendahuluan aktifitas antifungi masing-masing ekstrak daun Sembung kadar 100% terhadap jamur *C. albicans* dan *T. rubrum*

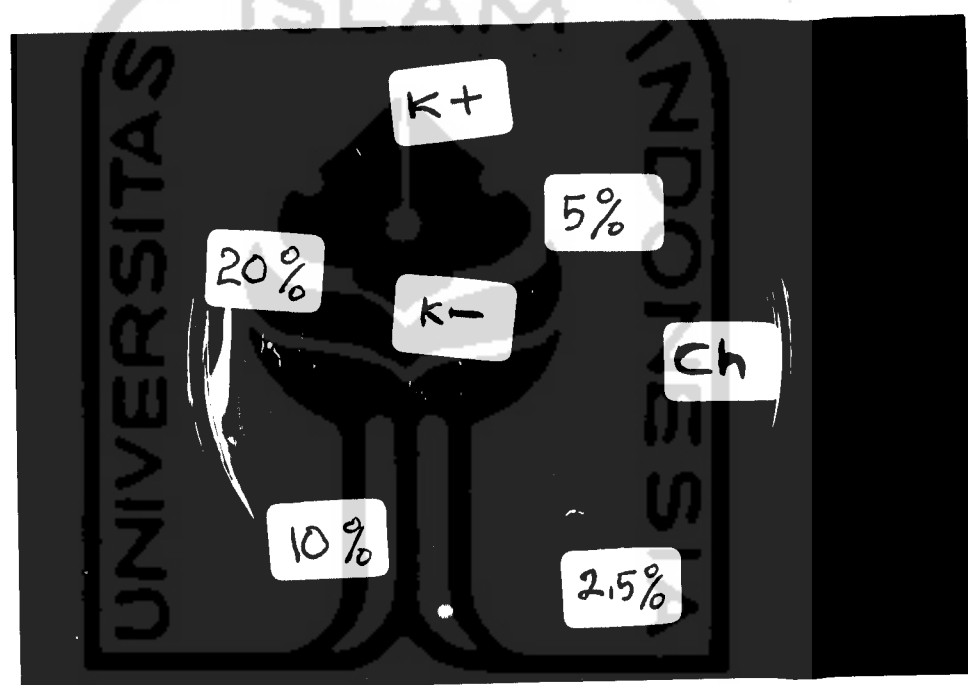


Gambar 5. Uji pendahuluan masing-masing ekstrak daun sembung terhadap *T. rubrum* dan *C. albicans*

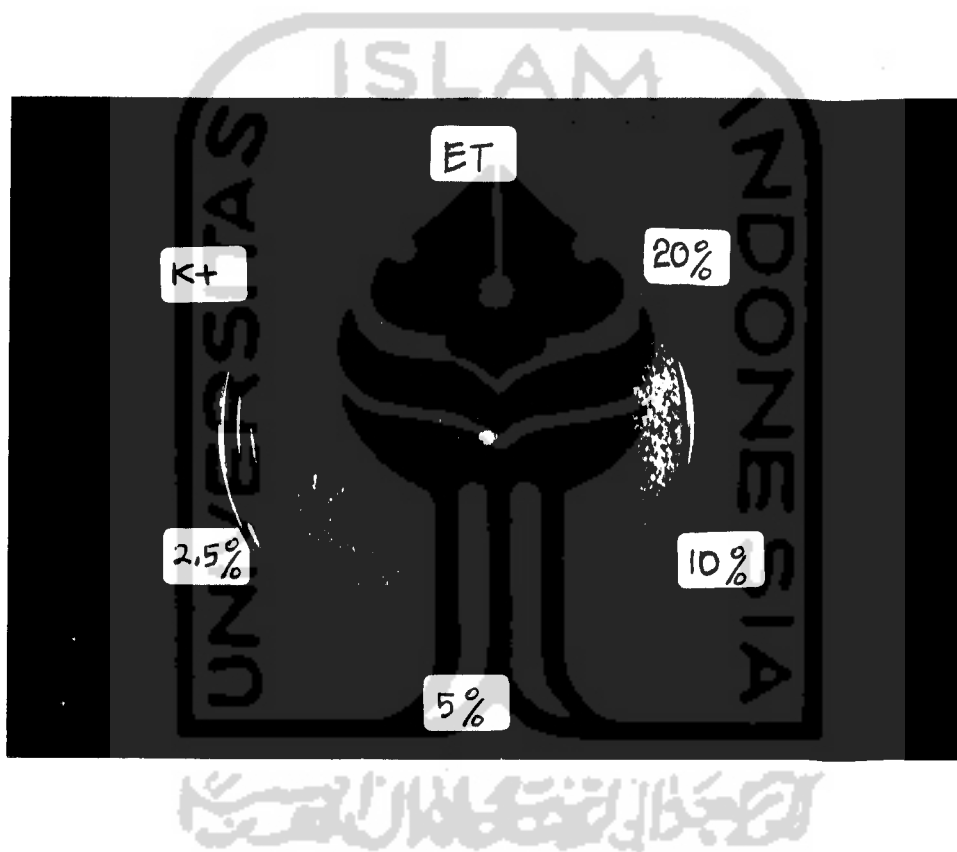
Lampiran 4: Gambar uji aktifitas antifungi masing-masing ekstrak daun Sembung dengan kadar 20%, 10%, 5%, dan 2,5% terhadap *T. rubrum*



Gambar 6. Uji aktifitas antifungi ekstrak Petroleum Eter terhadap *T. rubrum*

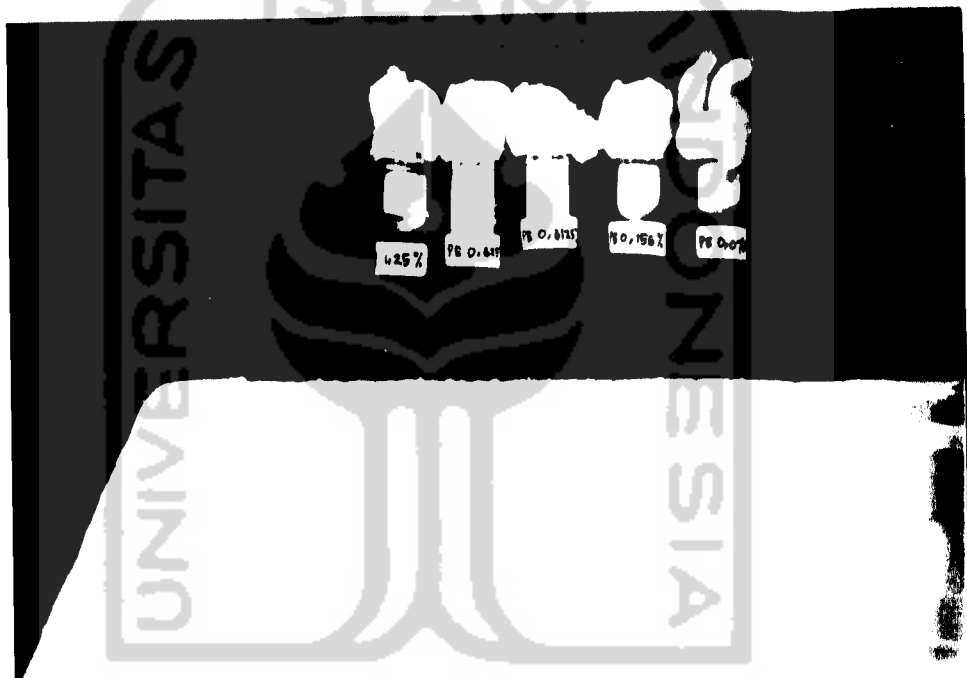


Gambar 7 Uji aktifitas antifungi ekstrak Chloroform terhadap *T. rubrum*

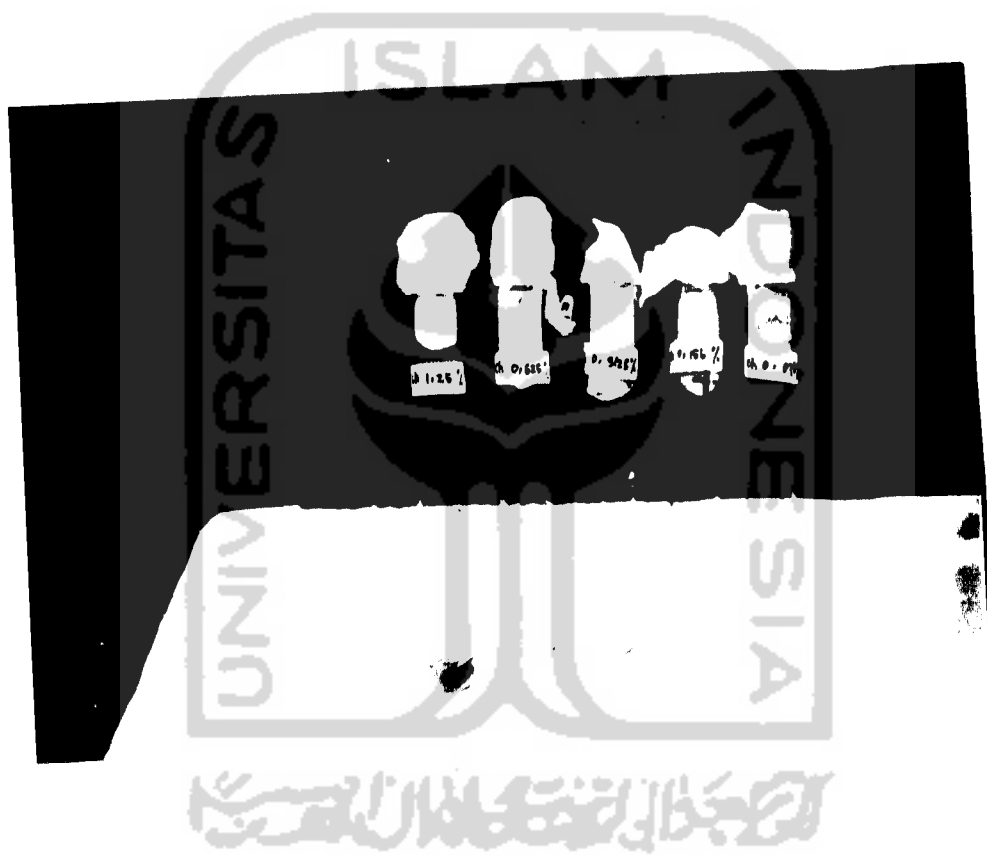


Gambar 8. Uji aktifitas antifungi ekstrak Etanol terhadap *T. rubrum*

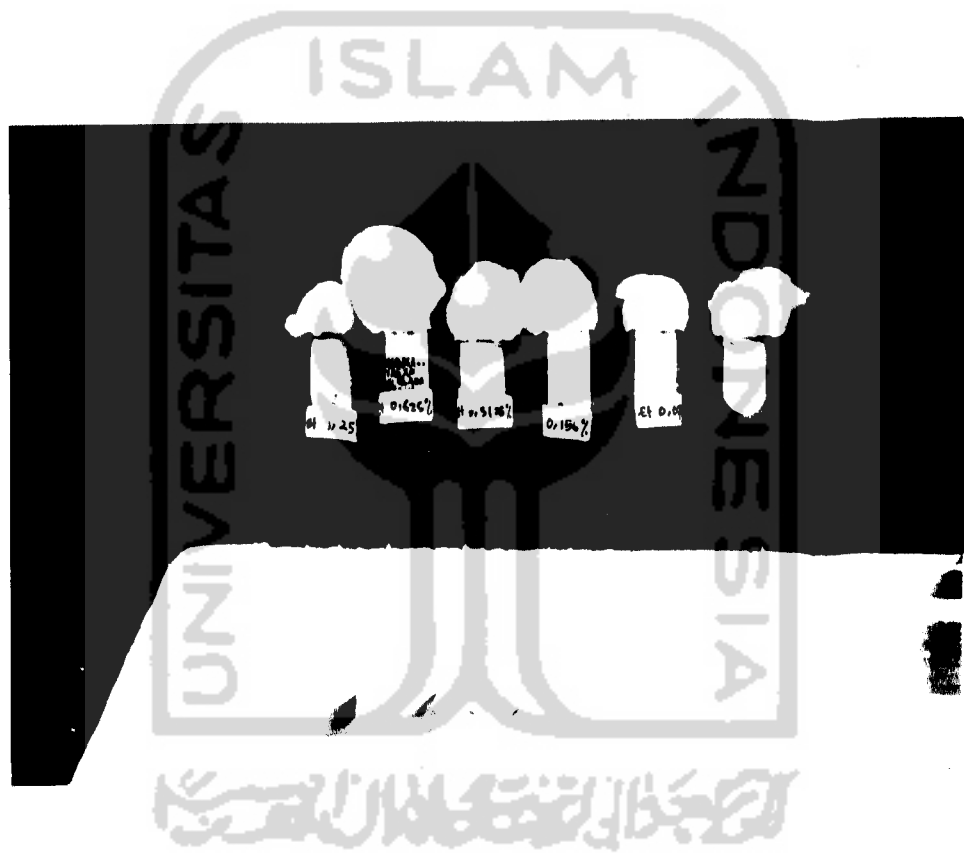
Lampiran 5. Gambar penentuan KHM masing-masing ekstrak daun Sembung terhadap *T. rubrum* dengan seri kadar 1,25%; 0,63%; 0,16%; 0,08%



Gambar 9. KHM ekstrak Petroleum Eter terhadap *T. rubrum*



Gambar 10 KHM ekstrak Chloroform terhadap *T. rubrum*

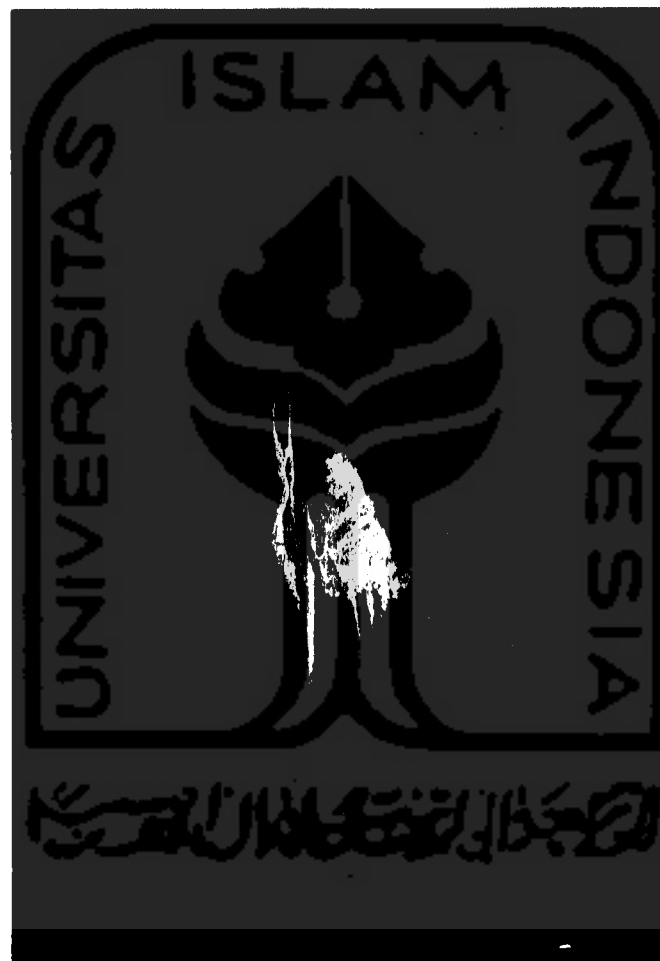


Gambar 11 KHM ekstrak Etanol terhadap *T. rubrum*

Lampiran 6 Gambar profil KLT masing-masing ekstrak menggunakan fase gerak heksan-etil asetat-metanol (70-2-10) dengan pereaksi semprot amoniak.



Gambar 12. Profil KLT dilihat dengan sinar Visibel



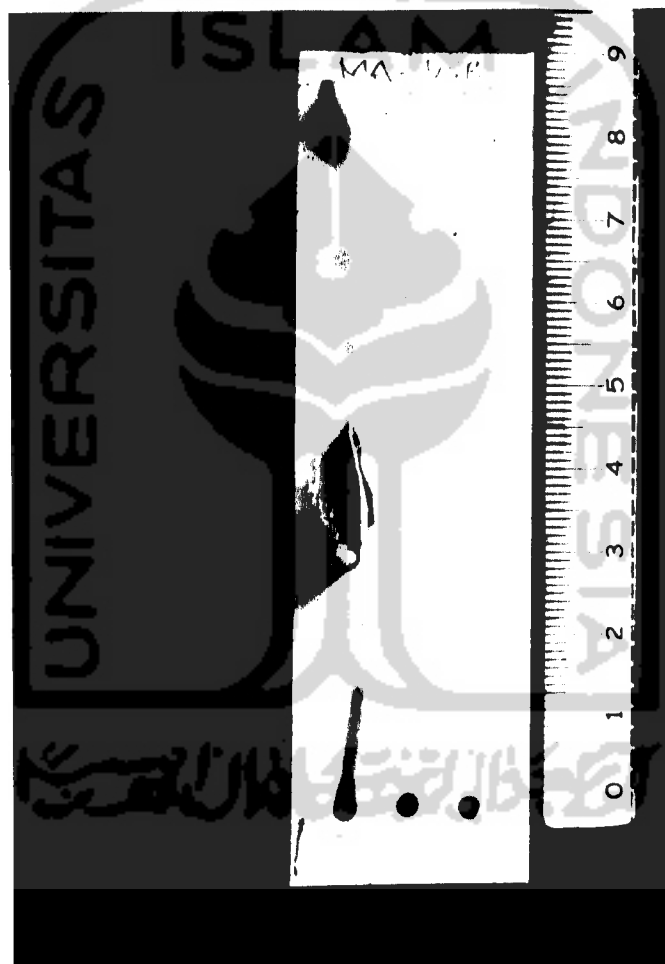
Gambar 13 Profil KLT dilihat dengan sinar UV 254



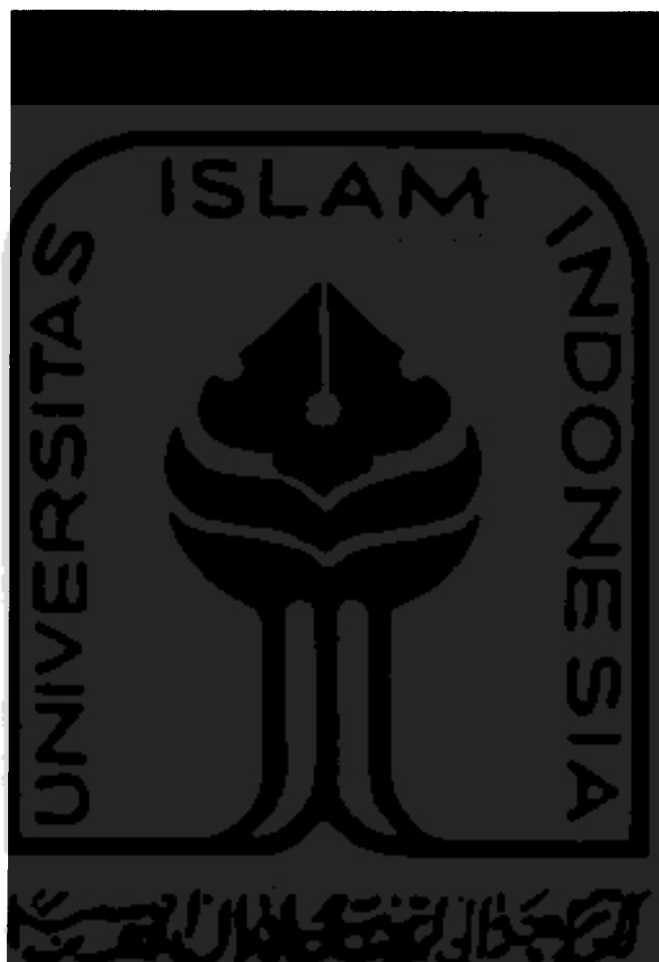
Gambar 14. Profil KLT dilihat dengan sinar UV 365



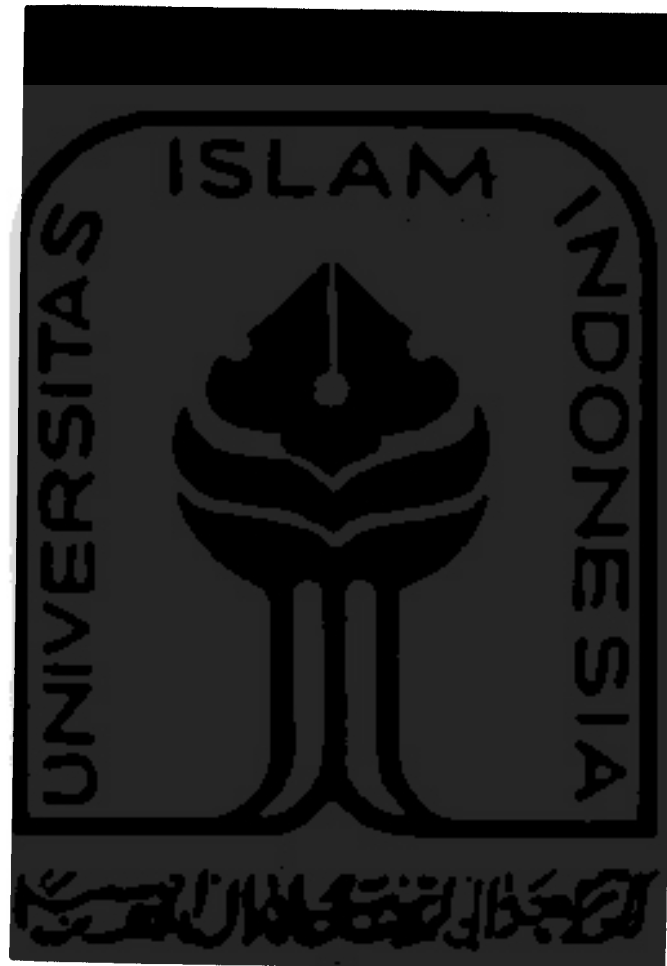
Lampiran 7. Gambar profil KLT masing-masing ekstrak menggunakan fase gerak toluen – etil asetat (95 – 5) dengan pereaksi Vanili asam sulfat.



Gambar 15. Profil Kromatografi dilihat dengan sinar Visibel



Gambar 16 Profil Kromatografi dilihat dengan sinar UV 254



Gambar 17. Profil Kromatografi dilihat dengan sinar UV 365

Lampiran 8. Hasil Uji Anova Dua Arah dan Uji Duncan

Univariate Analysis of Variance

Between-Subjects Factors

		Value Label	N
EKSTRAK	1	Petroleum Eter	12
	2	Kloroform	12
	3	Etanol	12
	4	Kontrol (+)	3
	5	Kontrol (-)	3
KADAR	1	2,5	9
	2	5	9
	3	10	9
	4	20	12
	5	0	3

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: HAMBATAN

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4996.571 ^a	13	384.352	23.601	.000
Intercept	6324.267	1	6324.267	388.332	.000
EKSTRAK	1159.778	3	386.593	23.738	.000
KADAR	1680.889	3	560.296	34.404	.000
EKSTRAK * KADAR	169.111	6	28.185	1.731	.151
Error	456.000	28	16.286		
Total	14024.000	42			
Corrected Total	5452.571	41			

^a. R Squared = .916 (Adjusted R Squared = .878)

Post Hoc Tests EKSTRAK Homogeneous Subsets

HAMBATAN

Duncan^{a,b,c}

EKSTRAK	N	Subset			
		1	2	3	4
Kontrol (-)	3	.00			
Etanol	12		8.17		
Petroleum Eter	12			14.67	
Kloroform	12			17.17	
Kontrol (+)	3				40.00
Sig.		1.000	1.000	.315	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 16.286.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 5.455.
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- Alpha = .05.

KADAR Homogeneous Subsets

HAMBATAN

Duncan^{a,b,c}

KADAR	N	Subset				
		1	2	3	4	5
0	3	.00				
2,5	9		4.67			
5	9			10.00		
10	9				15.56	
20	12					27.33
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

Based on Type III Sum of Squares

The error term is Mean Square(Error) = 16.286.

- Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.667.
- The group sizes are unequal. The harmonic mean of the group sizes is used. Type I error levels are not guaranteed.
- Alpha = .05.