

BAB II
STUDI PUSTAKA
2.1 Tinjauan Pustaka

2.1.1 Tanaman tin (*Ficus carica* L.)

Tanaman tin atau dengan bahasa latinnya yaitu *Ficus carica* L., dan dalam bahasa inggris disebut *fig* atau yang sering dikenal dengan sebutan tanaman ara yang merupakan tanaman endemik Asia Barat dimana tanaman ini tumbuh di daerah pantai Balkan hingga Afganistan.

Berikut klasifikasi dari tanaman tin (*Ficus carica* L.) : (Chawla *et al.*,2012)

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Superdivisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas : Maghnoliopsida (Berkeping dua/dikotil)
Subkelas : Hamamelididae
Ordo : Urticales
Famili : Moraceae
Genus : *Ficus*
Spesies : *Ficus carica* L.



Gambar 2.1 Tanaman Tin (*Ficus carica* L.) (Rimbawan, 2018)

Tanaman tin secara tradisional dapat dimanfaatkan sebagai obat gangguan masalah lambung, inflamasi, dan kanker (Mawa et al., 2013). Bagian dari tanaman tin seperti daun dapat dimanfaatkan sebagai obat antiiritasi dan dapat mengatasi infeksi parasit (Mawa et al., 2013). Penelitian lain telah mengujikan terkait ekstrak etanol dari daun tanaman tin yang berfungsi sebagai antipiretik. Hasil yang didapatkan dari penelitian tersebut bahwa ekstrak daun tanaman tin sebagai antiinflamasi yang memiliki efektifitas mirip dengan obat non steroid seperti indometasin (Patil and Patil, 2011). Berdasarkan beberapa manfaat tanaman tin, tanaman tersebut memiliki kandungan antosianin yang tinggi seperti *cyanidin-3-rutinoside*, flavonol seperti *quercetin-rutinoside*, asam fenolik seperti *chlorogenic acid*, dan flavon seperti *luteolin 6C-hexose-8C-pentose* dan *apigenin-rutinoside* (Vallejo et al., 2012), serta beberapa senyawa bioaktif lain seperti arabinosa, β -amirin, β -karoten, glikosida, β -sterol, dan xanthoxol (Gilani, 2008; Ross and Kasum, 2002; Vaya and Mahmood, 2006). Penelitian terdahulu juga membuktikan bahwa tanaman tin dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mengandung amina, alkaloid dan flavonoid (Prabavathy and Nachiyar, 2011). Liang et al (2016) membuktikan bahwa hasil kultur cair kapang endofit dari daun tanaman tin terbukti menghasilkan spesies *Fusarium* sp.

2.1.2 Metabolit Sekunder Tanaman tin

Metabolit sekunder merupakan suatu senyawa kimia yang berada didalam suatu organisme, biasanya senyawa ini tidak terlibat secara langsung dalam proses pertumbuhan, perkembangan atau reproduksi organisme (Mohammed et al., 2014). Metabolit sekunder terbentuk dari sintesis tanaman, mikroba, dan hewan melalui proses biosintesis (Saifudin, 2014). Jalur pembentukan metabolit sekunder menurut Deacon (2006), yaitu sintesis metabolit sekunder yang berhubungan dengan jalur pembentukan lipid. Contoh dari jalur pembentukan tersebut adalah tubuh buah Basidiomycota menghasilkan senyawa volatil *Polyacetylenes*. Menurut Agusta (2009), metabolit sekunder yang dihasilkan oleh mikroorganisme dapat digolongkan menjadi alkaloid, fenolik dan turunannya, flavonoid, isokumarin, kuinon, peptida, terpenoid, dan sebagainya. Berdasarkan suatu penelitian

membuktikan bahwa senyawa metabolit sekunder paling banyak yang ada dalam tanaman tin yaitu senyawa antosianin yang tinggi seperti *cyanidin-3-rutinoside*, flavonol seperti *quercetin-rutinoside*, asam fenolik seperti *chlorogenic acid*, dan flavon seperti *luteolin 6C-hexose-8C-pentose* dan *apigenin-rutinoside* (Vallejo *et al.*, 2012). Metabolit sekunder pada buah tin (*Ficus carica* L.) yang dikeringkan berupa senyawa fenolik, alkaloid, flavonoid, dan saponin (Soni *et al.*, 2014). Ekstrak metanol daun tin dalam metabolit sekunder terdapat senyawa kumarin yang dapat dimanfaatkan sebagai anti nematoda (Liu *et al.*, 2011).

2.1.3 Kultur Cair

Kultur cair yang sebenarnya merupakan proses pemanfaatan mikroba yang akan menghasilkan metabolit primer dan metabolit sekunder di dalam suatu lingkungan yang dikendalikan (Wani *et al.*, 2016). Adanya lingkungan yang dikendalikan ini digunakan untuk mengatur kondisi medium, komposisi medium, suplai O₂ dan agitasi. Perubahan struktur kimia dan bahan-bahan organik yang memanfaatkan agen-agen biologis terjadi pada saat kultur. Enzim yang paling utama yaitu enzim yang digunakan sebagai biokatalis. Produk dari kultur dapat digolongkan menjadi 4 jenis produk yaitu: produk biomassa, produk enzim, produk metabolit, dan produk transformasi (Mears *et al.*, 2017). Medium yang digunakan dalam kultur harus memiliki syarat yaitu: mengandung nutrisi yang dapat digunakan sebagai sumber energi bagi mikroba, tidak mengandung zat yang dapat membahayakan pertumbuhan sel dan tidak terdapat kontaminan yang dapat meningkatkan persaingan dalam penggunaan substrat (Mears *et al.*, 2017; Wani *et al.*, 2016).

Berdasarkan medianya kultur dapat dibedakan menjadi dua yaitu kultur media padat yang dapat digunakan untuk memproduksi enzim dan asam organik dengan menggunakan kapang dan kultur cair yang dapat digunakan untuk memperoleh senyawa metabolit sekunder dengan menggunakan bakteri, kadapang atau khamir (Kumala, 2015).

Berikut merupakan faktor-faktor yang mempengaruhi proses kultur yaitu: (Kumala, 2015)

a. Substrat dan nutrisi

Medium yang memiliki nutrisi yang digunakan untuk pertumbuhan dan memperoleh energi diperlukan dalam proses kultur. Substrat yang dapat dimanfaatkan sebagai sumber karbon seperti kentang dan dekstrosa, dan sumber nitrogen dapat digunakan ekstrak *yeast*, garam ammonium dan tepung kedelai.

b. Keasaman (pH)

Bakteri memiliki pH yang optimum antara 6,7-7,5; namun bila pH di bawah 5,5 atau di atas 8,5 bakteri tidak akan tumbuh dengan baik. Sementara kapang memiliki pH optimum antara 5-7. Maka dari itu, selama proses kultur perlu dilakukan pengukuran pH agar medium dapat dipertahankan pada pH optimum.

c. Suhu

Proses kultur perlu dilakukan pengaturan suhu yang sesuai dengan pertumbuhan sel mikroorganisme atau produksi metabolit yaitu pada suhu 20-30°C.

2.1.4 Kapang Endofit

Kapang endofit merupakan suatu mikroorganisme yang dapat hidup di jaringan tanaman seperti bunga, buah, batang, daun, biji, dan akar serta dapat hidup secara mutualistik dengan cara membentuk suatu koloni dalam jaringan tanaman tanpa membahayakan tanaman inang (Daley *et al.*, 2017). Kapang berpotensi untuk menghasilkan metabolit sekunder yang dapat bermanfaat bagi tanaman terutama sebagai organisme endofit dibandingkan bentuk organisme endofit lainnya (Kasotia and Choudhary, 2014; Schulz *et al.*, 2002).

Menurut beberapa penelitian kapang memiliki peranan penting dalam melindungi tanaman inang terhadap adanya predator atau patogen (Joseph and Priya, 2011). Tak hanya itu, kapang endofit juga dapat membantu proses penyerapan unsur hara yang dibutuhkan oleh tumbuhan untuk proses fotosintesis serta melindungi tumbuhan inang dari serangan penyakit, dan hasil dari fotosintesis dapat digunakan oleh kapang untuk mempertahankan kelangsungan

hidupnya (Strobel, 2003). Penelitian yang telah dilakukan terkait dari kapang endofit dari daun tanaman tin yang berada di India mengandung amina, alkaloid serta flavonoid (Prabavathy and Nachiyar, 2011)

Masuknya endofit ke dalam suatu jaringan tanaman inang terjadi karena dua proses, yaitu yang pertama secara langsung yang ditandai masuknya endofit ke dalam bagian internal jaringan pembuluh tanaman dan diturunkan melalui biji, dan cara yang kedua secara tidak langsung endofit hanya akan menginfeksi bagian eksternal seperti bunga (Helander *et al.*, 2004; Zhang *et al.*, 2006).

2.1.5 Fungi

Jamur atau fungi termasuk dalam kingdom tumbuhan. Fungi merupakan suatu eukariotik, heterotrof yang mendapatkan nutriennya dengan cara penyerapan (Roosheroe *et al.*, 2006). Banyak fungi yang memiliki dinding sel yang terbuat dari kitin, yaitu suatu polisakarida yang mengandung amino. Semua fungi tidak memiliki flagela dan terbatas motilitasnya (Fitria *et al.*, 2008).

Fungi terbagi atas 4 kelompok besar atau disebut divisi, yaitu (Fried and Hademenos., 2009):

- a. Zygomycota (fungi konjugasi), nama tersebut berasal dari zigospora yang keras dan resisten, dimana terbentuk ketika gamet-gamet haploid berfusi, pada kondisi yang tidak bersahabat. Ketika kondisi bersahabat zigospora diploid merupakan zigot dengan lapisan keras akan mengalami miosis. Satu atau lebih miosis yang dihasilkan akan menghasilkan miselium haploid yang baru.
- b. Ascomycota (fungi kantung), mencakup khamir, sejumlah embun tepung, ergot, dan *Penicillium*. Nama pada divisi ini berasal dari keberadaann kantung reproduktif yang disebut *askus*, yang terbentuk saat siklus seksual dari seluruh anggota Ascomycota.
- c. Basidiomycota (fungi gada), mencakup cendawan-cendawan yang mudah terlihat, jamur payung, dan berbagai *puffball*. Pada divisi ini, terdapat hifa yang terkompartementalisasi oleh septum.

- d. Deuteromycota, mencakup semua fungi yang belum jelas siklus seksualnya.

Fungi dikelompokkan berdasarkan penampakannya terbagi atas: kapang (*moulds* atau *molds*), khamir (*yeasts*), dan cendawan (*mushrooms*). Kapang dan khamir bisa terdapat pada setiap kelompok Ascomycetes dan Basidiomycota. Sedangkan cendawan (*mushrooms*) termasuk dalam Homobasidiomycetes (Roosheroe *et al.*, 2006).

Khamir merupakan suatu kelompok fungi yang memiliki sel vegetatif uniseluler yang sering membentuk miselium sejati atau miselium palsu (pseudomiselium). Khamir adalah fungi bersel satu, berbentuk bulat, oval, atau silindris, berdiameter 3-5 μm , dapat berkembang biak dengan membelah diri dan membentuk tunas. Habitat khamir pada makanan (Pelczar, 1986).

Kapang adalah fungi berfilamen, satu filamen disebut hifa, kelompok hifa yang tumbuh pada suatu media disebut miselium. Hifa terbentuk dari spora jamur, dengan diameter 3-30 μm . Habitat kapang pada kayu dan kertas (Pelczar, 1986).

Suatu fungi dapat menyebabkan suatu penyakit pada manusia melalui salah satu dari empat cara berikut, yaitu (Fried and Hademenos., 2009):

- a. Reaksi alergi yang dikarenakan terpapar oleh spora atau sel vegetatif fungi, yaitu demam, asma, atau penyakit pada paru-paru yang berlangsung lama dan parah.
- b. Keracunan yang diproduksi fungi dimonal aflatoksin dapat mengakibatkan kanker hati.
- c. *Mycoses*, yaitu suatu infeksi jamur dalam tubuh, seperti histoplasmosis, candidiasis, superfisial *mycoses*, *intermediate mycoses*, *systemic mycoses*, atau
- d. Fungi merusak persediaan makanan yang menyebabkan kelaparan.

2.1.5.1 *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* merupakan salah satu dari sekian banyak jamur yang dapat menyebabkan suatu penyakit pada manusia, atau lebih dikenal dengan sebutan sebagai patogen. Biasanya penyakit yang disebabkan oleh jamur *C.*

albicans ini disebut dengan kandidiasis atau kandidosis. Penyakit kandidiasis adalah suatu penyakit jamur yang akut atau subakut yang dapat mengenai mulut, vagina, kulit, kuku, paru-paru, dan saluran pencernaan. Penyakit yang disebabkan jamur ini sering ditemukan di seluruh dunia, tanpa memandang umur dan jenis kelamin (Jawetz *et al.*, 1995).

Jamur *Candida albicans* ini adalah suatu jamur yang uniseluler dan sebagai flora normal didalam rongga mulut, usus besar, dan vagina. Flora normal dapat diartikan sebagai tempat tumbuh suatu jamur atau bakteri. Suatu tubuh yang sehat tidak akan membuat flora normal yang ada di dalam tubuh muncul berlebih yang dapat menyebabkan suatu penyakit di dalam tubuh.

Seorang yang memiliki daya tahan tubuh yang lemah akan lebih mudah terpapar mikroba. Salah satu mikroba tersebut seperti jamur yang dapat menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita. Jamur ini dapat menyebabkan beberapa penyakit seperti keputihan, sariawan, infeksi kulit, infeksi kuku, infeksi paru-paru, dan organ lain serta kandidiasis mukokutan menahun (Kumalasari and Sulistyani, 2011).

Salah satu contoh penyakit yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* yaitu *denture stomatitis* pada gigi tiruan. *Denture stomatitis* dapat terjadi disebabkan oleh jamur tersebut melakukan penetrasi pada resin akrilik dan tumbuh pada permukaan gigi tiruan sehingga dapat menginfeksi jaringan lunak (Lambert and Kolstad, 1986). Jamur tersebut akan melepaskan endotoksin yang merusak mukosa mulut dan menyebabkan terjadinya *denture stomatitis* (Tamamoto *et al.*, 1985).

Penelitian tentang jamur *Candida albicans* ini telah banyak dilakukan, mulai dari pengujian sebagai antifungi dari ekstrak *Gelidium latifolium*, ekstrak *Graptophyllum pictum*, ekstrak batang binahong, hingga mikroba endofit pun telah dilakukan (Lutfiyanti *et al.*, 2012; Wahyuningtyas, 2008) .

2.1.6 Antifungi

Penelitian aktivitas senyawa antifungi di bidang kesehatan merupakan suatu langkah awal untuk mengetahui senyawa aktif yang dapat berguna untuk

penanggulangan suatu penyakit yang disebabkan oleh jamur atau fungi (Noverita *et al.*, 2009). Infeksi yang disebabkan oleh fungi banyak sekali. Infeksi yang disebabkan jamur ini disebut sebagai mikosis, biasanya bersifat kronis. Infeksi yang disebabkan jamur atau mikosis ini mulai dari yang paling ringan hingga sulit diobati atau bisa menyebabkan kematian (Anonim, 2008). Obat – obat yang mengobati infeksi yang berasal dari jamur disebut sebagai antijamur atau antifungi atau antimikotik. Obat – obat ini dapat mengobati infeksi jamur superfisial pada kulit atau selaput lendir seperti tinea pedis, dan infeksi jamur sistemik pada paru – paru seperti meningitis. Ada beberapa kelompok antifungi, yaitu (Peter, 1994):

- a. Polien, termasuk amfoterisin B dan nistatin.
- b. Imidazol, termasuk ketokonazol, mikonazol, dan klotimazol.
- c. Antijamur antimetabolit, flusitosin.
- d. Antijamur topikal untuk infeksi superfisial.

Selain kelompok antifungi diatas, antifungi dibagi atas indikasinya, yaitu (Anonim, 2008):

- a. Antijamur untuk infeksi sistemik, seperti: amfoterisin B, flusitosin, imidazol, dan hidrosistilbamidin.
- b. Antijamur untuk infeksi dermatofit dan mukokutan, seperti: griseofulvin, golongan imidazol, nistatin, tolnaftat, dan antijamur topikal lainnya.

2.1.7 Kromatografi Lapis Tipis

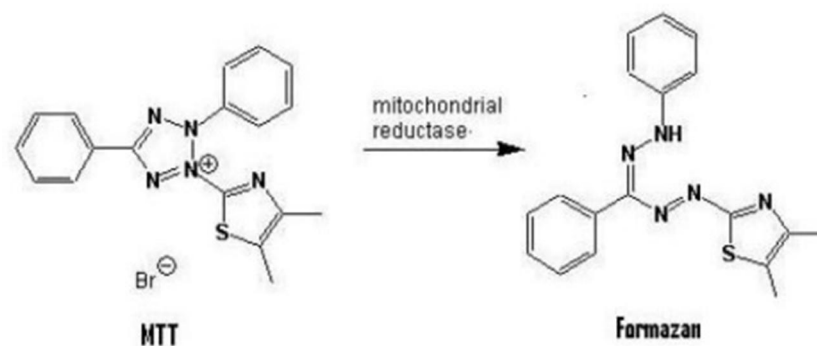
Kromatografi lapis tipis adalah suatu pemisahan senyawa yang melibatkan fase diam dan fase gerak, dimana fase diam adalah suatu plat gel silika dan fase gerak adalah suatu larutan yang sesuai dengan kepolaran senyawa uji. Pada umumnya semakin polar suatu senyawa fase gerak, semakin besar partisi ke dalam fase diam gel silika, maka semakin cepat terelusi (Watson, 2005) .

Pemisahan senyawa pada KLT karena perbedaan laju zat terlarut yang berbeda dengan yang terbawa oleh eluen (Gandjar and Rohman., 2007). Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat digunakan sebagai analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif dapat dilakukan untuk uji identifikasi senyawa baku

dengan parameter yang digunakan adalah nilai R_f (Hardjono, 1983). Sedangkan untuk analisis kuantitatif dapat dilakukan dengan dua cara yaitu, mengukur bercak langsung pada lempeng dengan menggunakan luas atau dengan teknik densitometer. Cara selanjutnya yaitu mengerok bercak lalu menetapkan kadar senyawa yang terdapat dalam bercak dengan metode analisis lain (Stahl, 1985).

2.1.8 Metode MTT Assay

Metode *MTT Assay* dapat digunakan untuk mengetahui pertumbuhan dari sel mikroba (Ikegbunam *et al.*, 2013). Metode ini pernah dilakukan uji *MTT assay* untuk mengetahui pertumbuhan dari sel bakteri *Escherichia coli* dan hasilnya metode ini dapat menggambarkan pertumbuhan bakteri dengan baik (Wang *et al.*, 2010). Metode *MTT Assay* ini didasarkan pada kapasitas enzim dehidrogenase didalam mitokondria sel hidup untuk mengubah substrat berwarna kuning dapat larut dalam air (MTT) akan berubah menjadi produk formazan yang berwarna biru tua dan tidak larut dalam air (Stockert *et al.*, 2012). Garam tetrazolium yang dapat berubah warna tersebut terdapat dalam jalur respirasi. Selanjutnya dari perubahan warna tersebut dapat diukur absorbansinya menggunakan *microplate reader*, dimana intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup (Meizarini *et al.*, 2005).



Gambar 2.2 Reaksi Pembentukan Kristal Formazan (Wang *et al.*, 2010)

2.2 Landasan Teori

Kandidiasis merupakan salah satu penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans*, dimana *Candida albicans* memiliki prevalensi tertinggi sebagai penyebab penyakit infeksi pada manusia. Pencarian alternatif agen terapi terbaru digunakan untuk menekan kejadian tersebut yang berasal dari tanaman obat, seperti tanaman tin (*Ficus carica* L.). Menurut penelitian yang pernah dilakukan, tanaman tin memiliki beberapa senyawa bioaktif seperti antosianin yang tinggi seperti *cyanidin-3-rutinoside*, flavonol seperti *quercetin-rutinoside*, asam fenolik seperti *chlorogenic acid*, dan flavon seperti *luteolin 6C-hexose-8C-pentose* dan *apigenin-rutinoside*, arabinosa, β -amirin, β -karoten, glikosida, β -sterol, dan xanthotoxol (Gilani, 2008; Vinson, 1999; Ross and Kasum, 2002; Vaya and Mahmood, 2006; Vallejo *et al.*, 2012). Menurut penelitian sebelumnya, flavonoid dan polifenol yang ditemukan pada ekstrak metanol lateks tanaman tin diketahui memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans*. Aktivitas antifungi dari latek tanaman tin tersebut dapat menghambat pertumbuhan dari *Candida albicans* sekitar 100% dengan konsentrasi sebesar 500 $\mu\text{g/ml}$ (Aref *et al.*, 2010).

Selain kandungan senyawa antifungi pada tanaman tin yang dapat dimanfaatkan, senyawa lain juga dapat diperoleh dari suatu mikroorganisme pada tanaman tin. Senyawa tersebut terletak pada akar, batang, biji, buah dan daun yang disebut kapang endofit (Daley *et al.*, 2017). Strobel (2003), membuktikan bahwa kapang endofit berpotensi sebagai senyawa obat baru yang bermanfaat. Kapang endofit juga memiliki kemampuan untuk memproduksi suatu metabolit sekunder yang memiliki kesamaan senyawa dengan inangnya serta memiliki kemampuan untuk menghasilkan senyawa bioaktif (Zhao *et al.*, 2010). Penelitian terdahulu juga membuktikan bahwa tanaman tin dapat menghasilkan senyawa metabolit sekunder yang mengandung amina, alkaloid dan flavonoid (Prabavathy and Nachiyar, 2011). Liang *et al* (2016) membuktikan bahwa hasil kultur cair kapang endofit dari daun tanaman tin terbukti menghasilkan spesies *Fusarium* sp. yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antifungi Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan penelitian untuk mengkaji aktivitas antifungal dari

metabolit sekunder yang berasal dari kapang endofit tanaman tin (*Ficus carica* L.) terhadap jamur *Candida albicans*.

2.3 Hipotesis

Metabolit sekunder kapang endofit tanaman tin (*Ficus carica* L.) diduga memiliki aktivitas sebagai antifungal terhadap *Candida albicans*.