

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Isolat Kapang Endofit Tanaman Tin

Isolat kapang endofit yang digunakan dalam penelitian ini merupakan hasil isolasi dari penelitian sebelumnya. Peneliti sebelumnya telah melakukan beberapa tahapan meliputi koleksi dan determinasi tanaman tin, sterilisasi permukaan tanaman uji, isolasi kapang endofit, pemurnian kapang endofit, dan subkultur serta karakterisasi kapang endofit. Tahapan-tahapan tersebut bertujuan untuk mendapatkan isolat tunggal kapang endofit yang berpotensi sebagai antimikroba yang murni. Hasil isolat yang didapatkan yaitu isolat A₂ dari akar, Ba₂ dari batang, Bu₂ dari buah D₁ dari daun 1, dan D₂ dari daun 2 (Rimbawan, 2018). Hasil tahapan yang telah dilakukan terlampir pada Lampiran 4, 5, 6, dan 7.

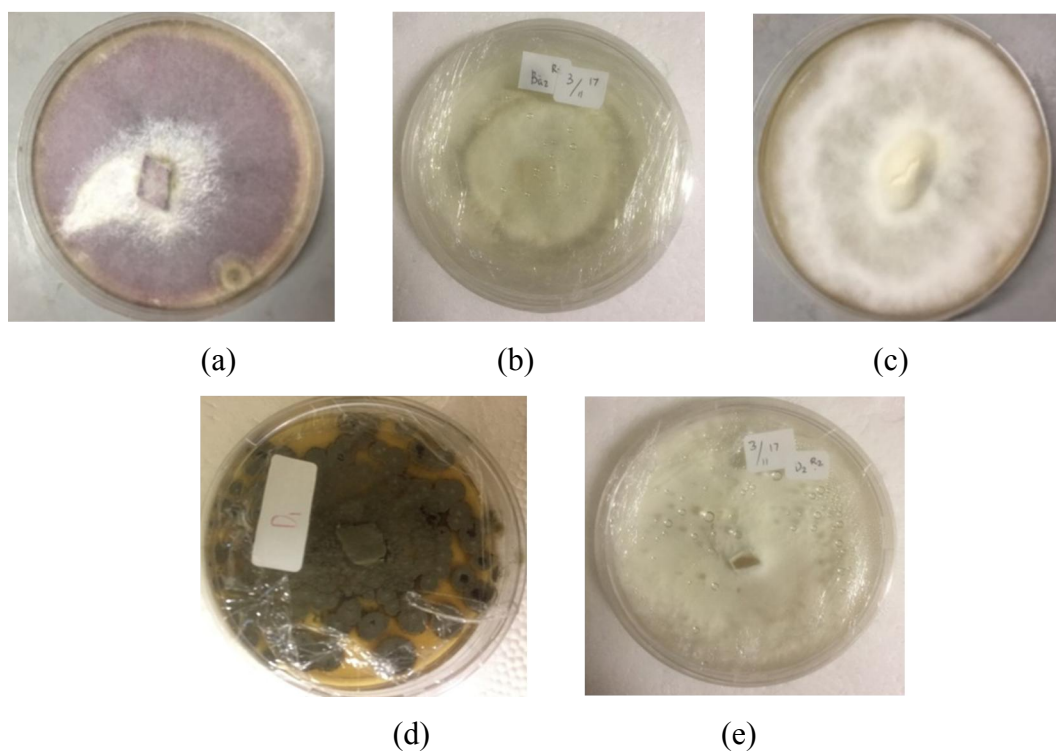
4.2 Peremajaan Kapang Endofit

Peremajaan dilakukan bertujuan untuk mendapatkan isolat yang lebih muda dan lebih murni. Peremajaan dilakukan setiap dua minggu atau hari ke-14 dikarenakan pada hari ke-14 media pada pertumbuhan kapang endofit sudah mulai habis, sehingga perlu penumbuhan baru di media yang memiliki nutrisi yang dapat mencukupinya. Media yang digunakan dalam peremajaan kapang yaitu *Potato Dextrose Agar* (PDA). Media *Potato Dextrose Agar* (PDA) dipilih karena media tersebut memiliki sifat dan nutrisi yang memiliki kemampuan untuk menumbuhkan jamur. Hasil peremajaan yang didapatkan memiliki kesamaan karakteristik dengan isolat murni yang dilihat dari morfologi isolat kapang endofit. Melihat dari perbedaan morfologi pada Tabel 4.1, dimana tidak ada perbedaan. Namun, terlihat pada isolat A₂ yang memiliki warna putih ungu. Warna ungu yang terdapat pada isolat A₂, dikarenakan pada isolat murni A₂ dari akar awalnya memiliki pigmen berwarna ungu namun belum nampak seperti yang terlihat dari hasil peremajaan, kemungkinan pigmen tersebut menjadi terlihat karena proses peremajaan berulang kali yang menjadikan suatu isolat tersebut survive

dengan lingkungannya saat ditumbuhkan dalam media PDA. Hasil peremajaan isolat kapang endofit dapat dilihat pada Gambar 4.1.

Tabel 4.1 Perbedaan morfologi isolat murni dan hasil isolat peremajaan

Isolat	Warna Koloni		Bentuk Permukaan	
	Isolat murni (Rimbawan, 2018)	Isolat Peremajaan	Isolat murni (Rimbawan, 2018)	Isolat Peremajaan
A ₂	Putih	Putih Ungu	Halus	Halus
Ba ₂	Putih	Putih	Halus	Halus
Bu ₂	Putih	Putih	Halus	Halus
D ₁	Hitam	Hitam	Kasar dan bergranul	Kasar dan bergranul
D ₂	Putih	Putih	Halus	Halus



Gambar 4.1 Hasil peremajaan kapang endofit (a): isolat A₂ dari akar, (b): isolat Ba₂ dari batang, (c): isolat Bu₂ dari buah, (d): isolat D₁ dari daun, (e): isolat D₂ dari daun.

4.3 Hasil Kultur Cair

Kultur cair merupakan proses menumbuhkan mikroba dalam media cair dalam sistem tertutup yang akan terjadi suatu pemanfaatan metabolisme dengan

memanfaatkan nutrisi dari media yang akan menghasilkan metabolit sekunder. Teknik kultur merupakan suatu teknik untuk mendapatkan metabolit sekunder lebih singkat dan dihasilkan lebih banyak dibandingkan dengan pemuliaan dilingkungan (Daisy *et al.*, 1994). Proses kultur cair ini dilakukan dengan tujuan untuk mendapatkan suatu metabolit sekunder dari kapang endofit tanaman tin. Kapang endofit yang berasal dari tanaman tin (*Ficus carica* L.), didapatkan dari isolat yang berasal dari Rimbawan (2018) yang terdiri atas bagian akar, batang, buah, dan daun. Proses kultur cair menggunakan media *Potato Dextrose Broth* (PDB). Media PDB (*Potato Dextrose Broth*) digunakan karena media tersebut memiliki kandungan nutrisi berupa glukosa yang bermanfaat pada kapang endofit untuk tumbuh. Proses kultur yang dilakukan selama 14 hari tersebut dikarenakan pada hari tersebut metabolit sekunder sudah keluar dari kapang endofit tanaman tin dengan melihat perubahan warna suatu media cair dan karakteristiknya yang terjadi pada media PDB. Perubahan warna menjadi sebuah tanda dikarenakan metabolit sekunder akan disekresikan di dalam sel (intraseluler) atau keluar ke lingkungan medianya (ekstraseluler). Perubahan warna yang terjadi membuktikan bahwa kapang tersebut mensekresikan metabolit sekunder ke lingkungan medianya atau yang disebut ekstraseluler (Margiono, 2008; Tiwari, 2015). Penelitian ini mengujikan empat buah kapang yang berasal dari akar, batang, buah, dan daun. Tiap kapang memiliki karakteristik yang berbeda-beda, mulai dari model miselium yang dihasilkan hingga warnanya. Berikut data perubahan warna setelah dilakukan kultur cair yang dibantu dengan *shaker* inkubator dengan kecepatan 60 rpm selama 14 hari.

Tabel 4.2 Hasil kultur cair

Jenis Kapang	Warna Kapang	Warna Metabolit Sekunder	
		Sebelum	Sesudah
Akar (A ₂)	Ungu	Coklat muda jernih	Coklat keruh dikelilingi warna ungu
Batang (Ba ₂)	Putih	Coklat muda jernih	Coklat tua keruh
Buah (Bu)	Putih	Coklat muda jernih	Abu – abu keruh
Daun (D ₁)	Hitam	Coklat muda jernih	Coklat keruh
Daun (D ₂)	Putih	Coklat muda jernih	Coklat tua keruh

Hal lain yang menandakan terjadi sekresi metabolit sekunder yaitu karakteristik miselia kapang endofit. Karakteristik pada miselia kapang endofit ini mengalami pertumbuhan selama ditumbuhkan pada media cair seperti pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Karakteristik Miselia

Jenis Kapang	Warna Kapang	Karakteristik Miselia
Akar (A ₂)	Ungu	Membesar, aerob dan anaerob fakultatif, ada endapan
Batang (Ba ₂)	Putih	Membesar, aerob dan anaerob fakultatif, ada sedikit endapan
Buah (Bu)	Putih	Membesar, aerob dan anaerob fakultatif, ada endapan
Daun (D ₁)	Hitam	Membesar, aerob dan anaerob fakultatif, ada endapan
Daun (D ₂)	Putih	Membesar, aerob dan anaerob fakultatif, ada endapan

Keterangan: aerob: posisi miselia berada dipermukaan media; anaerob fakultatif: mampu hidup dengan oksigen maupun tanpa oksigen.

Berdasarkan data pada Tabel 4.3, dapat disimpulkan bahwa semua kapang endofit yang dikulturkan berhasil tumbuh, dilihat dari adanya endapan. Namun, hasil pada Batang (Ba₂) menunjukkan hasil endapan yang sedikit. Endapan yang sedikit tersebut dimungkinkan metabolit sekunder dari Batang (Ba₂) belum dikeluarkan maksimal pada hari ke-14. Sedangkan, hasil yang didapatkan pada Akar (A₂), Buah (Bu), Daun (D₁), dan Daun (D₂) dimungkinkan metabolit sekunder sudah dikeluarkan pada hari ke-14. Hasil tersebut sudah sesuai dengan literatur yang menyebutkan bahwa pengeluaran metabolit sekunder pada media cair ditandai dengan perubahan warna dan ada endapan pada media cair (Margiono, 2008; Tiwari, 2015).

4.4 Hasil Ekstraksi Cair – Cair

Prinsip dari ekstraksi cair–cair yaitu pemisahan berdasarkan perbedaan kelarutan senyawa atas fenomena partisi suatu analit dari dua pelarut yang tidak saling bercampur (Leba, 2017). Maka dari itu, proses ekstraksi ini bertujuan untuk mendapatkan suatu senyawa dari campuran berfasa cair dengan pelarut lain yang juga berfasa cair. Ekstraksi cair–cair yang dilakukan dengan menggunakan pelarut etil asetat : air dengan perbandingan 1:1. Proses ekstraksi dibantu dengan ultrasonikator, yang berfungsi untuk mempercepat ekstraksi dengan

memanfaatkan gelombang ultrasonik yang berguna untuk melisiskan dinding-dinding sel sehingga kandungan senyawa yang ada di dalam sel dapat keluar dengan mudah. Pemisahan pada ekstraksi menggunakan corong pisah dan didapatkan dua fase yaitu fase air (bawah) dan fase etil asetat (atas). Ekstrak yang digunakan untuk proses selanjutnya yaitu ekstrak etil asetat, dikarenakan ekstrak dari etil asetat memiliki *range* kepolaran yang luas sehingga memudahkan untuk mendapatkan senyawa yang memiliki kepolaran yang berbeda-beda. Sifat dari etil asetat tidak toksik, sehingga lebih aman untuk digunakan (USP, 2007; Rowe *et al.*, 2009). Sifat lain dari etil asetat yaitu mudah diuapkan sehingga memerlukan waktu yang singkat untuk mendapatkan ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator*. Etil asetat juga telah banyak digunakan pada penelitian sebelumnya dalam pengujian sebagai antibakteri dan antifungal (Liang *et al.*, 2016; Prabavathy and Nachiyar, 2011). Hasil yang didapatkan dalam proses ekstraksi menggunakan etil asetat yaitu suatu ekstrak yang memiliki senyawa dengan range kepolaran dari semi polar hingga non polar. Jumlah yang didapatkan dari ekstraksi dapat dilihat pada Tabel 4.4.

Tabel 4.4 Hasil Ekstrak Etil Asetat

Nama kapang endofit	Jumlah ekstrak filtrat (mg)
A ₂ (Akar)	155,18
Ba ₂ (Batang)	184,32
Bu ₂ (Buah)	206,48
D ₁ (Daun)	110,71
D ₂ (Daun)	107,47

4.5 Hasil Uji Golongan Senyawa dengan KLT dan Pereaksi Semprot

Uji senyawa yang dilakukan dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan pereaksi semprot bertujuan untuk mengetahui jenis senyawa yang terkandung dalam metabolit sekunder dari kapang endofit tanaman tin. Sebelum melakukan uji KLT perlu dilakukan optimasi fase gerak untuk mendapatkan fase gerak yang tepat. Fase gerak yang tepat untuk pengujian kelima ekstrak A₂, Ba₂, Bu₂, D₁, dan D₂ yaitu etil asetat dan kloroform dengan perbandingan yang berbeda. Perbandingan fase gerak etil asetat dan kloroform pada ekstrak A₂ yaitu 3 : 2, Ba₂ yaitu 1 : 1, Bu₂ yaitu 1 : 1, D₁ yaitu 5 : 3, dan D₂

yaitu 5 : 3. Sedangkan untuk fase diam yang digunakan yaitu plat silika gel 60 GF254. Hasil elusi yang didapatkan disemprot dengan beberapa pereaksi semprot yaitu AlCl_3 , anisaldehyd, *Dragendorff*, FeCl_3 , dan *Liebermann Burchard*.

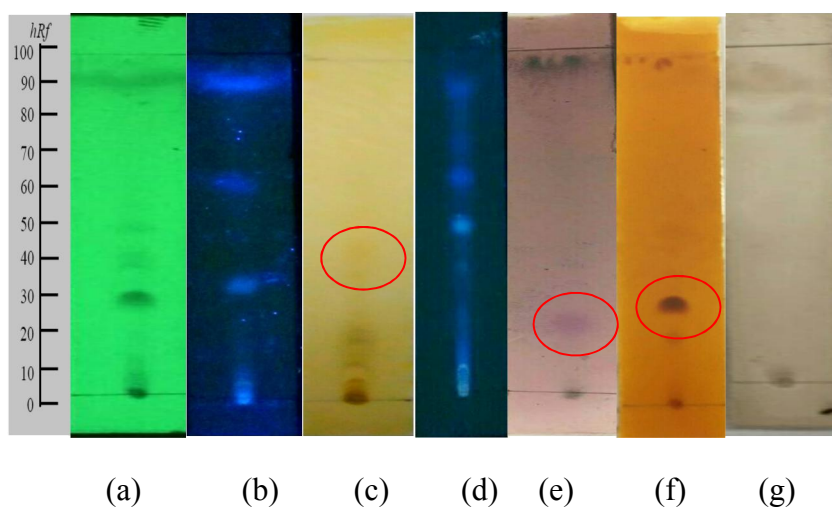
Hasil pereaksi semprot ini didapatkan bahwa ekstrak A_2 (akar) positif mengandung senyawa fenol dimana pada FeCl_3 yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehijauan dengan R_f 0,45; terpenoid pada pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu tua dengan R_f 0,33; dan alkaloid pada *dragendorff* yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga dengan R_f 0,37. Hasil pada ekstrak Ba_2 (batang) positif mengandung senyawa terpenoid pada pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu tua dengan R_f 0,4. Hasil pada ekstrak Bu_2 (buah) positif mengandung senyawa terpenoid pada pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu tua dengan R_f 0,31. Hasil pada ekstrak D_1 (daun) positif mengandung senyawa terpenoid pada pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu tua dengan R_f 0,3; fenol pada FeCl_3 yang ditandai dengan perubahan warna menjadi biru kehijauan dengan R_f 0,28 dan alkaloid pada pereaksi semprot *dragendorff* yang ditandai dengan perubahan warna menjadi jingga dengan R_f 0,35. Hasil pada ekstrak D_2 (daun) positif mengandung senyawa terpenoid pada pereaksi semprot anisaldehyd-asam sulfat yang ditandai dengan perubahan warna menjadi ungu tua dengan R_f 0,21. Menilik dari hasil yang didapatkan, semua ekstrak memiliki senyawa terpenoid dengan R_f yang berbeda. Namun R_f dari ekstrak Bu_2 dan D_1 memiliki kemiripan dan selisih yang tipis, serta ekstrak keduanya memiliki aktivitas sebagai antifungal. Kemungkinan senyawa terpenoid dalam ekstrak keduanya memiliki jenis terpenoid yang berbeda dengan ekstrak yang lain. Sedangkan, senyawa lain yang terdapat dalam ekstrak A_2 dan D_1 memiliki perbedaan aktivitas walaupun memiliki kandungan senyawa yang sama. Perbedaan senyawa tersebut dapat terlihat dari nilai R_f yang didapat. Hasil-hasil tersebut diasumsikan bahwa senyawa terpenoid dengan R_f 0,30/0,31 memiliki aktivitas sebagai antifungal, dan khususnya ekstrak D_1 memiliki kandungan senyawa seperti fenol dan alkaloid yang berbeda dengan

A₂ yang memiliki aktivitas sebagai antifungal. Hasil identifikasi senyawa kelima ekstrak dari isolat kapang endofit tanaman tin dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dapat dilihat pada Gambar 4.2-4.6.

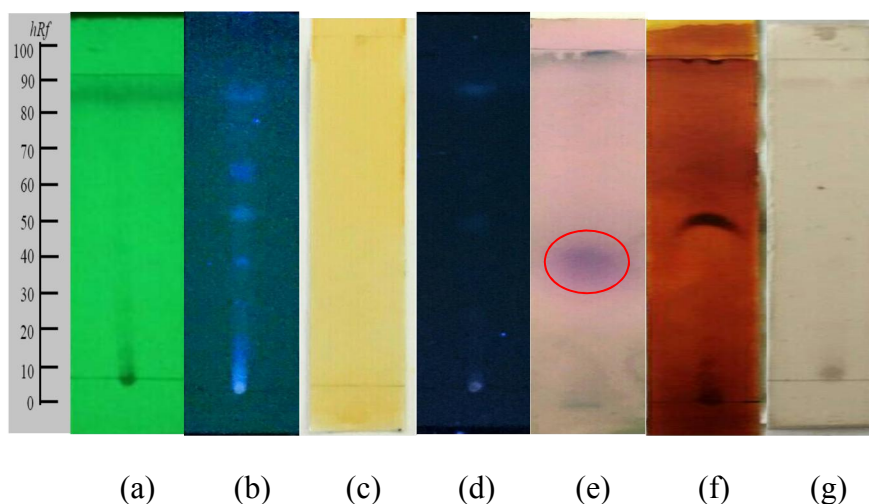
Tabel 4.5 Hasil Identifikasi Senyawa

Ekstrak	<i>R_f</i>	Pereaksi Semprot					Senyawa
		FeCl ₃	AlCl ₃	Anisaldehyd - asam sulfat	<i>Dragendorff</i>	<i>Liebermann Burchard</i>	
A ₂	0,45	+	-	-	-	-	Fenol
	0,33	-	-	+	-	-	Terpenoid
	0,37	-	-	-	+	-	Alkaloid
Ba ₂	0,4	-	-	+	-	-	Terpenoid
Bu ₂	0,31	-	-	+	-	-	Terpenoid
D ₁	0,28	+	-	-	-	-	Fenol
	0,3	-	-	+	-	-	Terpenoid
	0,35	-	-	-	+	-	Alkaloid
D ₂	0,21	-	-	+	-	-	Terpenoid

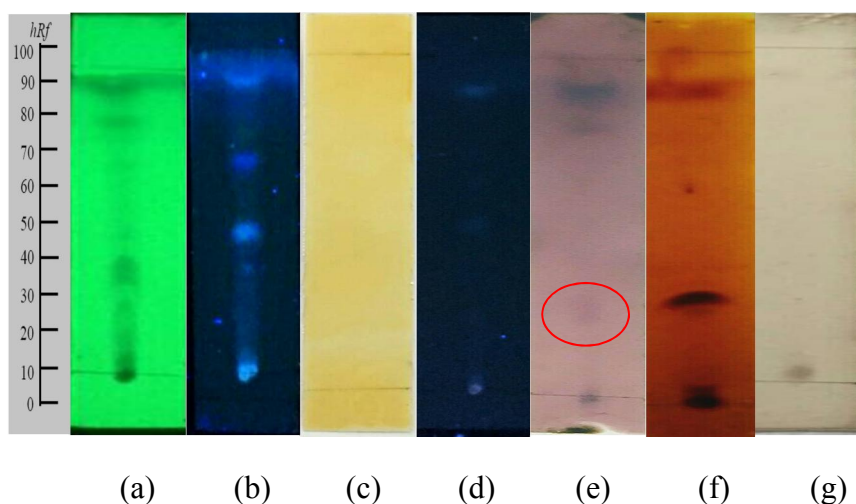
Keterangan: (+): menunjukkan hasil positif, (-): menunjukkan hasil negatif



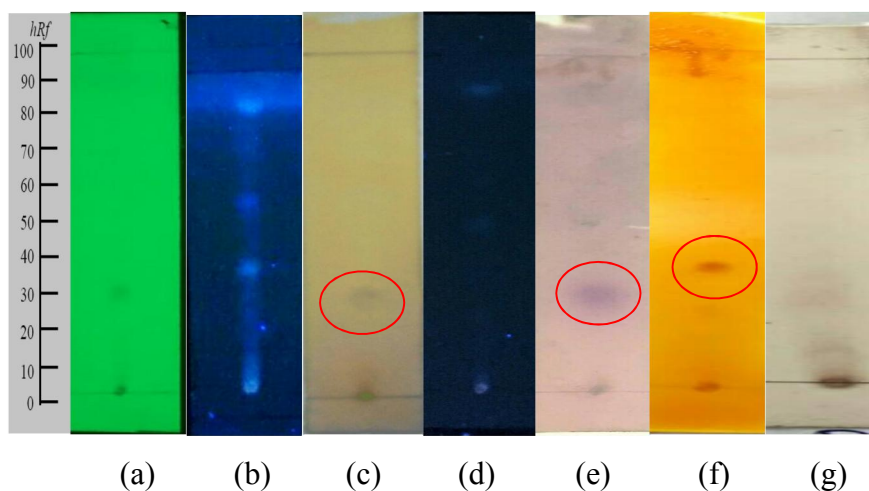
Gambar 4.2 Hasil identifikasi senyawa ekstrak A₂ dengan fase diam silika gel 60 GF254 dan fase gerak etil asetat : kloroform (3:2). (a) pengamatan UV₂₅₄ ; (b) pengamatan UV₃₆₆; (c) hasil kualitatif fenol (FeCl₃); (d) hasil kualitatif flavonoid (AlCl₃); (e) hasil kualitatif terpenoid (anisaldehid-asam sulfat); (f) hasil kualitatif alkaloid (*Dragendorff*); (g) hasil kualitatif steroid (*liebermann burchard*).



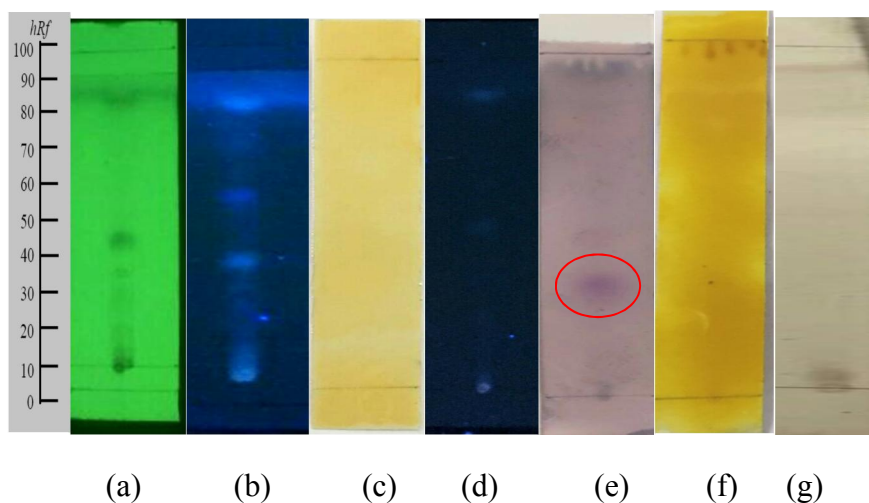
Gambar 4.3 Hasil identifikasi senyawa ekstrak Ba₂ dengan fase diam silika gel 60 GF254 dan fase gerak etil asetat : kloroform (1:1). (a) pengamatan UV₂₅₄ ; (b) pengamatan UV₃₆₆; (c) hasil kualitatif fenol (FeCl₃); (d) hasil kualitatif flavonoid (AlCl₃); (e) hasil kualitatif terpenoid (anisaldehid-asam sulfat); (f) hasil kualitatif alkaloid (*Dragendroff*); (g) hasil kualitatif steroid (*liebermann burchard*).



Gambar 4.4 Hasil identifikasi senyawa ekstrak Bu₂ dengan fase diam silika gel 60 GF254 dan fase gerak etil asetat : kloroform (1:1). (a) pengamatan UV₂₅₄ ; (b) pengamatan UV₃₆₆; (c) hasil kualitatif fenol (FeCl₃); (d) hasil kualitatif flavonoid (AlCl₃); (e) hasil kualitatif terpenoid (anisaldehid-asam sulfat); (f) hasil kualitatif alkaloid (*Dragendroff*); (g) hasil kualitatif steroid (*liebermann burchard*).



Gambar 4.5 Hasil identifikasi senyawa ekstrak D₁ dengan fase diam silika gel 60 GF254 dan fase gerak etil asetat : kloroform (5:3). (a) pengamatan UV₂₅₄ ; (b) pengamatan UV₃₆₆; (c) hasil kualitatif fenol (FeCl₃); (d) hasil kualitatif flavonoid (AlCl₃); (e) hasil kualitatif terpenoid (anisaldehid-asam sulfat); (f) hasil kualitatif alkaloid (*Dragendroff*); (g) hasil kualitatif steroid (*liebermann burchard*).



Gambar 4.6 Hasil identifikasi senyawa ekstrak D₂ dengan fase diam silika gel 60 GF254 dan fase gerak etil asetat : kloroform (5:3). (a) pengamatan UV₂₅₄ ; (b) pengamatan UV₃₆₆; (c) hasil kualitatif fenol (FeCl₃); (d) hasil kualitatif flavonoid (AlCl₃); (e) hasil kualitatif terpenoid (anisaldehid-asam sulfat); (f) hasil kualitatif alkaloid (*Dragendroff*); (g) hasil kualitatif steroid (*liebermann burchard*).

4.6 Hasil Uji Antifungal terhadap *Candida albicans*

Pengujian aktivitas antifungal digunakan untuk mengetahui aktivitas dari suatu ekstrak etil asetat yang dihasilkan oleh metabolit sekunder kapang endofit dari tanaman tin. Pengujian yang dilakukan memiliki 4 kontrol yaitu, kontrol media yang berisi media; kontrol pelarut yang berisi media, jamur *Candida albicans*, dan DMSO yang digunakan sebagai pelarut ekstrak; kontrol jamur yang berisi media dan jamur *Candida albicans*; dan kontrol perlakuan yang terdiri dari sembilan konsentrasi yang dimulai dari konsentrasi 2000 µg/ml; 1000 µg/ml; 500 µg/ml; 250 µg/ml; 125 µg/ml; 62,5 µg/ml; 31,25 µg/ml; 15,625 µg/ml; dan 7,8125 µg/ml. Kontrol perlakuan dengan konsentrasi di atas 1000 µg/ml dimaksudkan dengan perlakuan konsentrasi tersebut ada ekstrak yang berefek diatas 1000 µg/ml. Sedangkan, pada konsentrasi untuk menandakan sensitivitas aktivitas mikroba yang baik yaitu kurang dari 1000 µg/ml.

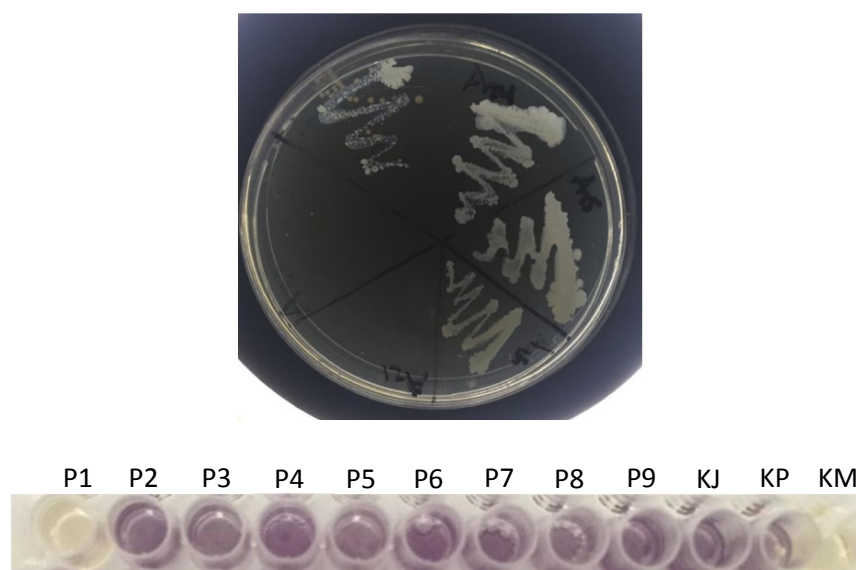
Uji aktivitas antifungal dilakukan dengan menggunakan jamur *Candida albicans*, dikarenakan jamur *Candida albicans* merupakan jamur flora normal yang terdapat pada tubuh, sehingga apabila daya tahan tubuh menurun maka produksi jamur *Candida albicans* akan meningkat sehingga menginfeksi tubuh. Pengujian aktivitas juga dilakukan pada kelima ekstrak etil asetat, yaitu ekstrak etil asetat akar, ekstrak etil asetat batang, ekstrak etil asetat buah, ekstrak etil asetat daun 1, dan ekstrak etil asetat daun 2. Kelima ekstrak etil asetat tersebut memberikan aktivitas yang berbeda-beda. Aktivitas antifungal terhadap *Candida albicans* dikarenakan kandungan senyawa dari masing-masing ekstrak berbeda. Senyawa yang dihasilkan dari metabolit sekunder ini memiliki peran masing-masing dalam menghambat pertumbuhan jamur. Senyawa tersebut memiliki mekanisme yang berbeda terhadap peran yang berbeda disebabkan karena masing-masing senyawa mempunyai mekanisme dalam menghambat pertumbuhan yang berbeda.

4.6.1 Hasil Uji Penentuan Nilai KHM

Hasil pengujian dengan menggunakan MTT bertujuan untuk melihat secara kasat mata perubahan warna dari reaksi yang dihasilkan oleh MTT *Assay*. Perubahan yang didapatkan dari MTT *Assay* yaitu perubahan dari warna kuning

menjadi ungu. Warna kuning diartikan bahwa tidak terdapat aktivitas jamur yang hidup dalam media tersebut. Warna ungu diartikan bahwa terdapat aktivitas jamur dalam media tersebut. Perubahan warna tersebut sesuai dengan prinsip *MTT Assay*, yaitu *MTT* dapat direduksi menjadi garam formazan oleh enzim suksinal dehidrogenase yang terdapat di dalam mitokondria sel hidup (Stockert *et al.*, 2012). Hasil pengujian *MTT Assay* ini dapat dikonfirmasi dengan menggunakan teknik penggoresan. Teknik penggoresan tersebut bertujuan untuk mengkonfirmasi terkait kematian sel yang dilakukan menggunakan teknik *MTT Assay*. Teknik tersebut memiliki tujuan lain yaitu untuk melihat KHM. Hasil yang diperoleh dari uji penentuan nilai KHM dan kultur ulang mikroba uji (*Candida albicans*) yaitu,

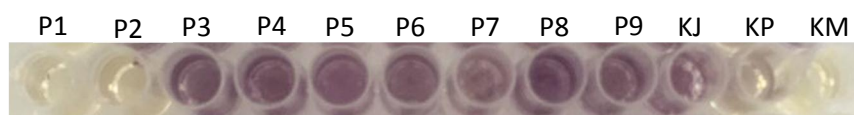
a. Hasil A₂ (Akar)



Gambar 4.7 Hasil A₂ (Akar). A₂(1): *C.albicans* ekstrak A₂ konsentrasi 2000µg/ml, A₂(2): *C.albicans* ekstrak A₂ konsentrasi 1000µg/ml, A₂(3): *C.albicans* ekstrak A₂ konsentrasi 500µg/ml, A₂(4): *C.albicans* ekstrak A₂ konsentrasi 250µg/ml, A₂(5): *C.albicans* ekstrak A₂ konsentrasi 125µg/ml, A₂(6): *C.albicans* ekstrak A₂ konsentrasi 62,5µg/ml. P1: konsentrasi 2000µg/ml, P2: konsentrasi 1000µg/ml, P3: konsentrasi 500µg/ml, P4: konsentrasi 250µg/ml, P5: konsentrasi 125µg/ml, P6: konsentrasi 62,5µg/ml, P7: konsentrasi 31,25µg/ml, P8: konsentrasi 15,625µg/ml, P9: konsentrasi 7,8125µg/ml, KJ : Kontrol Jamur (100µl MHB + *Candida albicans*), KP: Kontrol Pelarut (90µl MHB + 10µl DMSO), KM: Kontrol Media (100µl MHB).

Pengujian MTT *Assay* pada ekstrak A₂ (Akar) menunjukkan hasil kualitatif yang ditandai dengan warna sampel yang masih mempertahankan warna kuning pada konsentrasi terendah seperti yang ditunjukkan pada sumuran dengan kode P1. Sementara itu untuk hasil kuantitatif menunjukkan bahwa nilai KHM dari ekstrak A₂ (Akar) terhadap jamur *Candida albicans* yaitu sebesar 2000 µg/ml.

b. Hasil Bu₂ (Buah)

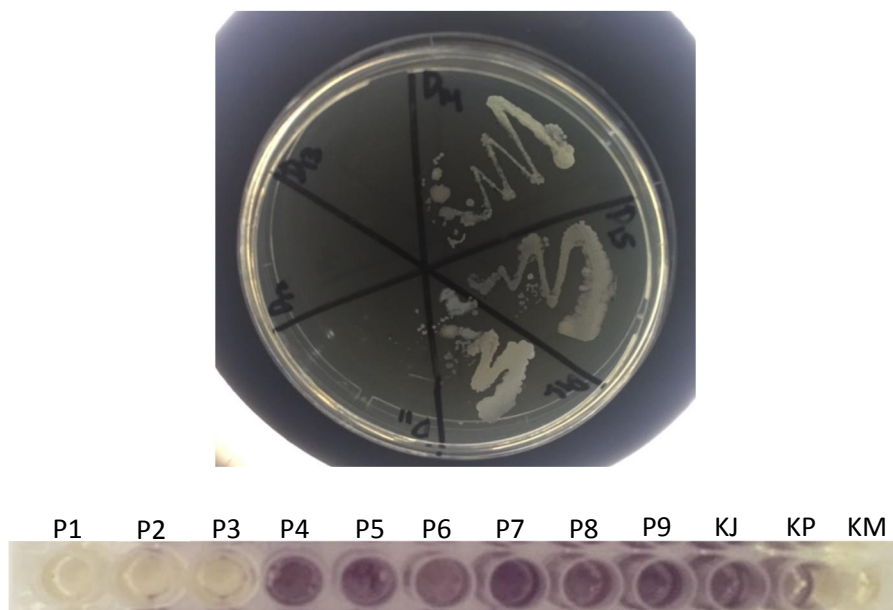


Gambar 4.8 Hasil Bu₂ (Buah). Bu₂(1): *C.albicans* ekstrak Bu₂ konsentrasi 2000µg/ml, Bu₂(2): *C.albicans* ekstrak Bu₂ konsentrasi 1000µg/ml, Bu₂(3): *C.albicans* ekstrak Bu₂ konsentrasi 500µg/ml, Bu₂(4): *C.albicans* ekstrak Bu₂ konsentrasi 250µg/ml, Bu₂(5): *C.albicans* ekstrak Bu₂ konsentrasi 125µg/ml, Bu₂(6): *C.albicans* ekstrak Bu₂ konsentrasi 62,5µg/ml. P1: konsentrasi 2000µg/ml, P2: konsentrasi 1000µg/ml, P3: konsentrasi 500µg/ml, P4: konsentrasi 250µg/ml, P5: konsentrasi 125µg/ml, P6: konsentrasi 62,5µg/ml, P7: konsentrasi 31,25µg/ml, P8: konsentrasi 15,625µg/ml, P9: konsentrasi 7,8125µg/ml, KJ : Kontrol Jamur (100µl MHB + *Candida albicans*), KP: Kontrol Pelarut (90µl MHB + 10µl DMSO), KM: Kontrol Media (100µl MHB).

Pengujian MTT *Assay* pada ekstrak Bu₂ (Buah) menunjukkan hasil kualitatif yang ditandai dengan warna sampel yang masih mempertahankan warna kuning pada konsentrasi terendah seperti yang ditunjukkan pada sumuran dengan kode P2. Sementara itu untuk hasil

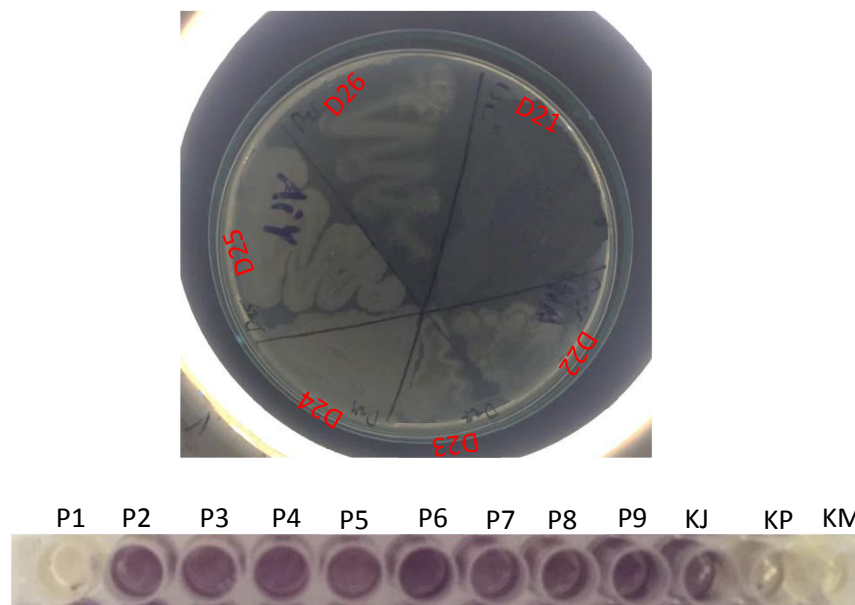
kuantitatif menunjukkan bahwa nilai KHM dari ekstrak Bu₂ (Buah) terhadap jamur *Candida albicans* yaitu sebesar 1000µg/ml.

c. Hasil D₁ (Daun)



Gambar 4.9 Hasil D₁ (Daun). D11: Ekstrak D₁ konsentrasi 2000µg/ml, D12: Ekstrak D₁ konsentrasi 1000µg/ml, D13: Ekstrak D₁ konsentrasi 500µg/ml, D14: Ekstrak D₁ konsentrasi 250µg/ml, D15: Ekstrak D₁ konsentrasi 125µg/ml, D16: Ekstrak D₁ konsentrasi 62,5µg/ml, P1: konsentrasi 2000µg/ml, P2: konsentrasi 1000µg/ml, P3: konsentrasi 500µg/ml, P4: konsentrasi 250µg/ml, P5: konsentrasi 125µg/ml, P6: konsentrasi 62,5µg/ml, P7: konsentrasi 31,25µg/ml, P8: konsentrasi 15,625µg/ml, P9: konsentrasi 7,8125µg/ml, KJ : Kontrol Jamur (100µl MHB + *Candida albicans*), KP: Kontrol Pelarut (90µl MHB + 10µl DMSO), KM: Kontrol Media (100µl MHB).

Pengujian MTT *Assay* pada ekstrak D₁ (Daun) menunjukkan hasil kualitatif yang ditandai dengan warna sampel yang masih mempertahankan warna kuning pada konsentrasi terendah seperti yang ditunjukkan pada sumuran dengan kode P3. Sementara itu untuk hasil kuantitatif menunjukkan bahwa nilai KHM dari ekstrak D₁ (Daun) terhadap jamur *Candida albicans* yaitu sebesar 500µg/ml.

d. Hasil D₂ (Daun)

Gambar 4.10 Hasil D₂ (Daun) D21: Ekstrak D₂ konsentrasi 2000 μ g/ml, D22: Ekstrak D₂ konsentrasi 1000 μ g/ml, D23: Ekstrak D₂ konsentrasi 500 μ g/ml, D24: Ekstrak D₂ konsentrasi 250 μ g/ml, D25: Ekstrak D₂ konsentrasi 125 μ g/ml, D26: Ekstrak D₂ konsentrasi 62,5 μ g/ml, P1: konsentrasi 2000 μ g/ml, P2: konsentrasi 1000 μ g/ml, P3: konsentrasi 500 μ g/ml, P4: konsentrasi 250 μ g/ml, P5: konsentrasi 125 μ g/ml, P6: konsentrasi 62,5 μ g/ml, P7: konsentrasi 31,25 μ g/ml, P8: konsentrasi 15,625 μ g/ml, P9: konsentrasi 7,8125 μ g/ml, KJ : Kontrol Jamur (100 μ l MHB + *Candida albicans*), KP: Kontrol Pelarut (90 μ l MHB + 10 μ l DMSO), KM: Kontrol Media (100 μ l MHB).

Pengujian MTT *Assay* pada ekstrak D₁ (Daun) menunjukkan hasil kualitatif yang ditandai dengan warna sampel yang masih mempertahankan warna kuning pada konsentrasi terendah seperti yang ditunjukkan pada sumuran dengan kode P1. Sementara itu untuk hasil kuantitatif menunjukkan bahwa nilai KHM dari ekstrak D₁ (Daun) terhadap jamur *Candida albicans* yaitu sebesar 2000 μ g/ml

4.6.2 Hasil Uji Penentuan Persen (%) Kematian Sel Jamur

Pengujian aktivitas antifungal menggunakan *microplate reader* dapat disebut dengan pengujian secara kuantitatif. Kuantitatif dalam pengujian ini yaitu menghitung jumlah sel jamur yang mati yang didapat dari absorbansi pembacaan

microplate reader. Kematian sel jamur disebabkan karena senyawa yang terkandung dalam metabolit sekunder kapang endofit tanaman tin.

Penghitungan %kematian jamur diolah dengan *microsoft excel*. Hasil yang didapatkan berdasarkan rata-rata replikasi yang telah dilakukan, dimana hasil yang didapatkan sebagai berikut.

Tabel 4.6 Persentase (%) Kematian Sel Jamur *Candida albicans* Terhadap Ekstrak Bu₂ dan D₁

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g/ml}$)	Rata-Rata %Kematian Jamur
Bu ₂	500 $\mu\text{g/ml}$	$\pm 52,82$
D ₁	500 $\mu\text{g/ml}$	$\pm 72,55$

Berdasarkan hasil perhitungan rata-rata persentase kematian sel jamur *Candida albicans* terhadap ekstrak Bu₂ dan D₁ dapat disimpulkan bahwa D₁ memiliki persentase bunuh sel jamur lebih tinggi dan efektif dibandingkan dengan Bu₂. Hal tersebut dikarenakan pada ekstrak D₁ konsentrasi 500 $\mu\text{g/ml}$ mampu membunuh sel jamur sebesar $\pm 72,55\%$. Sementara, ekstrak sampel Bu₂ memiliki aktivitas bunuh sel jamur pada konsentrasi yang sama yaitu 500 $\mu\text{g/ml}$ mampu membunuh sel jamur sebesar $\pm 52,82\%$. Konsentrasi tersebut dapat dikatakan sebagai KHM (Kadar Hambat Minimum), dimana KHM yang sama menunjukkan perbedaan % kematian sel jamur pada masing-masing ekstrak. Perbedaan % kematian sel jamur membuktikan adanya suatu perbedaan aktivitas masing-masing ekstrak. KHM dapat dikatakan baik ketika memiliki kematian sel $> 50\%$.

Hasil yang didapatkan bahwa ekstrak D₁ yang berasal dari daun memiliki aktivitas sebagai antifungal dan terbukti dalam penelitian-penelitian sebelumnya yang dilakukan di India dan di Cina. Penelitian yang telah dilakukan oleh Prabavathy dan Nachiyar (2011) di India menyebutkan bahwa pada bagian daun kapang endofit dari tanaman tin memiliki kandungan senyawa berupa amina, alkaloid, dan flavonoid, serta memiliki aktivitas penghambatan pada bakteri. Hasil yang sama juga terdapat pada penelitian Liang *et al* (2016) di Cina menunjukkan bahwa bagian daun kapang endofit dari tanaman tin memiliki aktivitas sebagai antibakteri dan antifungi. Sedangkan, terkait hasil ekstrak Bu₂, didapatkan bahwa

ekstrak tersebut memiliki aktifitas sebagai antifungal. Penelitian terkait dengan kapang endofit pada bagian buah tanaman tin belum pernah dilakukan, namun ekstrak etanol dari buah tin terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang cukup tinggi terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus sp.*, *Enterobacter sp.*, *Klebsiella pneumonia*, *Salmonella typhi*, dan *Salmonella paratyphi* (Jasmine *et al.*, 2014). Dari penelitian sebelumnya yang membuktikan bahwa buah tin memiliki aktivitas antibakteri dimungkinkan memang benar buah tin dapat dijadikan sebagai antimikroba.