

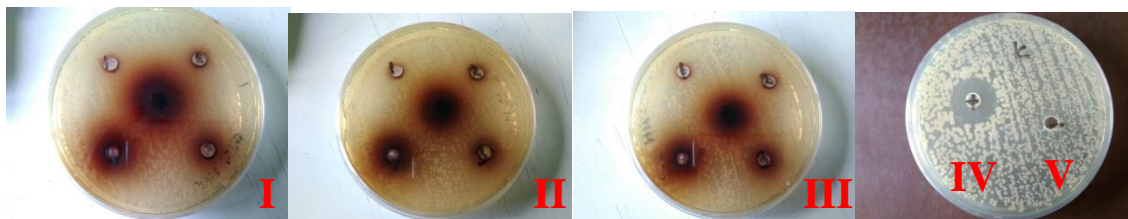
BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui daya antijamur dari ekstrak etanol dan fraksi air tanaman sarang semut (*Myrmecodia pendans* Merr. & Perry) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penelitian dilakukan secara *in vitro* dengan metode difusi agar. Sediaan jamur dan pengujian daya antijamur dilaksanakan di Balai Laboratorium Kesehatan (BLK) Yogyakarta.

Penelitian ini dilakukan dengan tiga kali pengulangan, KHM yang diperoleh dari masing-masing pengulangan di rata-rata sehingga didapat KHM pada konsentrasi tersebut. Hasil penelitian didapatkan dengan mengukur zona radikal yang terbentuk di sekeliling sumuran. Zona radikal yang terbentuk menandakan tidak adanya pertumbuhan jamur *C. albicans* pada area tersebut. Pengukuran dilakukan menggunakan *sliding caliper* dengan ketelitian 0.05 mm.



Gambar 6. Hasil Uji Ekstrak Etanol *M. pendans* dengan Difusi Padat

Keterangan:

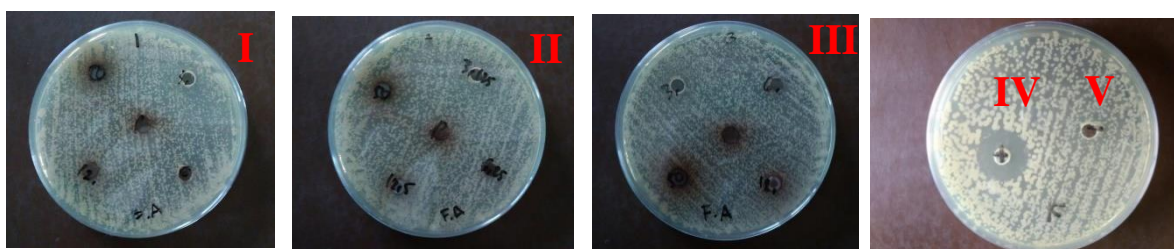
Gambar I : Hasil pengulangan ke-1 uji antijamur ekstrak etanol *M. pendans*

Gambar II : Hasil pengulangan ke-2 uji antijamur ekstrak etanol *M. pendans*

Gambar III : Hasil pengulangan ke-3 uji antijamur ekstrak etanol *M. pendans*

Gambar IV : Kontrol positif

Gambar V : Kontrol negatif



Gambar 7. Hasil Fraksi Air *M. pendans* dengan Difusi Padat

Keterangan :

Gambar I : Hasil pengulangan ke-1 uji antijamur fraksi air *M. pendans*

Gambar II : Hasil pengulangan ke-2 uji antijamur fraksi air *M. pendans*

Gambar III : Hasil pengulangan ke-3 uji antijamur fraksi air *M. pendans*

Gambar IV : Kontrol positif

Gambar V : Kontrol negatif

Hasil pengukuran zona radikal ekstrak etanol tanaman *M. pendans* terhadap pertumbuhan *C. albicans* yang diukur menggunakan *sliding caliper* dapat dilihat pada Tabel 3. sebagai berikut.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Zona Radikal Ekstrak Etanol *M. pendans* dan Kontrol.

Ekstrak Etanol	Rata-Rata Besar Hambatan (mm)
50%	3.95
25%	0
12.5%	0
6.25%	0
3.125%	0
Kontrol positif	16.5
Kontrol negatif	0

Hasil pengukuran zona radikal fraksi air tanaman *M. pendans* terhadap pertumbuhan *C. albicans* dapat dilihat pada Tabel 4. sebagai berikut.

Tabel 4. Hasil Pengukuran Zona Radikal Fraksi Air *M. pendans* dan Kontrol.

Fraksi Air	Rata-Rata Besar Hambatan (mm)
50%	0
25%	0
12.5%	0
6.25%	0
3.125%	0
Kontrol positif	16.5
Kontrol negatif	0

Tabel 3 menunjukkan bahwa ekstrak etanol tanaman *M. pendans* konsentrasi 50% memperlihatkan penghambatan dengan diameter sebesar 3.95 mm. Berdasarkan Tabel 4, fraksi air tidak menunjukkan pembentukan zona radikal, sedangkan nistatin sebagai kontrol positif memiliki zona radikal tertinggi dengan diameter 16.5 mm dan akuades tidak menunjukkan pembentukan zona radikal.

Hasil pengukuran kemudian di analisis menggunakan uji normalitas untuk mengetahui data yang didapat terdistribusi normal atau tidak. Berdasarkan uji normalitas dengan metode *Shapiro-Wilk* yang telah dilakukan menunjukkan bahwa distribusi data yang didapat tidak normal, karena nilai probabilitas (p) $<0,05$. Distribusi data yang tidak normal membuat syarat uji *One-way ANOVA* tidak terpenuhi, sehingga dilakukan uji *Kruskal-Wallis*.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* didapat nilai $p = 0,443$ yang berarti $p >0,05$, sehingga dapat diambil kesimpulan bahwa tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ekstrak etanol dan fraksi air tanaman *M. pendans* dengan konsentrasi 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25%, serta 50% terhadap pertumbuhan *C. albicans* ($p >0,05$).

B. Pembahasan

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol tanaman *M. pendans* konsentrasi 50% memperlihatkan penghambatan dengan diameter sebesar 3.95 mm. Ekstrak etanol konsentrasi 3.125%, 6.25%, 12.5%, dan 25%, serta fraksi air tidak menunjukkan pembentukan zona hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Kontrol positif menggunakan nistatin 100.000 IU/ml dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan diameter zona radikal sebesar 16.5 mm, sedangkan kontrol negatif menggunakan akuades tidak menunjukkan pembentukan zona radikal.

Hasil uji *Kruskal-Wallis* yang dilakukan diperoleh nilai $p = 0,443$ yang berarti nilai $p >0,05$. Hal ini menunjukkan bahwa secara statistik tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara ekstrak etanol dan fraksi air tanaman *M.*

pendans dengan konsentrasi 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25%, serta 50% terhadap pertumbuhan *C. albicans* ($p > 0,05$). Secara klinis terdapat perbedaan antara ekstrak etanol dan fraksi air tanaman *M. pendans* terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi terendah yang dibutuhkan suatu agen antijamur dalam menghambat pertumbuhan jamur. Besar KHM didapat dengan melakukan pengukuran diameter zona radikal yang terbentuk di sekeliling lubang sumuran. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa KHM ekstrak etanol tanaman *M. pendans* terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* terdapat pada konsentrasi 50%, sedangkan fraksi air tidak menunjukkan daya antijamur.

Kemampuan ekstrak tanaman *M. pendans* sebagai antijamur disebabkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalamnya. Penelitian oleh Subroto & Saputro (2006), menunjukkan bahwa tanaman ini mengandung senyawa aktif seperti flavonoid, tanin, polifenol, tokoferol, serta berbagai mineral yang memiliki manfaat. Flavonoid merusak fungsi membran dan dinding sel dengan kemampuannya dalam membentuk ikatan kompleks dengan protein ekstraseluler terlarut serta dinding sel. Sifat lipofilik yang dimiliki flavonoid juga dapat merusak membran sel jamur (Fihlo, *et al.*, 2016).

Sifat antijamur tanin terjadi karena tanin dapat merusak protein dan bereaksi dengan dinding sel serta menembus membran sel jamur. Tanin sebagai antimikroba berhubungan dengan kemampuan hidrolisis ikatan ester di antara asam galat yang mempengaruhi proses biosintesis terhadap sintesis dinding sel

dan membran sel. Perubahan permeabilitas membran sel yang terjadi dapat menyebabkan penurunan volume sel (Balafif, *et al.*, 2017). Senyawa polifenol dikenal memiliki khasiat sebagai antimikroba, antidiabetes, dan antikanker (Subroto & Saputro, 2006).

Penelitian mengenai aktivitas antijamur fraksi air sarang semut (*Myrmecodia pendens*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* menunjukkan bahwa nilai KHM fraksi air *M. pendens* yaitu 1.250 µg/mL dan nilai KBM sebesar 2.500 µg/mL (Balafif, *et al.*, 2017).

Berbeda dengan penelitian oleh Attamimi, *et al.* (2017), mengenai uji aktivitas antibakteri ekstrak kasar umbi sarang semut (*Myrmecodia pendens*) dibanding dengan klorheksidin terhadap *Streptococcus sanguinis* menunjukkan bahwa ekstrak kasar memiliki aktivitas bakteriostatik terhadap bakteri *S. sanguinis*. Hasil uji MIC menunjukkan pada konsentrasi di antara 9,77 ppm dan 19,53 ppm ekstrak kasar umbi sarang semut dapat menyebabkan kematian sel di atas 50%.

Penelitian lain oleh Soeksmanto, *et al.* (2010), menunjukkan bahwa fraksi air dari tanaman *M. pendans* memiliki aktivitas antikanker dengan nilai IC50 fraksi air A 27,61 ppm (sel HeLa) dan 54,57 ppm (MCM-B2), sedangkan fraksi air B sebesar 29,36 ppm (HeLa) serta 74,20 ppm (MCM-B2). Berdasarkan beberapa penelitian, ekstrak etanol dan fraksi air tanaman *M. pendans* memiliki kemampuan menghambat yang berbeda.

Setiap mikroba memiliki struktur dan sifat yang berbeda. Pertumbuhan *C. albicans* berbeda dengan pertumbuhan mikroba, mikroba tumbuh di permukaan,

sedangkan jamur memiliki hifa sehingga pertumbuhannya menembus ke dalam media. Hal ini mengakibatkan konsentrasi yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhannya lebih besar (Gunawan & Sulistijowati, 1998). Spesies *Candida* juga dinilai sebagai spesies yang patogen dikarenakan kemampuannya untuk bertahan hidup di berbagai lokasi anatomi (Calderone & Fonzi, 2001). Jamur *Candida* dapat tumbuh pada lingkungan aerob maupun anaerob, dengan kondisi pH 2,5-7,5 dan temperatur berkisar 20°C-38°C. Spesies *Candida* yang bersifat patogen akan dengan mudah tumbuh pada suhu 25°C-37°C, sedangkan spesies yang cenderung bersifat saprofit semakin tinggi temperatur membuat kemampuan tumbuhnya menurun (Tjampakasari, 2006).

Kepekaan mikroba uji juga dipengaruhi oleh struktur membran sel, seperti jumlah peptidoglikan, jumlah lipid, dan adanya enzim pendegradasi yang mampu memecah senyawa aktif sampel uji (Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2005). Dinding sel *Candida* tersusun atas enam lapisan, yaitu *fibrillar layer* sebagai lapisan terluar, kemudian mannoprotein, β -glucan, β -glucan-chitin, mannoprotein, dan membran plasma (Kusumaningtyas, 2006). Dinding sel yang lebih tebal pada *Candida* menyebabkan dinding sel *Candida* lebih sulit untuk ditembus. Menurut Naglik *et al.* (2004), patogenitas *C. albicans* juga sering dihubungkan dengan produksi enzim hidrolitik ekstraseluler seperti *aspartyl proteinase*.

Patogenitas dan virulensi *Candida albicans* dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya *phenotypic switching*, dimorfisme morfologi, adhesi, sekresi enzim hidrolitik, dan faktor lain (Lestari, 2010). *Phenotypic switching* adalah sinyal proses perubahan patogen sebagai pertahanan dan beradaptasi untuk

menjadi lebih virulen serta efektif selama infeksi. Perubahan yang terjadi dapat secara morfologi, sifat permukaan sel, gambaran koloni, sifat biokimia, dan metabolisme (Kuleta, Maria, & Andrzej, 2009).

Dimorfisme morfologi merupakan kemampuan jamur untuk berubah bentuk antara sel *yeast* uniseluler dengan bentuk filamen yang disebut hifa dan pseudohifa (Lestari, 2010). Perubahan terjadi mengikuti lingkungan, seperti suhu fisiologis 37°C, pH ≥ 7 , konsentrasi CO₂ 5,5%, serta adanya serum atau sumber karbon yang merangsang pertumbuhan hifa (Kuleta, Maria, & Andrzej, 2009). Proses adesi pada sel epital dan endotel host dapat terjadi karena adanya reseptor pada permukaan dinding sel *C. albicans*, yaitu protein serum dan protein matriks ekstraseluler (Lestari, 2010). Adhesi dan pembentukan biofilm meningkatkan resistensi *C. albicans* terhadap agen antijamur dan peningkatan patogenitas diantara sub-populasi dari sel-sel yang membentuk biofilm. Selama pembentukan biofilm sekresi *Secrete Aspartyl Proteinase* (SAP) lebih tinggi (Mendes, *et al.*, 2007). Produksi matriks biofilm selama pembentukan biofilm juga berperan penting dalam resistensi *C. albicans* (Al-Fattani & Douglas, 2006).

Produksi dan sekresi enzim hidrolitik seperti protease, lipase, dan fosfolipase selain berperan dalam nutrisi juga membantu *C. albicans* merusak jaringan, penyebaran, dan berkontribusi terhadap patogenitas jamur (Lestari, 2010). Faktor virulensi lain yaitu kemampuan *C. albicans* mendapatkan zat besi dari lingkungan selama proses infeksi, faktor virulensi dalam mengatasi oksigen reaktif yang dihasilkan sel imun, serta faktor virulensi *calcineurin* sebagai sensor terhadap perubahan lingkungan (Blankenship, *et al.*, 2003).

Penelitian Balafif (2017), menunjukkan bahwa uji fitokimia fraksi air *M. pendans* mengandung flavonoid, fenol, tanin, saponin, dan terpenoid. Seluruh kandungan tersebut memiliki efek antijamur yang mekanisme kerjanya melalui gangguan fungsi membran sel dan dinding sel jamur. Terpenoid bersifat hidrofobik sehingga terpenoid dapat masuk menembus membran lipid dan berada diantara rantai asam lemak lipid bilayer, mengganggu pembentukan lipid, serta mengubah struktur membran sel. Sifat lipofilik terpenoid membuat senyawa ini dapat berpenetrasi ke dalam sel dan mengganggu biosintesis ergosterol (Mirona, *et al.*, 2014). Mekanisme saponin dalam merusak membran disebabkan sifatnya sebagai subfraktan yang berbentuk polar dapat memecah lapisan lemak sehingga permeabilitas membran, pemasukan zat yang diperlukan sel menjadi terganggu. Hal ini menyebabkan sel membengkak dan akhirnya pecah (Ilyas, 2008).

Senyawa flavonoid merupakan golongan terbesar diantara beberapa ribu senyawa fenol alam yang telah diketahui strukturnya. Beberapa golongan bahan polimer tumbuhan seperti lignin, melanin, dan tanin merupakan senyawa polifenol. Senyawa fenol sangat peka terhadap oksidasi enzim dan mungkin dapat hilang pada proses isolasi akibat kerja enzim fenolase yang terdapat pada tumbuhan. Ekstraksi senyawa fenol-tumbuhan menggunakan etanol mendidih biasanya dapat mencegah oksidasi enzim terjadi, namun prosedur ini harus dilakukan secara rutin (Harborne, 2006). Berdasarkan sifat fenol tersebut, kemungkinan hasil pengujian pada penelitian yang dilakukan dipengaruhi oleh sifat tidak stabil dari fraksi, sehingga saat pengujian fraksi mulai mengalami perubahan yang mengakibatkan fraksi tidak aktif lagi. Faktor lingkungan lain

seperti suhu dan perawatan fraksi yang kurang diperhatikan sebelum dilakukan pengujian beresiko mengganggu kestabilan kandungan fraksi.

Pengujian fraksi air tanaman *M. pendans* terhadap jamur *C. albicans* pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya daya antijamur. Hal ini dapat disebabkan karena sifat tidak stabil dari fraksi, sehingga saat pengujian fraksi mulai mengalami perubahan yang mengakibatkan fraksi tidak aktif lagi. Faktor yang dapat mempengaruhi kandungan metabolit sekunder tanaman yaitu tanaman *M. pendans* yang digunakan berasal dari tempat yang berbeda dengan penelitian yang dilakukan, sehingga mempengaruhi kandungan senyawa aktifnya. Menurut Laily (2012), faktor lingkungan seperti suhu, kondisi tanah, tipe tanah, dan ketinggian dapat mempengaruhi morfologi dan genetika tumbuhan. Faktor-faktor tersebut dapat menentukan proses aktivitas fisiologis tumbuhan. Faktor lain seperti suhu, waktu dan tempat penyimpanan, serta perawatan fraksi yang kurang diperhatikan sebelum dilakukan pengujian beresiko mengganggu kestabilan kandungan fraksi.

Perbedaan mekanisme kerja antara ekstrak etanol dan nistatin kemungkinan menjadi penyebab perbedaan Kadar Hambat Minimal (KHM) keduanya. Nistatin bekerja dengan interaksi ikatan hidrogen atom H pada ergosterol dan atom O yang kemudian membentuk pori pada membran sel jamur sehingga terjadi kebocoran dan kehilangan sitoplasma (Balafif, *et al.*, 2017). Hal ini sama dengan hasil penelitian yang sudah dilakukan bahwa pada ekstrak etanol dan kontrol positif yang menggunakan nistatin memiliki daya antijamur yang berbeda dalam menghambat *C. albicans*. Nistatin dapat dikatakan masih menjadi *gold* standar yang baik dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.