

## BAB V

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 5.1. Hasil Determinasi

Determinasi dilakukan di Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta. Tujuan dilakukan determinasi adalah untuk memastikan bahwa tanaman tersebut adalah benar merupakan spesies *Andrographis panicuata* [Burm.f] Ness. Hasil determinasi *Andrographis panicuata* [Burm.f] Ness dapat dilihat pada Lampiran 1.

#### 5.2. Hasil Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi dengan melakukan penggantian pelarut. Sebanyak 420 g simplisia yang telah dihaluskan dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama tiga kali 24 jam. Proses penambahan pelarut yang baru bertujuan agar pelarut yang digunakan tidak menjadi jenuh sehingga maserat yang diperoleh lebih optimal. Pelarut etanol 96% merupakan pelarut yang umum digunakan karena dapat menarik hampir semua senyawa dalam simplisia tersebut dan tidak memiliki aktivitas sebagai antijamur. Maserat yang didapat dipekatkan hingga didapat ekstrak cair seberat 47,498 g dengan nilai rendemen sebesar 11,3%. Rendemen adalah perbandingan antara ekstrak yang diperoleh dengan jumlah simplisia yang digunakan. Sehingga perbandingan antara ekstrak dan simplisia awal yang diperoleh sebesar 11,3%.



Senyawa alkaloid memiliki mekanisme menghambat pertumbuhan mikroba dengan mengganggu sintesis DNA dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel fungi, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Selain itu, menurut Gunawan, (2009:88-89) menyatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang mengandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel dan DNA fungi. Reaksi ini mengakibatkan terjadinya perubahan struktur dan susunan asam amino dan menimbulkan perubahan keseimbangan genetik pada rantai DNA sehingga akan mengalami kerusakan akan mendorong terjadinya lisis sel yang akan menyebabkan kematian sel pada fungi.

Mekanisme terpenoid adalah salah satu senyawa yang memiliki efek anti fungi. Terpenoid dapat berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel dan bahkan dapat menimbulkan lisis pada sel. Mekanisme terpenoid sebagai senyawa antifungi adalah dengan cara merusak membran sel sehingga pertumbuhan fungi terhambat. (Cowan, 1999:564-582).

#### **5.4. Hasil Penentuan Kadar Air**

Penentuan kadar air menunjukkan bahwa kadar air yang terkandung dalam simplisia daun sambiloto adalah 3,75%. Kadar air tersebut memenuhi persyaratan yaitu kadar air yang dikandung oleh suatu simplisia kurang dari 10%. Menurut DepKes RI, (1995:1035) bahwa simplisia harus mengandung kadar air kurang dari 10% ini dikarenakan untuk menjaga daya tahan simplisia tersebut selama

penyimpanan, karena kadar air yang tinggi pada simplisia dapat menyebabkan mudahnya mikroba untuk berkembang biak, sehingga akan terjadi perubahan pada simplisia tersebut.

### **5.5. Hasil Penentuan Kadar Abu**

Penentuan hasil kadar abu dibagi menjadi tiga bagian yaitu kadar abu total, kadar abu larut air dan kadar abu tidak larut asam. Untuk hasil dari kadar abu total didapat sebesar 3,275%. Sedangkan untuk kadar abu tidak larut asam didapat sebesar 2,337%. Sehingga penetapan kadar abu sesuai dengan persyaratan yaitu < 12% (DepKes RI, 1979:25).

Penentuan kadar abu total untuk menganalisis kandungan komponen mineral yang terdapat dalam simplisia. Kadar abu yang terukur merupakan bahan-bahan anorganik yang tidak terbakar dalam proses pengabuan, sedangkan bahan-bahan organik terbakar. Penentuan kadar abu tidak larut asam untuk mengetahui kadar silikat atau bahan-bahan non organik seperti garam fosfat, karbonat, klorida, sulfat, nitrat, dan logam alkali, terutama pasir yang menempel pada simplisia.

### **5.6. Penyiapan Media Dan Mikroba Uji**

Proses sterilisasi dilakukan terhadap media dan alat-alat gelas yang digunakan dengan cara panas lembab agar terbebas dari kontaminan mikroba lain. Dengan menggunakan panas lembab (uap air), mikroorganisme atau dalam hal ini fungi akan terkoagulasi dan terdenaturasi pada beberapa protein esensial dari

fungi tersebut. Selain itu proses pengerjaannya dilakukan secara aseptis untuk menghindari kontaminasi dari mikroba lain yang akan mengganggu hasil dari penelitian. Pengerjaan yang aseptis adalah dengan menyemprotkan alkohol pada lingkungan termasuk pada tangan. Hal ini dikarenakan alkohol dapat mendenaturasi protein dan menurunkan aktivitas mikroorganisme dan alkohol efektif untuk mendekontaminasi mikroorganisme yang mengandung lipid. Proses pengerjaannya berada diantara dua lampu bunsen untuk memperoleh daerah steril.

Jamur uji pertama yang digunakan adalah *Malassezia* sp. yang diperoleh dari Laboratorium Diagnostik Klinik, PT Biofarma (Persero) berasal dari pasien jamur panu. Media yang digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) ditambah minyak zaitun. Penambahan minyak zaitun pada media bertujuan untuk menunjang pertumbuhan jamur *Malassezia* sp. karena jamur *Malassezia* sp. memiliki sifat lipofilik, sehingga hanya dapat hidup di daerah yang berlemak dan memiliki kelembaban yang tinggi.

Jamur uji yang kedua yang digunakan adalah *Candida albicans* yang diperoleh dari Sekolah Farmasi, ITB, Bandung. Kemudian untuk membuat suspensi jamur *Malassezia* sp. dan *Candida albicans* digunakan NaCl fisiologis steril karena merupakan larutan isotonis sehingga dapat menjaga tekanan di dalam maupun diluar sel jamur agar tidak terjadi perbedaan tekanan yang menyebabkan sel jamur pecah atau lisis.

### 5.7. Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Sambiloto

Uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun sambiloto dibuat pada konsentrasi 0,5; 1; 2,5; 5; 10; dan 20% dengan metode difusi agar dengan cara perforasi. Pengujian ini dilakukan secara triplo dan dilakukan untuk melihat adanya aktivitas dari antijamur ekstrak etanol daun sambiloto pada beberapa konsentrasi yang kemudian dilanjutkan dengan menentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak etanol sambiloto terhadap jamur *Malassezia* sp. dan *Candida albicans*.

Pelarut yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak adalah DMSO (Dimetil Sulfoksida) karena DMSO memiliki kemampuan untuk melarutkan ekstrak yang tidak larut air tetapi tidak memiliki aktivitas terhadap jamur uji dan tidak mengganggu daya hambat ekstrak etanol daun sambiloto. Pada jamur *Malassezia* sp. dilakukan pengamatan selama 3 hari inkubasi dan *Candida albicans* dilakukan pengamatan selama 2 hari inkubasi. Inkubasi dilakukan untuk menunjang pertumbuhan fungi pada suhu optimalnya agar berkembang dengan baik.

**Tabel V.2** Diameter hambat (cm) ekstrak etanol daun sambiloto terhadap *Candida albicans*

Konsentrasi (%)	Rata-rata $\pm$ SD (cm)
20	1,98 $\pm$ 0,72
10	1,96 $\pm$ 0,66
5	1,85 $\pm$ 0,64
2,5	1,81 $\pm$ 0,63
1	1,75 $\pm$ 0,65
0,5	1,26 $\pm$ 0,18
Kontrol Negatif	-

**Keterangan :**

(-) = Tidak ada hambatan  
 Diameter lubang = 0,7 cm  
 Kontrol = DMSO

Pada **Tabel V.2** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*. Aktivitas antijamur dari ekstrak etanol daun sambiloto ditunjukkan dengan konsentrasi terkecil yaitu 0,5% menghasilkan diameter hambat sebesar 1,26 cm, konsentrasi ditingkatkan sampai dengan 20% menghasilkan diameter hambat sebesar 1,98 cm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antijamur sebanding dengan besarnya nilai konsentrasi atau semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto maka semakin besar aktivitas antijamur yang diberikan.

**Tabel V.3** Diameter hambat (cm) ekstrak etanol daun sambiloto terhadap *Malassezia* sp.

<b>Konsentrasi (%)</b>	<b>Rata-rata ± SD (cm)</b>
20	1,26 ± 0,06
10	1,21 ± 0,05
5	1,17 ± 0,06
2,5	1,09 ± 0,06
1	0,96 ± 0,25
0,5	0,89 ± 0,04
Kontrol Negatif	-

**Keterangan :**

(-) = Tidak ada hambatan  
 Diameter lubang = 0,7 cm  
 Kontrol = DMSO

Pada **Tabel V.3** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto memiliki aktivitas terhadap *Malassezia* sp. Aktivitas antijamur dari ekstrak etanol daun sambiloto ditunjukkan dengan konsentrasi terkecil yaitu 0,5% menghasilkan diameter hambat sebesar 0,89 cm, konsentrasi ditingkatkan sampai dengan 20% menghasilkan diameter hambat sebesar 1,26 cm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antijamur sebanding dengan besarnya nilai konsentrasi atau semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun sambiloto maka semakin besar aktivitas antijamur yang diberikan.

Dari pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto dapat menghasilkan hambatan pada jamur *Malassezia* sp. dan *Candida albicans*. Meskipun daya hambat dari *Candida albicans* lebih baik daripada *Malassezia* sp.. Dapat dilihat dari tabel masing-masing jamur uji bahwa diameter hambat pada *Candida albicans* menghasilkan hambatan yang lebih besar daripada *Malassezia* sp. seiring dengan adanya peningkatan konsentrasi. Bila dibandingkan dengan penelitian yang telah ada, ekstrak etanol daun sambiloto ini lebih

mempunyai efek antijamur lebih besar dan ini membuktikan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto dapat menghambat pertumbuhan jamur uji lebih baik. Hal ini disebabkan karena adanya kandungan senyawa terpen (monoterpenoid, sesquiterpen dan triterpenoid) dan juga flavanoid yang tertarik banyak pada pelarut etanol 96% yang digunakan pada penelitian ini sehingga dapat aktif terhadap bakteri, fungi, virus, dan protozoa.

#### 5.8. Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Etanol Daun Sambiloto

Penentuan konsentrasi hambat minimum bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah dari ekstrak etanol daun sambiloto yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia* sp. dan *Candida albicans*. Pengerjaan dilakukan secara triplo. Penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol daun sambiloto dibuat pada konsentrasi 0,5; 0,4; dan 0,3% untuk jamur uji *Malassezia* sp. dan 0,5; 0,4; 0,3; dan 0,2% untuk jamur uji *Candida albicans* menggunakan metode difusi agar dengan cara perforasi. Pengamatan dilakukan selama 3 hari inkubasi untuk *Malassezia* sp. dan 2 hari inkubasi untuk jamur *Candida albicans*.

**Tabel V.4** Diameter hambat (cm) KHM ekstrak etanol daun sambiloto terhadap *Candida albicans*

Konsentrasi (%)	Rata-rata $\pm$ SD (cm)
0,5	1,38 $\pm$ 0,36
0,4	1,18 $\pm$ 0,27
0,3	0,88 $\pm$ 0,07
0,2	-

**Keterangan :**

(-) = Tidak ada hambatan  
 Diameter lubang = 0,7 cm  
 Kontrol = DMSO

Pada **Tabel V.4** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto memiliki aktivitas terhadap jamur *Candida albicans* pada konsentrasi hingga 0,3% yang menghasilkan diameter hambat 0,88 cm. Sementara pada konsentrasi 0,2% ekstrak etanol daun sambiloto tidak memiliki aktivitas. Maka dapat diketahui konsentrasi hambat minimum dari ekstrak daun sambiloto adalah pada konsentrasi 0,3%.

**Tabel V.5** Diameter hambat (cm) KHM ekstrak etanol daun sambiloto terhadap *Malassezia* sp.

Konsentrasi (%)	Rata-rata ± SD (cm)
0,5	1,15 ± 0,04
0,4	1,02 ± 0,02
0,3	-

**Keterangan :**

(-) = Tidak ada hambatan  
 Diameter lubang = 0,7 cm  
 Kontrol = DMSO

Pada **Tabel V.5** menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto memiliki aktivitas terhadap jamur *Malassezia* sp. pada konsentrasi hingga 0,4% yang menghasilkan diameter hambat 1,02 cm. Sementara pada konsentrasi 0,3% ekstrak etanol daun sambiloto tidak memiliki aktivitas. Maka dapat diketahui konsentrasi hambat minimum dari ekstrak daun sambiloto adalah pada konsentrasi 0,4%.

Dari pembahasan diatas dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun sambiloto dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* lebih baik daripada *Malassezia* sp. Ini dapat dilihat dari konsentrasi hambat minimum (KHM) yang dihasilkan dari masing-masing jamur. Pada *Candida albicans* dapat menghambat hingga 0,3% sedangkan untuk *Malassezia* sp. hanya menghambat 0,4%. Ini

disebabkan karena Andrographolide diduga mempengaruhi kondisi rigiditas dinding sel *Candida albicans* yang secara dominan (80%) terdiri dari kitin, beta-glukan, dan mannoprotein (Carrillo-Muñoz AJ, *et al*, 2006:135)

### 5.9. Pengujian Potensial Antifungi Ketokonazol Terhadap Sediaan Uji

Uji banding aktivitas antijamur ekstrak etanol daun sambiloto terhadap aktivitas antijamur ketokonazol dilakukan dengan metode difusi agar dengan konsentrasi ketokonazol 100, 200, 400, 600, 800 dan 1000 ppm. Pengujian dilakukan secara triplo dan pengamatan dilakukan selama 3 hari inkubasi untuk *Malassezia* sp. dan 2 hari untuk jamur *Candida albicans*.

**Tabel V.6** Diameter hambat (cm) ketokonazol terhadap *Candida albicans*

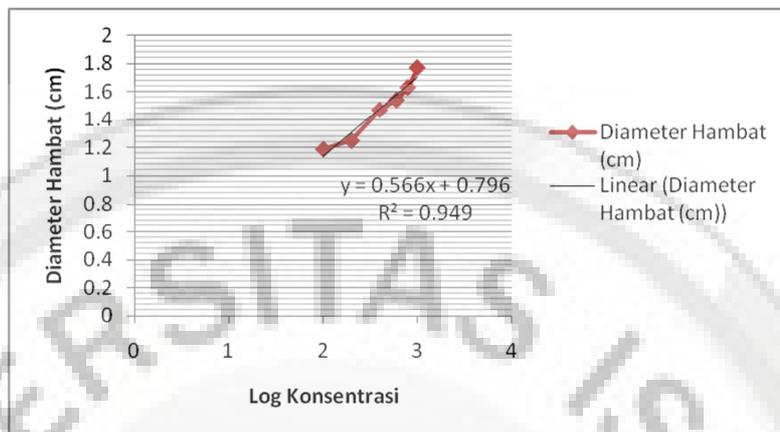
Konsentrasi (ppm)	Rata-rata ± SD (cm)
1000	1,77 ± 0,38
800	1,63 ± 0,32
600	1,54 ± 0,33
400	1,47 ± 0,248
200	1,25 ± 0,04
100	1,19 ± 0,02
Kontrol	-

**Keterangan :**

(-) = Tidak ada hambatan  
Diameter lubang = 0,7 cm  
Kontrol = DMSO

Pada **Tabel V.6** menunjukkan bahwa ketokonazol memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*. Aktivitas antijamur dari ketokonazol ditunjukkan dengan konsentrasi terkecil yaitu 100 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 1,19 cm, konsentrasi ditingkatkan sampai dengan 1.000 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 1,77 cm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antijamur

sebanding dengan besarnya nilai konsentrasi atau semakin besar konsentrasi ketokonazol maka semakin besar aktivitas antijamur yang diberikan.



**Gambar V.1** Grafik diameter hambat ketokonazol terhadap *Candida albicans*

Kurva hubungan antara logaritma konsentrasi (dosis) yaitu sumbu x terhadap diameter hambat (sumbu y) ketokonazol, maka diperoleh suatu bentuk kurva yang kemudian dibuat regresi linearnya dan dicari persamaannya.

Perhitungan nilai banding terhadap baku pembanding ketokonazol dihitung dengan menggunakan persamaan pada kurva baku ketokonazol yaitu didapatkan persamaan garis regresi linear  $y = 0,566x + 0,796$  dan  $R^2 = 0,949$ . Untuk mendapatkan x maka dimasukkan konsentrasi mana saja pada diameter hambat ekstrak etanol daun sambiloto pada y. Pada pembahasan ini menggunakan diameter hambat dengan konsentrasi 1% yaitu 1,75. Kemudian didapat  $x = 1,68$  dengan antilog diperoleh konsentrasi atau dosis 48,47  $\mu\text{g}$ . Jadi nilai banding ekstrak etanol daun sambiloto terhadap ketokonazol adalah 1% ( $1 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ ): 48,47  $\mu\text{g/mg}$  yang artinya 1 mg ekstrak etanol daun sambiloto sebanding dengan 0,048 mg ketokonazol.

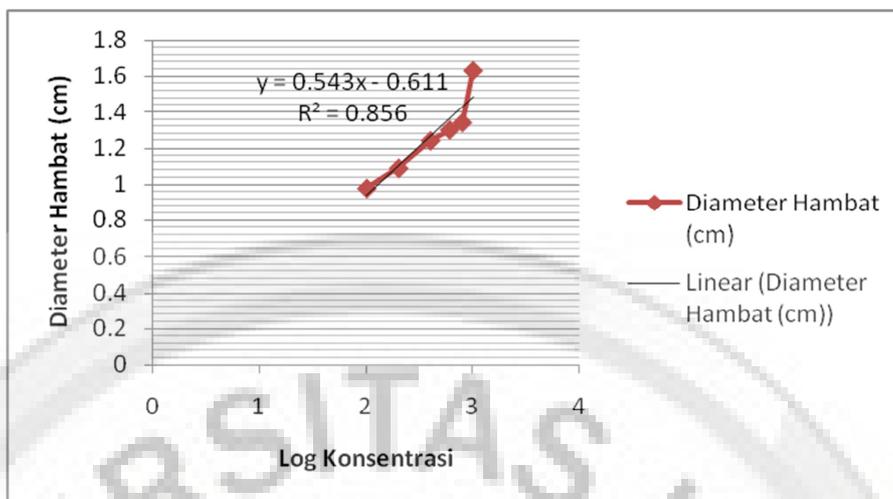
**Tabel V.7** Diameter hambat (cm) ketokonazol terhadap *Malassezia* sp.

Konsentrasi (ppm)	Rata-rata $\pm$ SD (cm)
1000	1,63 $\pm$ 0,01
800	1,34 $\pm$ 0,04
600	1,30 $\pm$ 0,06
400	1,24 $\pm$ 0,02
200	1,09 $\pm$ 0,02
100	0,98 $\pm$ 0,05
Kontrol	-

**Keterangan :**

(-) = Tidak ada hambatan  
 Diameter lubang = 0,7 cm  
 Kontrol = DMSO

Pada **Tabel V.7** menunjukkan bahwa ketokonazol memiliki aktivitas terhadap *Malassezia* sp. Aktivitas antijamur dari ketokonazol ditunjukkan dengan konsentrasi terkecil yaitu 100 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 0,98 cm, konsentrasi ditingkatkan sampai dengan 1.000 ppm menghasilkan diameter hambat sebesar 1,63 cm. Hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antijamur sebanding dengan besarnya nilai konsentrasi atau semakin besar konsentrasi ketokonazol maka semakin besar aktivitas antijamur yang diberikan.



**Gambar V.2** Grafik diameter hambat ketokonazol terhadap *Malassezia* sp.

Kurva hubungan antara logaritma konsentrasi (dosis) yaitu sumbu x terhadap diameter hambat (sumbu y) ketokonazol, maka diperoleh suatu bentuk kurva yang kemudian dibuat regresi linearnya dan dicari persamaannya.

Perhitungan nilai banding terhadap baku pembanding ketokonazol dihitung dengan menggunakan persamaan pada kurva baku ketokonazol yaitu didapatkan persamaan garis regresi linear  $y = 0,543x + 0,611$  dan  $R^2 = 0,856$ . Untuk mendapatkan x maka diameter hambat ekstrak etanol daun sambiloto yang mendekati diameter hambat ketokonazol pada pada y. Pada pembahasan ini menggunakan diameter hambat dengan konsentrasi 20% yaitu 1,26. Kemudian didapat  $x = 1,19$  dengan antilog diperoleh konsentrasi atau dosis  $15,67 \mu\text{g}$ . Jadi nilai banding ekstrak etanol daun sambiloto terhadap ketokonazol adalah 20% ( $20 \times 10^4 \mu\text{g/mL}$ ) :  $15,67 \mu\text{g/mg}$  yang artinya 20 mg ekstrak etanol daun sambiloto sebanding dengan  $7,8 \times 10^{-4}$  mg ketokonazol.