

BAB II

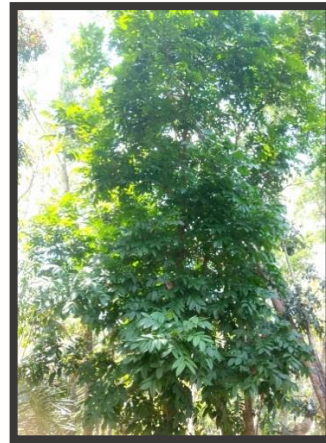
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Daun Mahoni (*Swietenia mahagoni* L.)

Swietenia mahagoni L. adalah tanaman berdaun, berukuran sedang yang ditemukan di India dan beberapa negara Afrika, tetapi berasal dari Hindia Barat. Di seluruh dunia biasa disebut mahoni Hindia Barat, *caoba*, *caoba dominicana* atau *acajou*. Tanaman ini termasuk salah satu spesies dari genus *Swietenia* yang termasuk dalam keluarga *chinaberry*, *Meliaceae*. Spesies lain dalam kelompok ini termasuk *S. humilis*, *S. condollie* dan *S. macrophylla*. Tanaman ini biasanya berumur panjang, pohon berukuran sedang tetapi dapat mencapai ukuran yang sangat besar, tergantung pada kondisi lingkungan tempat tumbuhnya. *Swietenia mahagony* pernah menjadi kayu kabinet yang paling dicari di dunia dan terus menjadi terkenal karena kayunya, yang digunakan dalam pembuatan kapal dan pembuatan furniture (Naveen *et al.*, 2014).



(A)



(B)

Gambar 2.1 Mahoni (*Swietenia mahagoni* Jacq.) (A) Daun Mahoni (B) Pohon Mahoni (Dokumen pribadi)

5.4.1 Klasifikasi Tanaman

Secara taksonomi, mahoni diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : *Magnoliophyta* (Tumbuhan berbunga)

Subdivisi : *Angiospermae*

Kelas : *Dicotyledonae*

Ordo : *Rutales*

Famili : *Meliaceae*

Genus : *Swietenia*

Spesies : *Swietenia mahagony* (L.) Jacq.

2.1.2 Nama Daerah

Indonesia : Mahoni, Maoni

Perancis : *Acajou*

Spanyol : *Caoba, Coabilla*

Inggris : *Mahogany*

(Naveen *et al.*, 2014)

2.1.3 Morfologi Tanaman

Mahoni merupakan pohon dengan ketinggian mencapai sekitar 1.290 cm. Tumbuhan ini memiliki daun berwarna hijau tua yang berselang-seling, dan majemuk menyirip. Daun yang masih muda berwarna merah dan setelah tua berubah menjadi hijau tua bunga majemuk. Bentuk biji adalah lanset atau bulat telur. Tanaman ini menghasilkan bunga hijau yang tidak mencolok setiap tahun. Buahnya berbentuk kapsul berkayu, berwarna coklat dengan bentuk lonjong hingga buah pir, mencapai panjang 8-16 cm, yang tidak menarik satwa liar. Di dalam buah terdapat biji berbentuk pipih dengan ujung agak tebal dan warnanya coklat kehitaman dan bersayap. Buah yang tua/masak kulit buahnya akan pecah dengan sendirinya dan biji-biji pipih akan bebas berterbangan. Cabang-cabang pohon terkulai saat pohon tumbuh (Naveen *et al.*, 2014).

2.1.4 Manfaat dan Aktivitas Biologi

Bagian tanaman telah digunakan secara lokal digunakan untuk mengobati banyak penyakit pada manusia seperti malaria, diabetes, diare dan hipertensi. Buah tanaman digunakan sebagai obat anti hiperglikemik yang kuat. Di negara Afrika, minyak biji mahoni digunakan sebagai terapi salep tubuh alternatif untuk berbagai luka kulit, gatal dan luka untuk memperbaiki proses penyembuhan. Rebusan kulit kayu digunakan untuk menambah nafsu makan, dan mengobati anemia, diare, disentri, demam dan sakit gigi. Rebusan daunnya digunakan untuk mengobati gangguan saraf, sedangkan infus bijinya meredakan nyeri dada. Biji mahoni memiliki potensi dalam mengendalikan amoebiasis, batuk dan parasitisme usus. Ekstrak bijinya pada konsentrasi 1 mg/mL terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* (Naveen *et al.*, 2014)

Penelitian pada daun mahoni yang diekstraksi dengan etanol, petroleum eter, kloroform, dan ekstrak air menunjukkan adanya alkaloid, flavonoid, terpenoid, tanin, glikosida, gula pereduksi dan antrakuinon. Telah dilaporkan bahwa flavonoid, terpenoid dan tanin memiliki aktivitas antibakteri terhadap berbagai bakteri patogen diantaranya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogenes*, *Salmonella typhi* dan *Escherichia coli* dan lain-lain. Ada hubungan yang erat antara struktur flavonoid dan aktivitas antibakteri (Ayyappadhas *et al.*, 2012).

2.1.5 Kandungan Kimia Tanaman.

Menurut Ayyappadhas (2012) dalam penelitiannya mengungkapkan bahwa ekstrak daun mahoni mengandung senyawa yang memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroba. Hal ini dikarenakan adanya senyawa metabolit sekunder dalam daun mahoni yang berpotensi sebagai antimikroba. Adanya flavonoid dan terpenoid menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik.

Tabel II.1 Hasil skrining fitokimia (Ayyappadhas *et al.*,2012)

Constituents	Types of extracts			
	Petroleum Ether	Chloroform	Ethanol	Water/aqueous
Saponins	-	-	-	+
Flavonoids	+	+	-	-
Tannins	-	-	+	+
Alkaloids	+	-	-	-
Anthraquinones	-	-	-	+
Terpenoids	+	-	+	-

Alkaloid, terpenoid, antrakuinon, glikosida jantung, saponin, dan minyak atsiri terkandung dalam ekstrak mentah biji metanol (Sahgal *et al.*, 2009).

2.1.6 Tinjauan Aktivitas Antifungi pada Tanaman Mahoni

Tanaman mahoni memiliki potensi sebagai antifungi karena senyawa aktif yang terkandung di dalam daunnya. Penelitian yang dilakukan oleh Yasjudani pada tahun 2017 menunjukkan bahwa daun mahoni mengandung alkaloid, flavonoid, dan fenol. Alkaloid diketahui dapat merusak dan melisiskan sel jamur sehingga menyebabkan kematian sel (Yan *et al.*, 2021). Flavonoid menunjukkan aktivitas dengan cara merusak nukleotida dan mencegah bahan aktif masuk ke dalam sel, yang mengakibatkan kematian sel (Rijayanti, 2014). Fenol merupakan senyawa antijamur yang menarik karena dapat berikatan dengan ergosterol, konstituen membran sel jamur, sehingga menghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur (Seneviratne and Koga-ito, 2015).

Penelitian yang sama oleh Yasjudani pada tahun 2017 menunjukkan bahwa ekstrak etanol 96% daun mahoni (*Swietenia mahagoni* L) mampu menghambat mikroba *Candida albicans*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Salmonella typh* dan *Vibrio sp.* Berikut hasil penelitian tersebut :

Tabel II.2 Hasil Skrining Aktivitas Antimikroba Ekstrak etanol 96% daun mahoni (*Swietenia mahagoni* L.) (Yasjudani, 2017).

Sampel	Mikroba uji (mm)								
	CA	EC	BS	PA	SA	SE	SM	ST	VB
Ekstrak etanol 96%	7,3	8	7,7	-	-	8,2	-	7,9	8

Keterangan :

CA = *Candida albicans*

EC = *Escherichia coli*

BS = *Bacillus subtilis*

PA = *Pseudomonas aeruginosa*

SA = *Staphylococcus aureus*

SE = *Staphylococcus epidermidis*

SM = *Streptococcus mutans*

ST = *Salmonella typh*

VB = *Vibrio sp*

2.2 Tinjauan jamur *Candida albicans*

Infeksi oportunistik yang disebut kandidiasis disebabkan oleh jamur *Candida* (sejenis jamur). Organisme eukariotik berbentuk jamur, ragi, atau jamur dimorfik adalah bentuk jamur yang sering ditemukan. Cara paling umum bahwa kandidiasis berkembang pada orang gangguan sistem imun adalah sebagai infeksi sekunder. Sinonim kandidiasis termasuk sariawan, *kandidosis*, dan *moniliasis* (Rafiq *et al.*, 2023). Kandidiasis oral dapat muncul sebagai eritematos, hiperplastik persisten, atau pseudomembran. Kandidiasis pseudomembran sering terjadi pada anak-anak dan pasien dengan penyakit kronis. Biasanya bermanifestasi sebagai plak putih lembut yang sedikit lebih tinggi di lidah dan mukosa bukal. Di rongga mulut, spesies *Candida* datang dalam berbagai bentuk. Spesies *Candida* oral antara lain *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. pseudotropicalis*, *C. stellatoidea*, dan *C. tropicalis*. Kandidiasis eritematosa juga dikenal sebagai nyeri oral yang diinduksi antibiotik. Ini terjadi ketika kortikosteroid atau antibiotik spektrum luas terus digunakan. Lesi bermanifestasi sebagai

atrofi papiler sentral lidah dan eritematosa, daerah yang secara konsisten menyakitkan. Kandidiasis hiperplastik kronis dikenal secara medis sebagai candida leukoplakia, kondisi ini ditandai dengan plak gigi putih yang keras di bibir, lidah, dan mukosa bukal. Plak ini dapat bertahan selama bertahun-tahun dan bisa homogen atau nodular. Kandidiasis vagina ditandai dengan rasa gatal pada alat kelamin, rasa terbakar, dan keluarnya cairan putih seperti keju dari vagina. Penis lebih jarang terkena infeksi jamur dan mungkin muncul dengan ruam yang gatal. Infeksi jamur kurang umum di penis, meskipun mereka masih dapat menyebabkan ruam gatal. Meskipun jarang menjadi invasif, infeksi jamur dapat menyebar ke area lain dari tubuh dan menyebabkan demam dan gejala lainnya (Rafiq *et al.*, 2023)

2.2.1 Klasifikasi *Candida albicans*

Klasifikasi Vasanthakumari (2007) mengenai *Candida albicans* adalah sebagai berikut :

Kingdom	: Fungi
Divisi	: <i>Ascomycota</i>
Sub Divisi	: <i>Saccharomyces</i>
Kelas	: <i>Saccharomycetes</i>
Ordo	: <i>Saccharomycetales</i>
Famili	: <i>Saccharomycetaceae</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

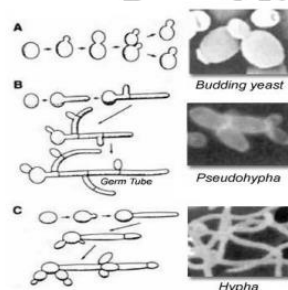


Gambar 2.2 Jamur *Candida albicans* (Kateryna, 2018)

2.2.2 Morfologi *Candida albicans*

Candida secara morfologi mempunyai beberapa bentuk elemen jamur yaitu sel ragi (*blastospora/ yeast*), hifa dan bentuk

intermedia/ pseudohifa. Sel ragi berkisar dalam ukuran dari 2-5 x 3-6 hingga 2-5,5 x 5-28 berbentuk bulat, oval, atau bulat oval. *Candida* berkembang biak dengan mengembangkan tunas, yang memanjang lebih jauh untuk membentuk pseudohifa. Pertumbuhan paling optimal pada nilai pH 2,5 hingga 7,5 dan suhu 20°C hingga 38°C. *Candida* adalah jamur yang tumbuh dalam 48 hingga 72 jam. Salah satu fitur penting untuk identifikasi adalah kapasitas *Candida* untuk tumbuh pada 37°C. Suhu antara 25°C dan 37°C ideal untuk pertumbuhan patogen, sementara suhu yang lebih tinggi menghambat kemampuan spesies saprofit untuk berkembang biak (Komariah, 2012).



Gambar 2.3 . Ilustrasi morfologi *Candida* .(a) bentuk khamir, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa (Hendriques,2019).

Candida dapat tumbuh baik secara aerobik maupun anaerobik pada suhu 37°C. Meskipun tumbuh lebih cepat pada media cair, *Candida* tumbuh dengan baik pada media padat juga. Lingkungan asam juga mendorong pertumbuhan lebih cepat bila dibandingkan dengan tingkat pH normal atau basa. Bentuk koloni *Candida* dalam agar-agar *sabouraud dekstroza*, *glucose-yeast extract-peptone water*. Ukuran partikel air rata-rata adalah 3,5-6 x 6-10 µm, dengan permukaan halus, licin, sedikit cembung yang kadang-kadang sedikit terlipat, terutama di koloni yang lebih tua. Umur biakan berdampak pada ukuran koloni. Koloni *Candida* memiliki bau yang berbeda dan berwarna putih kekuningan (krim lembut).



Gambar 2.4 Koloni *Candida albicans* pada media SDA diinkubasi pada suhu 37°C (Suraini *and* Sophia, 2023).

2.2.3 Patogenesis *Candida albicans*

Menurut Komariah (2012) beberapa tahapan patogenesis *Candida albicans* dalam rongga mulut sebagai berikut :

- 1) Tahap akuisisi adalah masuknya sel jamur ke dalam rongga mulut. Makanan dan minuman yang tercemar dengan *Candida albicans* dapat menyebabkan hal ini. Air liur dapat berfungsi sebagai media transmisi karena *Candida* dapat ditemukan di rongga mulut setelah kolonisasi.
- 2) Tahap stabilitas pertumbuhan adalah keadaan ketika *Candida* memasuki rongga mulut melalui akuisisi dan memiliki waktu untuk menetap, berkembang, dan membentuk populasi. Air liur terus bergerak, yang menyebabkan sel-sel *Candida* tertelan oleh air liur dan keluar dari rongga mulut. Jika tingkat penghilangan melebihi tingkat akuisisi, kolonisasi tidak terjadi. Faktor predisposisi harus ada agar kolonisasi dapat terjadi jika penghilangan melebihi jumlah akuisisi. Kehadiran *Candida* akan menempel dan berkembang biak jika penghapusan kurang dari akuisisi. Awal infeksi adalah langkah penting dalam proses kolonisasi.
- 3) Tahap perlekatan (adesi) dan penetrasi adalah interaksi antara sel *Candida* dengan sel pejamu yang merupakan syarat terjadinya kolonisasi. Kemampuan sel *Candida* untuk

melekat pada sel inang merupakan langkah kunci dalam kolonisasi dan kemungkinan penetrasi atau invasi ke dalam lapisan sel inang.

2.2.4 Infeksi akibat *Candida albicans*

Candida albicans memiliki kemampuan untuk menginduksi berbagai kondisi di berbagai lokasi di dalam tubuh (Rafiq *et al.*, 2023) antara lain rongga mulut, vagina, penis, atau bagian tubuh lainnya.

1) Mulut

Kandidiasis yang menyerang mulut biasa disebut kandidiasis. Kandidiasis oral muncul dalam tiga bentuk utama antara lain kandidiasis pseudomembran, kandidiasis eritematosa, dan kandidiasis hiperplastik kronis.

- a. Kandidiasis pseudomembran sering terjadi pada pasien penyakit kronis dan bayi membentuk plak putih, lembut, dan sedikit terangkat yang biasanya muncul di lidah dan pipi bagian dalam.
- b. Kandidiasis eritematosa muncul sebagai lesi eritematosa, dapat berkembang sebagai akibat dari penggunaan antibiotik atau kortikosteroid. Antibiotik spektrum luas dan obat kortikosteroid diketahui dapat meningkatkan risiko kondisi ini dengan mengganggu mikrobioma normal dan mengurangi fungsi kekebalan tubuh di dalam rongga mulut. Individu yang mengonsumsi obat-obatan tersebut dalam jangka panjang harus menyadari potensi efek samping ini dan segera berkonsultasi dengan ahli medis jika muncul gejala kandidiasis eritematosa, seperti bercak merah atau luka di mulut. Diagnosis dan pengobatan antijamur yang tepat waktu dapat mencegah ketidaknyamanan yang berkepanjangan dan membantu mengatasi infeksi.

- c. Kandidiasis hiperplastik kronis, juga dikenal sebagai *candida* leukoplakia, muncul dengan plak putih yang persisten di bibir, lidah, dan mukosa bukal.

2) Genitalia Wanita

Kandidiasis vagina ditandai dengan pruritus genital, sensasi terbakar, dan keluarnya cairan putih dari vagina yang penampilannya dan konsistensinya menyerupai keju cottage.

3) Genitalia pria

Penderita Individu dapat tertular infeksi melalui kontak fisik yang intim dengan pasangan yang mengalami vulvo vaginitis. Manifestasi klinisnya berupa erosi dan lesi pustular pada kepala penis. Kuku Lesi berupa kemerahan, pembengkakan yang tidak bernanah, kuku menjadi tebal, mengeras dan berlekuk-lekuk, kadang berwarna kecoklatan, dan rasa nyeri.

4) Kuku

Lesi berupa kemerahan, pembengkakan yang tidak bernanah, kuku menjadi tebal, mengeras dan berlekuk-lekuk, kadang berwarna kecoklatan, dan rasa nyeri.

2.3 Tinjauan Antifungi

Antifungi digunakan untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh jamur atau kapang. Antifungi menunjukkan aktivitas yang mengacu pada kemampuan senyawa untuk menghambat atau membunuh jamur tertentu. Hal ini menjadikan antifungi sebagai pengobatan potensial untuk penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur. Antifungi terbagi dalam dua klasifikasi: fungistatik dan fungisida. Obat-obatan fungistatik menghambat pertumbuhan jamur tanpa membunuh organisme, ditandai dengan zona hambat yang keruh. Obat-obatan fungisida membunuh jamur target melalui mekanisme kerja senyawa antijamur, ditandai dengan zona hambat yang jernih (Mutschler, 1999).

2.3.1 Mekanisme antifungi

Mekanisme antijamur dapat dikategorikan ke dalam beberapa komponen. Berdasarkan penelitian, mekanisme antijamur dapat dikelompokkan sebagai berikut (Prasad *et al.*, 2018) :

- a) Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur yaitu dengan menargetkan 14'- lanosterol demethylase yang dikodekan oleh gen ERG11 sehingga mengakibatkan penghambatan konversi lanosterol menjadi ergosterol yang bergantung pada sitokrom P450. Contoh : Golongan pertama meliputi imidazol yang terdiri dari mikonazol, oksikonazol, ekonazol, ketokonazol, tiokonazol, dan klotrimazol dengan dua atom nitrogen pada cincin azol, sedangkan golongan lain meliputi triazol seperti FLC, posaconazol, itraconazol, terconazol, dan vorikonazol yang mengandung tiga nitrogen atom dalam cincin siklik.
- b) Poliena, memiliki agen antifungi berikatan langsung dengan ergosterol yang terletak di dalam membran sel jamur, sehingga menyebabkan gangguan pembentukan pori- pori pada membran, sehingga mengakibatkan hilangnya keseimbangan ion, integritas membran, dan kematian sel. Poliena terutama mencakup amfoterisin B, natamicin dan nistatin.
- c) Analog pirimidin bekerja dengan cara menghambat fungsi seluler dengan menghalangi sintesis protein atau menghambat replikasi DNA. Analog obat ini menunjukkan aktivitas melawan spesies *Candida* dan *Cryptococcus* yang berbeda.

2.4 Tinjauan tentang Nistatin

Nistatin merupakan makrolida poliena aktif membran yang diproduksi oleh *Streptomyces noursei*. Obat ini tersedia dalam beberapa bentuk termasuk suspensi oral, krim topikal, dan pastiles oral. Nistatin juga berperan dalam pencegahan yang penting terhadap kandidiasis oral dan sistemik pada bayi baru lahir cukup bulan dan prematur, bayi, dan pasien yang mengalami gangguan sistem imun seperti penderita AIDS, kanker atau

yang telah menerima transplantasi organ. Nistatin dikaitkan dengan insiden interaksi obat yang rendah dan biaya yang sesuai, terutama di negara-negara berkembang sehingga cocok untuk profilaksis pada populasi ini (Zhao, 2016).

2.4.1 Mekanisme Kerja

Nistatin memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja dengan cara berinteraksi dengan komponen sterol yang ada di membran sel jamur, terutama ergosterol, sehingga mengganggu integritas membran, dan mengakibatkan hilangnya keseimbangan ion, integritas membran, serta kematian sel (Zhao, 2016).

2.4.2 Indikasi

Nistatin digunakan sebagai pengobatan lini pertama untuk kasus kandidiasis mulut tanpa komplikasi. Kandidiasis mulut, yang merupakan infeksi jamur paling umum pada manusia, ditandai dengan pertumbuhan berlebih spesies *Candida* di epitel superfisial mukosa mulut. Nistatin telah disetujui penggunaannya untuk mengobati infeksi *candida* yang memengaruhi kulit, selaput lendir, dan saluran pencernaan. Banyak dari jenis infeksi ini telah terbukti merespons secara positif terhadap pengobatan dengan nistatin (Zhao, 2016).

2.5 Koloni Jamur dan Bakteri

Adapun perbedaan antara koloni dari jamur (Kapang dan Khamir) dan juga bakteri, antara lain :

a) Jamur (Kapang)

Kapang adalah jamur berserabut. Spora kapang dapat berkecambah menjadi struktur filamen multiseluler (hifa), yang dapat tumbuh lebih jauh ke dalam jaringan kompleks yang dikenal sebagai miselia. Ada dua jenis spora jamur yaitu spora seksual dan spora aseksual. Spora aseksual diproduksi dengan frekuensi yang lebih besar daripada spora seksual. Kapang dapat menghasilkan produk yang disebut mikotoksin. Mikotoksin adalah metabolit

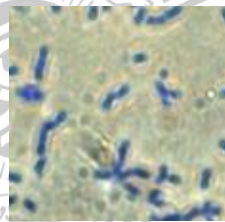
sekunder, sering diproduksi oleh jamur (kapang) di lingkungan dalam ruangan yang rusak karena air (Viljoen and Claassen, 2023).



Gambar 2.5 Pengamatan koloni kapang (Moensaku, Sine and Pardosi, 2021)

b) Jamur (Khamir)

Khamir merupakan mikroorganisme uniseluler yang diklasifikasikan ke dalam kerajaan fungi. Ukuran sel khamir beragam diantaranya : lebarnya berkisar antara 1-5 μ m dan panjangnya berkisar dari 5-30 μ m atau lebih. Khamir merupakan organisme eukariot, karena memiliki organisasi sel layaknya organisme tingkat tinggi di mana materi genetik yang dimilikinya sudah terselubungi oleh nukleus (Pratiwi, 2020).

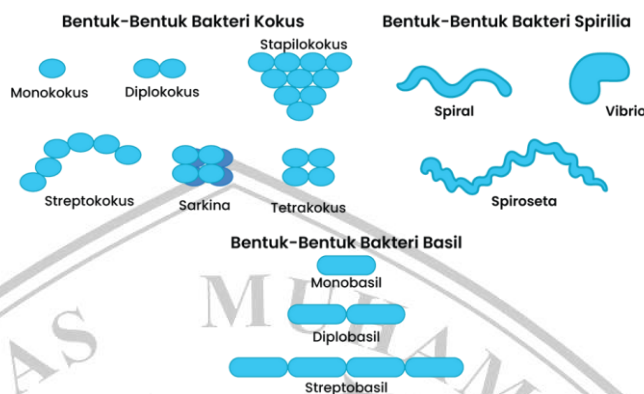


Gambar 2.6 Morfologi mikroskopis isolat khamir pada lama inkubasi 20 jam (Nurhayati *et al.*, 2022)

c) Bakteri

Bakteri adalah mikroorganisme patogen yang paling sering menyebabkan infeksi. Bakteri merupakan mikroorganisme uniseluler prokariot (Pratiwi, 2020). Bakteri adalah salah satu jenis organisme umum, terutama terdiri dari membran sel sebagai lapisan terdalam dari selubung sel, sitoplasma dengan ribosom, dan nucleoid. Berdasarkan morfologi umumnya, bakteri dapat dibedakan menjadi *kokus*, *basil*, dan *spirochetes* (Yan *et al.*, 2021). Sebagian besar bakteri berukuran antara 0,5-5 μ m. Namun, ada beberapa bakteri yang sangat besar seperti *Thiomargarita*, yang dapat mencapai lebar hingga 700 μ m. Meskipun bakteri dan

organisme lain seperti tanaman dan jamur memiliki dinding sel, komposisi dinding sel bakteri berbeda dalam menggunakan peptidoglikan sebagai komponen struktural utama daripada selulosa atau kitin. (Journal of Vocational Health Studies., 2019).



Gambar 2.7 Bentuk sel bakteri peptidoglikan (Journal of Vocational Health Studies., 2019)

2.6 Golongan senyawa Metabolit Sekunder yang Mengandung Aktivitas AntiJamur

Pada tanaman *Swietenia mahagoni* L., terdapat berbagai kategori senyawa metabolit sekunder yang menunjukkan sifat antijamur diantaranya, yaitu :

2.6.1 Alkaloid

Alkaloid adalah kelas senyawa yang mengandung nitrogen heterosiklik yang biasanya diisolasi dari tanaman. Berdasarkan struktur inti kimianya, alkaloid diklasifikasikan menjadi isoquinolin, quinolin, indoles, alkaloid piperidin. Senyawa turunan tanaman tertentu yang dikenal sebagai alkaloid telah terbukti menghambat pertumbuhan bakteri melalui beberapa mekanisme kerja. Alkaloid ini dapat mengganggu asam nukleat bakteri dan sintesis protein, mengubah permeabilitas membran sel bakteri. Mereka juga dapat merusak membran sel bakteri dan dinding sel. Proses metabolisme dalam bakteri juga dapat terganggu oleh alkaloid. Melalui berbagai efek pada struktur bakteri dan jalur biokimia internal ini, alkaloid menunjukkan kemampuan untuk mencegah berkembangbiakan

organisme mikroba tertentu yang tidak terkendali.. Selain mekanisme antibakteri yang sudah ada, alkaloid juga dapat menghambat aktivitas protease fungsional bakteri dan mempengaruhi DNA topoisomerase dan respirasi.. (Yan *et al.*, 2021).

2.6.2 Flavonoid

Flavonoid adalah metabolit sekunder polifenol yang berasal dari tanaman yang banyak terdapat dalam tanaman dan makanan. Mereka telah terbukti memiliki beberapa efek bioaktif seperti anti-virus dan anti-inflamasi.. Istilah “flavonoid” umumnya mengacu pada sekelompok senyawa yang mengandung tulang punggung difenil propana yang terdiri dari struktur karbon C6-C3-C6 pusat. Tulang punggung ini mengandung dua cincin aromatik, dilambangkan A dan B, yang dihubungkan oleh tiga rantai karbon tengah yang terdiri dari cincin C. Sebagian besar senyawa flavonoid dialokasikan dalam enam kategori, yaitu *favonol*, *favones*, *isofavones*, *antho cyanin*, *favanones*, dan *favanols* (Wang *et al.*, 2022). Flavonoid menunjukkan mekanisme kerja antimikroba melalui tiga jalur utama. Pertama, mampu menghambat sintesis asam nukleat di dalam sel mikroba. Kedua, flavonoid berdampak negatif pada fungsi membran sel. Ketiga, senyawa ini menghambat metabolisme energi mikroba. Melalui ketiga jalur ini, flavonoid menunjukkan aktivitas antimikroba (Rijayanti, 2014).

2.6.3 Terpenoid

Terpenoid adalah produk alami berbasis isoprena dengan peran mendasar dalam metabolisme semua organisme (Bergman, Davis and Phillips, 2019). Terpenoid menunjukkan mekanisme kerja antimikroba dengan merusak membran sel. Senyawa antibakteri mereka bereaksi dengan permukaan aktif membran, meningkatkan tingkat permeabilitas. Ketika permeabilitas meningkat, senyawa ini dapat masuk ke dalam sel dan melisiskan membran. Secara khusus, interaksi terpenoid dengan membran sel mikroba mengganggu

integritas, memungkinkan isi internal keluar dan pada akhirnya menyebabkan pecahnya membran. Mekanisme kerusakan membran ini mendasari kemampuan terpenoid untuk membasmi mikroba (Rahman *et al.*, 2017).

2.6.4 Tanin

Tanin adalah metabolit sekunder tanaman, yang dapat dihidrolisis atau dikondensasi. Tanin yang dapat terhidrolisis meliputi gallotannin dan ellagitannin yang masing-masing menghasilkan asam galat dan asam ellagat jika dihidrolisis (Rauf *et al.*, 2019). Tanin menunjukkan sifat antimikroba melalui efeknya pada dinding sel bakteri. Secara khusus, tanin mampu mengerutkan dinding sel, mengganggu permeabilitas sel. Gangguan pada dinding sel ini dapat mencegah mikroba menjalankan fungsi vitalnya, menghambat pertumbuhannya dan berpotensi mengakibatkan kematian sel. Mekanisme antimikroba tanin dengan demikian melibatkan kompromi integritas struktural dinding sel bakteri (Hariyati *et al.*, 2015).

2.6.5 Saponin

Saponin merupakan glikosida yang terdapat pada tumbuhan yang terdiri dari sapogenin dan gugus gula. Beberapa saponin adalah *dammaranes*, *tirucallanes*, dan *oleanane*. Senyawa tanaman tertentu yang dikenal sebagai saponin mampu mengacaukan membran sel, mengakibatkan keluarnya cairan intraseluler dan lisis sel. Saponin berinteraksi dengan dan merusak integritas membran, mengganggu penghalang permeabilitas normal dan memungkinkan konten bocor keluar dari sel. Interaksi ini menyebabkan permeabilisasi membran dan kerusakan sel melalui pecahnya membran setelah terpapar saponin (Silviani and Nirwana, 2020).

2.6.6 Antraquinon

Antraquinon merupakan kelompok besar zat warna atau pigmen dari kuinon alami. Antraquinon menunjukkan sifat antibakteri dengan mengganggu komponen peptidoglikan dinding

sel bakteri. Secara khusus, antrakuinon mengganggu pembentukan peptidoglikan sehingga lapisan dinding sel bakteri tidak dapat tersusun secara sempurna. Mekanisme kerja ini pada akhirnya mengakibatkan kematian sel bakteri (Robiyanto *et al.*, 2017).

2.6.7 Steroid

Senyawa steroid menunjukkan mekanisme kerja di mana mereka memungkinkan kebocoran isi liposom dan mengganggu integrasi ke dalam membran lipid, terutama pada bakteri gram negatif yang memiliki struktur dinding sel yang relatif nonpolar (Maulana and Triatmoko, 2020).

2.6.8 Polifenol

Senyawa fenolik yang diisolasi dari sumber alami memiliki sifat antijamur yang menarik. senyawa fenolik dapat menjadi strategi alternatif untuk meniadakan meningkatnya resistensi obat antijamur. Polifenol diketahui mempengaruhi membran sel bakteri gram positif dan gram negatif (Seneviratne and Koga-ito, 2015).

2.7 Tinjauan Ekstraksi

Ekstraksi didefinisikan sebagai suatu proses menghilangkan atau memperoleh senyawa yang diinginkan dari bahan sumbernya. Hasil dari ekstraksi disebut dengan ekstrak. Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. (Saputra, Arfi and Yulian, 2020).

Proses ekstraksi khususnya untuk bahan yang berasal dari tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Pengelompokan bagian tumbuhan (daun, bunga, biji, dll), pengeringan serta penggilingan bagian tumbuhan.
2. Pemilihan pelarut

Ada tiga kategori utama pelarut :

- Pelarut polar meliputi air, etanol, metanol, dan senyawa serupa yang dapat berinteraksi secara kuat dengan spesies bermuatan karena polaritasnya.
- Pelarut semipolar seperti etil asetat, diklorometana, dan lainnya memiliki tingkat polaritas menengah yang memungkinkannya untuk melarutkan zat-zat polar dan nonpolar tertentu.
- Pelarut nonpolar seperti n-heksana dan petroleum eter memiliki polaritas yang sangat rendah sehingga mampu melarutkan spesies non-ionik karena ketidakmampuannya untuk berinteraksi dengan molekul bermuatan. Pelarut ini biasanya digunakan untuk ekstraksi dan pemurnian senyawa organik nonpolar dan polar lemah.

Ekstraksi Ada beberapa jenis metode ekstraksi yang dapat digunakan. Ekstraksi dapat dilakukan melalui metode dingin seperti maserasi dan perkolasi, ekstraksi cara panas seperti refluks dan ekstraksi Soxhlet dan ekstraksi metode lainnya diantaranya ekstraksi kontinu, ekstraksi ultrasonik, dan menggunakan energi listrik. Setiap metode ekstraksi memiliki kelebihan dan keterbatasan tergantung pada aplikasi spesifiknya. Pemilihan teknik yang tepat penting untuk mendapatkan senyawa yang diinginkan secara efisien dari bahan sumber di laboratorium atau industri (Proestos *et al.*, 2023).

2.7.1 Metode Maserasi Perendaman

Maserasi adalah teknik yang digunakan untuk memisahkan senyawa dengan cara merendam bahan dalam pelarut organik pada suhu tertentu (Kasim *et al.*, 2020). Proses maserasi dipengaruhi oleh suhu, waktu, dan juga jenis pelarut maserasi yang digunakan. Pada metode ini, sampel direndam dalam pelarut seperti air, etanol, n-heksana, methanol, dll. Untuk 3-7 hari dengan sesekali dikocok untuk mengekstrak fitokimia. Setelah di maserasi, cairan disaring. Residu padat ditekan untuk mengekstraksi cairan sebanyak-banyaknya. Metode ekstraksi ini adalah proses yang aman dan

efektif untuk ekstraksi obat mentah dan juga diakui oleh India Farmakope untuk ekstraksi obat mentah (Proestos *et al.*, 2023).

Keuntungan Dan Kerugian Maserasi

a. Kelebihan dari ekstraksi dengan metode maserasi (Kasim *et al.*, 2020) :

- 1) Alat-alat yang diperlukan sederhana, hanya membutuhkan bejana untuk merendam.
- 2) Proses ini dapat diselesaikan secara efisien tanpa komitmen waktu yang panjang.
- 3) Biaya operasionalnya relatif rendah
- 4) Proses ini relatif efisien dalam penyarian dan dapat dilakukan tanpa memerlukan pemanasan.

b. Kelemahan dari ekstraksi dengan metode maserasi (Nurhabiba *et al.*, 2020) :

- 1) Pelarut yang digunakan cukup banyak

2.7.2 Perkolasi

Perkolasi banyak digunakan dalam ekstraksi minyak esensial dari biji, kulit kayu, dan daun tanaman. Perkolasi merupakan proses kontinyu dimana pelarut jenuh terus-menerus digantikan oleh pelarut baru sehingga pelarut yang dibutuhkan lebih banyak (Zhang, Lin and Ye, 2018).

2.7.3 Infusa

Infusa adalah metode yang digunakan untuk mengekstrak senyawa yang tahan panas dan larut dalam minyak seperti tanin, dan flavonoid. Infus dapat dibuat dari bahan tanaman keras seperti akar, kulit kayu, dan batang. Prosesnya melibatkan penyulingan simplisia, atau bahan nabati, dengan air pada suhu 90°C selama kurang lebih 15 menit (Proestos *et al.*, 2023).

2.7.4 Refluks

Ekstraksi refluks adalah teknik ekstraksi berbasis pelarut di mana pelarut dipanaskan hingga titik didihnya selama durasi yang ditentukan dengan jumlah pelarut yang terkontrol. Selama proses

tersebut, pelarut terus menerus terkondensasi dan dikembalikan ke bejana ekstraksi melalui pendinginan balik. Hal ini mempertahankan tingkat pelarut yang relatif konstan. Ekstraksi refluks sering digunakan untuk mengekstraksi sampel dengan tekstur kasar atau kenyal yang tidak dapat menerima pemanasan langsung. Keterbatasan utamanya adalah bahwa metode ini memerlukan penggunaan total volume pelarut yang besar (Zhang, Lin and Ye, 2018).

2.7.5 Soxhlet

Ekstraksi soxhlet adalah metode ekstraksi otomatis dan kontinu yang memberikan efisiensi ekstraksi yang tinggi. Metode ini membutuhkan waktu yang relatif konstan dan konsumsi pelarut selama proses berlangsung, dengan bantuan pendinginan balik. Proses soxhlet lama serta volume pelarut yang tinggi menjadikan proses ini mahal (Proestos *et al.*, 2023).

2.7.6 Dekok

Dekok merupakan jenis infus yang dibuat dengan merebus bahan tanaman, biasanya kulit kayu, akar, atau biji, dalam air untuk waktu yang lama, biasanya 30 menit atau lebih. Proses dekok yang lebih lama ini diperlukan untuk mengekstrak senyawa tahan panas dari bahan tanaman, karena tidak dapat digunakan untuk mendapatkan komponen yang mudah menguap (Zhang, Lin and Ye, 2018).

2.8 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia berfungsi sebagai langkah awal untuk menentukan bahan aktif yang ada dalam tanaman yang merupakan metabolit sekunder. Skrining fitokimia berupaya mengidentifikasi bioaktif yang tidak mudah terlihat melalui tes yang dipercepat atau pemeriksaan yang mampu membedakan bahan alami yang mengandung kandungan fitokimia tertentu dengan bahan yang tidak memiliki kandungan fitokimia tersebut. Metode skrining fitokimia dilakukan dengan melihat reaksi

pengujian warna dengan menggunakan suatu pereaksi warna (Kristianti *et al.*, 2008).

Skrining fitokimia serbuk simplisia dan sampel dalam bentuk basah meliputi pemeriksaan kandungan senyawa alkaloida, flavonoida, terpenoida/ steroida, tanin dan saponin menurut prosedur yang telah dilakukan oleh Harbone (Harbone, 1987).

2.8.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah teknik analisis kromatografi yang mampu memisahkan campuran yang mengandung banyak komponen. KLT berfungsi dengan mempartisi analit secara berbeda antara fase diam, biasanya dilapisi pada lapisan tipis adsorben seperti silika gel, dan fase gerak, biasanya berupa pelarut atau campuran pelarut. Kromatografi lapis tipis (TLC) pertama kali dijelaskan pada tahun 1938. Penggunaannya menawarkan beberapa keuntungan dalam hal biaya, kemudahan, dan kesederhanaan (Deranieh, Joshi and Greenberg, 2017). Penjerap yang digunakan dalam KLT antara lain silika gel, alumina, keselgur, dan selulosa. Silika gel merupakan penjerap yang paling umum digunakan dalam KLT karena sifatnya yang sedikit asam sehingga dapat meminimalisir potensi reaksi asam-basa antara adsorben dan senyawa yang diisolasi (Harborne, 1987).

Identifikasi senyawa individual pada pelat kromatografi lapis tipis dapat dicapai secara efektif melalui penggunaan reagen kimia dan analisis reaksi warna. Nilai R_f yang didefinisikan sebagai rasio jarak yang ditempuh oleh senyawa dengan jarak yang ditempuh oleh pelarut, hal ini dapat didefinisikan sebagai berikut :

$$\text{Harga R}_f = \frac{\text{Jarak titik pusat bercak dari titik awal pentotolan}}{\text{Jarak Pengembangan}}$$

Identifikasi awal suatu senyawa bergantung pada perbandingan nilai R_f dengan nilai standar. Nilai R_f cenderung bervariasi di antara laboratorium karena beberapa faktor yang berkontribusi. Ini termasuk ukuran dan bahan ruang kromatografi,

sifat dan dimensi pelat, arah aliran fase gerak, volume dan komposisi fase gerak, kondisi kesetimbangan dalam sistem, kelembaban sekitar, dan teknik persiapan sampel sebelumnya yang digunakan pada pelat KLT. Kontrol yang tepat dan standar referensi harus digunakan untuk mengimbangi perbedaan teknis yang melekat pada lingkungan dan metode laboratorium individu (Deranieh, Joshi and Greenberg, 2017).

2.8.1 Manfaat dari Kromatografi Lapis Tipis

- a. Pemeriksaan kualitatif berbagai obat
- b. Kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk memisahkan formulasi farmasi multi-komponen. KLT memungkinkan pemisahan analitik senyawa dalam campuran yang kompleks.
- c. Analisis biokimia seperti pemisahan atau isolasi metabolit biokimia
- d. Kromatografi lapis tipis digunakan untuk memurnikan sampel apapun dan perbandingan langsung dilakukan antara sampel dan sampel asli.

2.8.2 Fase Diam

Pemilihan fase diam untuk KLT tergantung pada berbagai sifat fisikokimia dari komponen yang dimaksudkan untuk pemisahan dalam sampel, seperti polaritas, kelarutan, potensial ionisasi, berat molekul, dan bentuk serta ukuran analit.

Sorben dapat dikategorikan berdasarkan polaritas komponen sampelnya. Berdasarkan pertimbangan faktor ini, sorben masuk ke dalam pengelompokan berikut :

- 1) Sorben yang umum digunakan untuk menahan sampel lipofilik meliputi aluminium oksida, silika, selulosa terasetilasi, dan poliamida. Bahan penyerap ini telah menunjukkan efektivitas dalam menyerap dan menahan bahan lipofilik untuk tujuan analisis.

- 2) Sorben yang umum digunakan untuk sampel hidrofilik meliputi selulosa, selulosa penukar ion, tanah diatom, poliamida, dan silika fase terbalik yang dimodifikasi. Pemilihan bahan penyerap tergantung pada aplikasi dan sifat analit target.

Silika gel merupakan bahan penyerap utama yang digunakan dengan persentase 64%, diikuti oleh selulosa 9% dan alumina 3%. Silika gel merupakan bahan penyerap yang paling signifikan dalam kromatografi lapis tipis. Kromatografi lapis tipis silika gel menunjukkan keserbagunaan yang tinggi, mendukung beragam aplikasi. Campuran pelarut biasanya mengandung pelarut non-polar seperti heksana atau sikloheksana yang dipasangkan dengan pelarut polar seperti metanol, asetonitril, atau air.

2.8.3 Fase Gerak

Pemilihan fase gerak merupakan salah satu faktor yang memengaruhi efektivitas pemisahan dalam kromatografi. Fase gerak yang dipilih dapat memengaruhi seberapa baik analit dipisahkan satu sama lain saat menjalani analisis kromatografi. Syarat dari fase gerak diantaranya murni, tanpa cemaran, tidak bereaksi dengan cemaran serta mempunyai viskositas rendah. Dalam kromatografi lapis tipis (KLT), fase gerak biasanya disebut sebagai eluen (Johnson, 1991).

2.9 Tinjauan Pelarut Ekstraksi n- Heksana

Heksana memiliki lima isomer - n-heksana, 2-metilpentana, 3-metilpentana, 2,2-dimetilbutana, dan 2,3-dimetilbutana. Rumus kimia untuk heksana adalah C_6H_{14} , yang mewakili komposisi enam atom karbon dan empat belas atom hidrogen. Hidrokarbon ini ada dalam beberapa isomer struktural, atau molekul dengan rumus molekul yang sama tetapi konektivitas atom-atomnya berbeda. n-Hexane dianggap sebagai polutan yang ada di mana-mana karena penggunaannya di seluruh dunia sebagai pelarut dalam berbagai proses industri dan menjadi salah satu komponen

paling umum dalam produk industri yang mengandung residu pelarut (Cravotto *et al.*, 2022).

2.10 Metode Pengujian Antifungi

2.10.1 Metode Difusi

Pada metode difusi agar digunakan media agar padat yang dapat berupa kertas cakram, silinder atau cekungan yang dibuat pada media padat. Teknik ini berfungsi berdasarkan prinsip difusi, di mana senyawa antibakteri meresap ke dalam media padat yang mengandung mikroba uji yang diinokulasi (Jonasson, Matuschek and Kahlmeter, 2020).

1. Metode *Disc Diffusion* atau metode *Kirby Baure*

Pengujian kerentanan difusi cakram adalah salah satu metode tertua dan paling umum digunakan untuk mengevaluasi sensitivitas antimikroba. Metode ini dapat diterapkan pada berbagai macam bakteri dan agen tanpa memerlukan peralatan khusus, sehingga menawarkan lebih banyak keserbagunaan daripada metode lainnya. Teknik difusi menggunakan cakram dilakukan dengan cakram kertas penyerap yang mengandung senyawa antimikroba. Kelebihan dari metoda cakram yaitu dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram, kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, dan preinkubasi serta ketebalan medium (Jonasson, Matuschek and Kahlmeter, 2020).

2. Metode lubang / sumuran

Teknik ini dilakukan dengan membuat sumur atau lubang pada media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Larutan antibakteri yang akan diuji kemudian dimasukkan ke dalam sumuran. Jumlah dan lokasi sumur dapat disesuaikan dengan tujuan penelitian. Keuntungan utama dari metode sumur ini adalah memudahkan pengukuran zona hambat yang terbentuk, karena bakteri tidak hanya tumbuh di permukaan

nutrient agar tetapi juga di bawahnya. Namun, ada beberapa keterbatasan yang perlu dipertimbangkan juga. Sisa-sisa agar di dalam sumur dari pembuatannya dapat tertinggal, dan retakan atau pecah pada agar yang mengelilingi sumur dapat terjadi, mengganggu penyerapan antibiotik atau antijamur ke dalam media. Hal ini dapat memengaruhi pembentukan zona bening selama pengujian sensitivitas dengan memengaruhi difusi zat melalui agar (Nurhayati *et al.*, 2020).

2.10.2 Metode Dilusi

1. Metode Dilusi Tabung

Prinsip metode dilusi tabung dikerjakan dengan pengujian pengenceran tabung menggunakan serangkaian tabung reaksi yang berisi media pertumbuhan cair dan sejumlah sel mikroba yang dievaluasi. Setiap tabung reaksi berturut-turut dalam rangkaian tersebut berisi pengenceran serial antimikroba yang sedang diperiksa. Seri tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah inkubasi, pengamatan dilakukan terhadap kekeruhan pada tabung reaksi. Konsentrasi terendah antimikroba pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) adalah Kadar Hambat Minimal (KHM) dari antimikroba. Konsentrasi terendah antimikroba pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni mikroba adalah Kadar Bunuh Minimal (KBM) dari bahan uji terhadap bakteri uji (Hertanti *et al.*, 2015).

2. Metode Dilusi Agar

Prinsip metode ini digunakan ketika konsentrasi hambat minimum (KHM) tidak dapat ditentukan secara visual menggunakan pengenceran tabung. Secara khusus, teknik pengenceran *agar dilution*. Dalam metode ini, agen

antimikroba pada konsentrasi tertentu dimasukkan ke dalam lempeng agar, dengan satu lempeng berisi setiap konsentrasi uji. Konsentrasi terendah yang menampakkan pertumbuhan koloni kurang dari 3 disebut sebagai kadar hambat minimum (KHM). Kadar bunuh minimal (KBM) tidak dapat dilihat pada metode ini (Hertanti *et al.*, 2015).

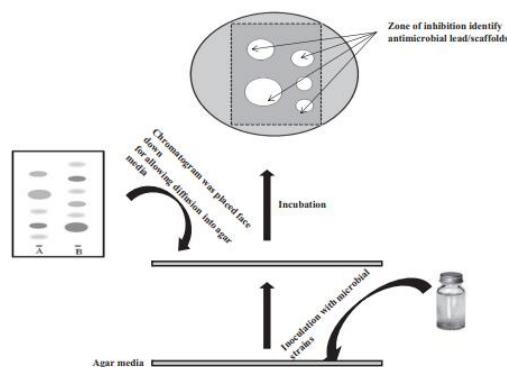
2.10.3 Bioautografi

Teknik bioautografi adalah teknik langsung yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas antibakteri atau antijamur. Teknik ini menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan respon mikroorganisme yang diuji berdasarkan aktivitas biologis zat yang diuji baik berupa bakteri, jamur, maupun protozoa. Teknik bioautografi menawarkan beberapa keunggulan, antara lain kemudahan pelaksanaan, kecepatan, dan dapat diaplikasikan untuk menganalisis senyawa dalam bentuk ekstrak yang masih kompleks (Nuraeni *et al.*, 2015).

Metode bioautografi dibedakan menjadi tiga diantaranya :

1) Bioautografi Kontak

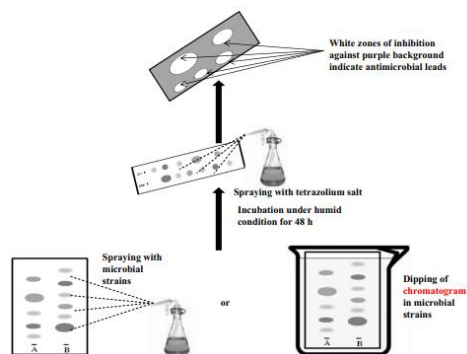
Dalam bioautografi kontak, agen antimikroba berdifusi dari pelat atau kertas KLT yang telah dikembangkan ke pelat agar yang diinokulasi. Kromatogram ditempatkan menghadap ke bawah pada lapisan agar yang diinokulasi selama jangka waktu tertentu untuk memungkinkan difusi. Kemudian kromatogram dikeluarkan dan lapisan agar diinkubasi. Setiap zona penghambatan pada permukaan agar, yang sesuai dengan bintik-bintik pada pelat kromatografi, akan menunjukkan adanya zat antimikroba. Kerugian potensial dari metode bioautografi kontak ini termasuk kesulitan untuk memastikan kontak yang sempurna antara agar dan pelat, serta bahan adsorben KLT yang melekat pada permukaan agar (Dewanjee, Gangopadhyay and Bhattacharya, 2015).



Gambar 2. 8 Bioautografi Kontak (Dewanjee, Gangopadhyay and Bhattacharya, 2015)

2) Bioautografi Langsung (Deteksi KLT)

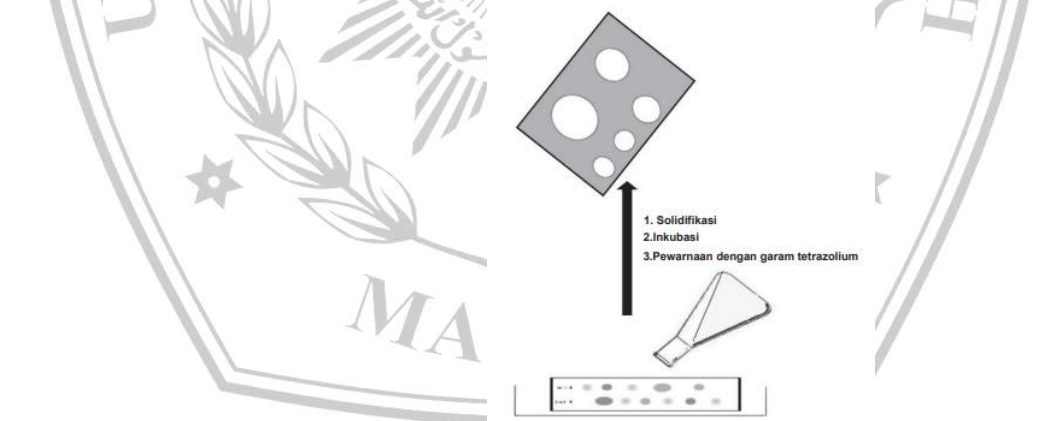
Metode Bioautografi Langsung memungkinkan mikroorganisme untuk tumbuh secara langsung di atas plat KLT. Dalam proses Bioautografi KLT Langsung, pelat Kromatografi Lapis Tipis (KLT) yang telah dikembangkan dipaparkan pada suspensi jamur atau bakteri melalui penyemprotan atau pencelupan. Setelah pemaparan, pelat diinkubasi pada suhu terkontrol selama durasi yang ditentukan. Selama inkubasi, setiap mikroorganisme yang bersentuhan dengan komponen antimikroba yang dipisahkan dalam proses TLC akan dihambat pertumbuhannya di wilayah pelat tersebut, sehingga menunjukkan zona penghambatan yang dapat diukur dan dianalisis (Dewanjee, Gangopadhyay and Bhattacharya, 2015).



Gambar 2.9 Bioautografi Langsung (Dewanjee, Gangopadhyay and Bhattacharya, 2015)

3) Bioautografi Perendaman (Agar *Overlay* Bioautografi)

Metode bioautografi perendaman juga dikenal sebagai metode agar *overlay*, adalah gabungan teknik bioautografi kontak dan langsung. Proses ini melibatkan pelapisan kromatogram dengan media agar cair yang diunggulkan. Setelah pematangan agar, kromatogram berlapis diinkubasi dan diwarnai, sering kali dengan pewarna *tetrazolium*, untuk mendeteksi aktivitas antimikroba (Dewanjee, Gangopadhyay and Bhattacharya, 2015).



Gambar 2.10 Bioautografi Perendaman (Dewanjee, Gangopadhyay and Bhattacharya, 2015)

2.11 Media Pembiakan *Candida albicans*

2.11.1 *Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)*

SDA dirancang oleh *Sabouraud* untuk budidaya jamur, terutama yang berhubungan dengan infeksi kulit. Media ini dikenal dengan media universal karena media ini lebih disukai untuk isolasi jamur dibandingkan bakteri karena pH-nya yang rendah. Selain itu, SDA juga membantu dalam identifikasi dengan meningkatkan karakteristik spora dan produksi pigmen oleh jamur (Das *et al.*, 2010). Media agar dekstrosa standar (SDA) mengandung komponen-komponen berikut diantaranya 40 gram dekstrosa, 15 gram agar, 5 gram kasein yang dicerna secara enzimatis, dan 5 gram jaringan hewan yang dicerna secara enzimatis.

2.11.2 *Sabouraud dextrose broth (SDB)*

Sabouraud Dextrose Broth adalah media lain yang umum digunakan dalam kultur *Candida albicans*. *Sabouraud Dextrose Broth* adalah modifikasi dari *Dextrose Agar* dengan setengah jumlah dekstrosa dan tanpa agar. Kandungan dekstrosa yang tinggi dan pH yang asam pada *Sabouraud Dextrose Broth* mendukung pertumbuhan jamur sekaligus menghambat pertumbuhan bakteri (Das *et al.*, 2010). Komposisi 1 liter *Sabouraud Dextrose Broth* terdiri dari 20 gram dekstrosa serta 10 gram campuran pepton jaringan hewan dan kasein hasil pencernaan pankreas dengan perbandingan (1:1). Selain jamur *Candida albicans* yang dapat tumbuh terdapat jamur yang lainnya yaitu : *Lactobacillus casei*, *Aspergillus niger* dan *Saccharomyces cerevisiae*.

2.12 Standart Pengukuran Zona Hambat

Diameter zona bening pada media uji yang mengelilingi cakram dapat digunakan untuk mengukur zona hambat. Kekuatan respon penghambatan pertumbuhan jamur dikategorikan berdasarkan ukuran diameter zona bening diantaranya : kurang dari 10 mm (lemah), 10-15 mm (sedang), 16-20 mm (kuat), dan lebih besar dari 20 mm (sangat kuat) (Santoso *et al.*, 2020).