

BAB 6

PEMBAHASAN

Pada penelitian eksperimental ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh antifungi pada ekstrak flavonoid mahkota (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans* secara in vitro. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung dengan menggunakan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) sebagai media dari *Candida albicans*.

Bahan uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*), dimana komponen yang digunakan sebagai zat aktif hanya komponen flavonoid saja. Proses pemisahan senyawa flavonoid dari buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dilakukan secara bertahap yaitu mulai dari proses maserasi dengan pelarut etanol, partisi dengan pelarut n-heksana, air dan n-butanol lalu dilanjutkan proses pemisahan dengan metode sentrifugasi. Senyawa flavonoid menurut penelitian sebelumnya memiliki efek sebagai antibakteri dan antifungi (Hendra, 2011).

Pada proses maserasi digunakan pelarut etanol 96% karena lebih efektif untuk melarutkan sebagian besar komponen zat aktif yang ada dalam bahan uji. Setelah itu dilakukan penguapan untuk menghilangkan sebagian besar kandungan etanol dalam ekstrak. Setelah didapatkan ekstrak etanol buah mahkota dewa, dilanjutkan dengan proses partisi sebanyak 2 kali. Proses partisi pertama dilakukan menggunakan pelarut n-heksana dan air. Proses ini dilakukan untuk menghilangkan getah dan lemak pada ekstrak. Pelarut air digunakan untuk memisahkan antara

ekstrak yang terlarut dalam n-heksana dan etanol. Lalu diambil ekstrak etanolnya saja dan diuapkan kembali. Setelah itu ekstrak etanol buah mahkota dewa (*Paleria macrocarpa*) dilarutkan kembali ke larutan n-butanol. Digunakan pelarut n-butanol karena pelarut tersebut mengikat senyawa non-polar dan flavonoid merupakan senyawa yang bersifat non-polar. Setelah tercampur dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 10 menit untuk memisahkan senyawa flavonoid. Setelah itu, endapan (supernatan) yang terbentuk diuapkan kembali dan didapatkan ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) 100%.

Pada penelitian ini dilakukan identifikasi jamur untuk mengetahui karakteristik berdasarkan morfologinya. Proses pengidentifikasian dilakukan dengan tiga cara yaitu identifikasi koloni *Candida albicans* pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA). Media ini merupakan media yang tepat untuk pembiakan *Candida albicans* karena memiliki kandungan nutrisi yang sesuai bagi pertumbuhan *Canidida albicans*. Kedua dilakukan pengidentifikasian dengan melakukan pewarnaan gram, hal ini dilakukan untuk membuktikan bahwa *Candida albicans* merupakan jamur yang bersifat Gram positif dengan penampakan hasil budding cell yang berwarna ungu. Warna ungu disebabkan pada golongan gram positif mampu menahan warna utama yaitu warna dari Kristal violet karena sruktur dari dinding sel gram positif memiliki kandungan protein dan tebal peptidoglikan yang lebih tebal dibandingkan dengan gram negatif (Karmana, 2008). Ketiga, dilakukan pengidentifikasian dengan menggunakan uji germinating tube. Uji ini dilakukan untuk mengetahui bahwa germ tube pada *Candida albicans* tidak mengalami konstiksi pada titik asalnya (budding).

Hal ini merupakan bentuk ciri khas dari *Candida albicans* (Simatupang, 2009). Pada penelitian ini didapatkan hasil yang sesuai dengan morfologi dari *Candida albicans*.

Berdasarkan penelitian pendahuluan yang dilakukan, pada penelitian ini digunakan konsentrasi ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) adalah 7,5%, 15%, 22,5%, 30%, 37,5%, 45%, 52,5%. Rentang yang dipilih besar agar dapat digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Karena karakteristik ekstrak yang berwarna gelap membuat semakin tinggi dosis maka warna tabung semakin gelap sehingga garis hitam tidak terlihat. Pada penelitian ini, Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah 7,5%. Sedangkan, Kadar Bunuh Minimal (KBM) ditentukan dengan cara penggoresan (*streaking*) pada media SDA untuk mengamati pertumbuhan dari koloni *Candida albicans*. Penentuan KBM ditentukan dengan melakukan penggoresan pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA). Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah pada konsentrasi 52,5% karena pada konsentrasi ini didapatkan tidak ada koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA).

Pada penelitian ini Kadar Bunuh Minimal dari *Candida albicans* adalah 52,5%. Hal ini disebabkan karena pada terapi *Candida albicans* sudah mengalami resistensi. Resistensi meningkat seiring dengan meningkatnya aktivitas metabolik dari jamur dan perkembangan biofilm dari jamur itu sendiri. Biofilm memompa zat aktif keluar dari sel sehingga perlu adanya peningkatan jumlah konsentrasi dari zat aktif yang digunakan untuk memberikan efek bunuh pada jamur. Selain itu struktur dari jamur sendiri sudah lebih kompleks, karena jamur merupakan organisme

eukariotik sehingga diperlukan terapi pada konsentrasi yang tinggi (*high level dose*) atau dapat diberikan pengobatan kombinasi untuk memberikan efek bunuh pada jamur tersebut. (Bitar, 2014)

Hasil perhitungan jumlah koloni jamur dihitung menggunakan *colony counter*. Hasil yang didapatkan kemudian dianalisis menggunakan SPSS versi 17.0 dengan menggunakan uji statistic *One-Way ANNOVA* dan Uji Korelasi. Pada uji *One-Way ANNOVA* didapatkan hasil $p=0,000$ ($p<0,05$). Hal ini berarti bahwa paling tidak terdapat perbedaan jumlah koloni *Candida albicans* yang signifikan pada dua kelompok konsentrasi ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). (Dahlan, 2011)

Selanjutnya dilakukan uji Post Hoc Tukey yang merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparation*). Dari hasil uji Post Hoc Tukey didapatkan perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 0%. Hal ini berarti terdapat perbedaan rata-rata yang signifikan pada konsentrasi 0% terhadap konsentrasi lainnya. Sedangkan pada konsentrasi 7,5%, 15%, 22,5%, 30%, 37,5%, 45%, dan 52,5% tidak menunjukkan perbedaan rata-rata yang signifikan pada pertumbuhan jumlah koloni *Candida albicans* setelah pengulangan 3 kali.

Pada uji Korelasi Pearson didapatkan angka signifikansi 0,000 ($p<0.05$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) dengan jumlah koloni jamur *Canidida albicans*. Besar koefisien korelasi Pearson yaitu (R) -0,674. Tanda negatif menunjukkan hubungan terbalik yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak flavonoid buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*) maka semakin sedikit jumlah

koloni *Candida albicans* yang tumbuh, begitupun sebaliknya. Nilai 0,674 menunjukkan bahwa korelasinya kuat (0,6-0,8) (Dahlan, 2011).

Pada ekstrak flavonoid mahkota dewa terdapat jenis-jenis senyawa flavonoid seperti quercetin kaempferol, myricetin, naringin dan rutin yang dapat digunakan sebagai antimikroba . Pada quercetin dan kaempferol memiliki fungsi menghambat sintesis asam nukleat, yang sistem kerjanya senyawa berikatan dengan DNA dan mengganggu kerja enzim gyrase yang menyebabkan replikasi DNA terganggu. Pada senyawa rutin memiliki fungsi menghambat pembentukan dinding sel, dengan membentuk ikatan hydrogen dan menurunkan permeabilitas dari dinding sel sehingga dapat menyebabkan denaturasi protein sel yang pada akhirnya akan menyebabkan integritas embran dan fungsi fisiologis membrane sel terganggu. Pada senyawa myricetin dan naringin dapat mengganggu proses metabolisme energi dari mikroba sehingga menyebabkan sel secara permanen karena tidak terpenuhinya kebutuhan energi. (Hendra, 2011)

Penelitian yang pernah dilakukan sebelumnya menggunakan bahan flavonoid buah mahkota dewa (*Paleria macrocarpa*) pernah diujikan pada beberapa jenis bakteri dan jamur. Seperti bakteri Gram Positif *B. cereus*, *B. subtilis*, *M. luteus*, *S. aureus*; bakteri Gram Negatif *E. aerogenes*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*; dan beberapa jamur seperti *A. niger*, *F. oxysporum*, *G. lucidium*, *M. indicus*. Dengan metode difusi cakram menggunakan dosis 0,3 mg/disk didapatkan zona hambat pada bakteri Gram Positif /Negatif pada rentang 0,93-2,33 cm. Sedangkan pada golongan jamur tidak terdapat zona hambat. Hal ini terjadi karena dibutuhkan dosis yang lebih tinggi untuk menimbulkan efek pada jamur dikarenakan

ukuran jamur yang lebih besar dan struktur jamur yang lebih kompleks karena jamur sudah termasuk dalam golongan eukariotik. (Hendra, 2011)

Kekurangan dari penelitian ini adalah masih sedikitnya referensi yang meneliti efek zat aktif flavonoid dari ekstrak tanaman lainnya terhadap jamur *Candida albicans*. Selain itu biaya yang dikeluarkan untuk proses pengekstrakan cukup mahal sehingga diperlukan metode pengekstrakan lain yang lebih terjangkau.

