

## BAB 4

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

#### 4.1 Hasil Penelitian

Bagian tanaman yang digunakan pada penelitian ini adalah simplisia daun lamtoro yang diperoleh dari Balitro Bogor dan telah dilakukan determinasi di Laboratorium Botani Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.

##### 4.1.1 Hasil Determinasi Daun Lamtoro

Hasil Determinasi daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang telah dilakukan oleh Laboratorium Botani Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya dapat dilihat pada lampiran A.

Divisi	:	Spermatophyta
Sub Divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledoneae
Bangsa	:	Fabales
Suku	:	Fabaceae
Marga	:	Leucaena
Jenis	:	<i>Leucaena leucocephala</i> (Lmk) De Wit

##### 4.1.2 Hasil Makroskopis Simplisia Kering Daun Lamtoro

Hasil pengamatan makroskopis simplisia kering daun lamtoro dapat dilihat pada Gambar 4.1 dan Tabel 4.1.



**Gambar 4.1.** Hasil pengamatan makroskopis simplisia kering daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*).

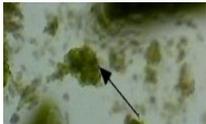
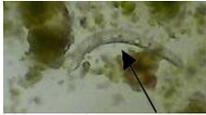
**Tabel 4.1.** Hasil pengamatan makroskopis simplisia kering daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

Parameter	Hasil Pengamatan
Warna	Hijau kecoklatan
Bau	Khas

#### 4.1.3 Hasil Mikroskopis Daun Lamtoro

Simplisia daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang telah halus diletakkan di atas kaca objek dan diberi pereaksi kloralhidrat. Kemudian ditutup menggunakan *cover glass* dan diamati dibawah mikroskop. Pengamatan mikroskopis dilakukan untuk mengetahui fragmen-fragmen yang terdapat di dalam simplisia daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) yang dapat dilihat pada Tabel 4.2.

**Tabel 4.2.** Hasil pengamatan mikroskopis simplisia daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dengan media kloralhidrat perbesaran 40x

Hasil Pengamatan	Keterangan
	Mesofil
	Rambut penutup tipe uniseluler
	Sklerenkim

#### 4.1.4 Hasil Standarisasi Simplisia Daun Lamtoro

Pada standarisasi simplisia daun lamtoro meliputi standarisasi spesifik (identitas dan organoleptis) dan standarisasi non spesifik yaitu susut pengeringan yang dapat dilihat pada Tabel 4.3 dan Tabel 4.4.

1. Parameter Spesifik

a. Identitas

- Nama simplisia : *Leucaena folium*  
Nama latin tumbuhan : *Leucanae leucocephala*  
Bagian tanaman yang digunakan : Daun  
Nama Indonesia : Lamtoro

b. Organoleptis

Pengamatan organoleptis pada simplisia daun lamtoro bertujuan untuk mengetahuidaun lamtoro menggunakan panca indra meliputi bentuk, warna dan bau.

**Tabel 4.3.** Hasil pengamatan organoleptis simplisia daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

Parameter	Hasil Pengamatan
Bentuk	Serbuk halus
Warna	Hijau
Bau	Khas

2. Parameter non spesifik

Standarisasi parameter non spesifik yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun lamtoro yaitu susut pengeringan.

**Tabel 4.4.** Hasil susut pengeringan simplisia daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

Jenis standarisasi	R1	R2	R3	Rata-rata % ± SD
Susut pengeringan	8,3	8,2	8,4	8,3 ± 0,1

4.1.5 Hasil Ekstraksi Simplisia Daun Lamtoro

Serbuk simplisia daun lamtoro yang telah halus ditimbang sebanyak 300 gram kemudian di maserasi menggunakan etanol 96% sebanyak 1,5 liter

selama 1x24 jam setelah itu dilakukan remaserasi. Maserat yang diperoleh dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* suhu 50°C dan diuapkan pada *waterbath* dengan suhu 60°C dan didapatkan ekstrak kental sebesar 31 gram. Rendemen yang diperoleh adalah sebesar 10,33%.

#### 4.1.6 Hasil Standarisasi Ekstrak Etanol Daun Lamtoro

Pada standarisasi ekstrak etanol daun lamtoro meliputi standarisasi spesifik (identitas dan organoleptis) dan standarisasi non spesifik yaitu susut pengeringan.

##### 1. Parameter Spesifik

##### a. Identitas

Nama ekstrak : *Leucaena folium extractum spissum*.

Nama latin tumbuhan : *Leucaena leucocephala*

Bagian tanaman yang digunakan : Daun

Nama Indonesia : Lamtoro

##### b. Organoleptis

Pengamatan organoleptis pada ekstrak etanol daun lamtoro bertujuan untuk mengetahui ekstrak etanol daun lamtoro menggunakan panca indra meliputi bentuk, warna dan bau. Hasil organoleptis dapat dilihat pada gambar 4.2 dan tabel 4.5.



**Gambar 4.2.** Hasil ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

**Tabel 4.5.** Hasil pengamatan organoleptis ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

Parameter	Hasil Pengamatan
Bentuk	Kental
Warna	Hijau kehitaman
Bau	Khas

2. Parameter non spesifik

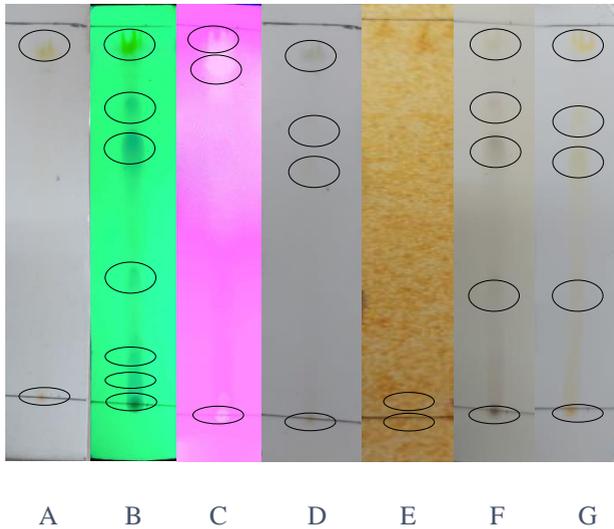
Standarisasi parameter non spesifik yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun lamtoro yaitu susut pengeringan. Hasil susut pengeringan ekstrak dapat dilihat pada Tabel 4.6.

**Tabel 4.6.** Hasil susut pengeringan daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

Jenis standarisasi	R1	R2	R3	Rata-rata % ± SD
Susut Pengeringan %	8,67%	9,16%	9,27%	9,03% ± 0,32

4.1.7 Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Lamtoro dengan KLT

Skrining fitokimia dilakukan untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*). Skrining fitokimia ekstrak etanold daun lamtoro menggunakan metode KLT dengan fase gerak yang terpilih adalah kloroform- metanol dengan perbandingan 7:3 dan fase diam plat silika gel 60 F254. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 10% dengan volume penotolan 1µl. Plat KLT yang telah dieluasi diamati secara visual, sinar UV 254 dan sinar UV 366. Untuk menentukan golongan senyawa makadigunakan penampak noda yaitu, uap ammonia, FeCl<sub>3</sub>, *Dragendroff* dan *Lieberman-Burchard*. Hasil profil KLT dapat dilihat pada Gambar 4.3 dan Tabel 4.7.



**Gambar 4.3.** Profil KLT ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) dengan fase gerak kloroform:metanol (7:3)

**Keterangan:**

- A : Pengamatan secara visual sebelum disemprotkan penampak noda.
- B : Pengamatan dibawah UV 254 sebelum disemprotkan penampak noda.
- C : Pengamatan dibawah UV 366 sebelum disemprotkan penampak noda.
- D : Pengamatan secara visual setelah disemprotkan penampak noda *Lieberman-Burchard*.
- E : Pengamatan secara visual setelah disemprotkan penampak noda *Dragendorff*.
- F : Pengamatan secara visual setelah disemprotkan penampak noda  $FeCl_3$ .
- G : Pengamatan secara visual setelah diberi uap amonia

**Tabel 4.7.** Hasil nilai  $R_f$  kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

$R_f$	Visual	<i>Dragendorff</i>	$FeCl_3$	<i>Lieberman-Burchard</i>	Uap Amonia
0,00-0,10	-	-	-	-	-
0,11-0,20	0,15 (Kuning)	0,15 (Coklat)	0,15 (Hitam)	0,15 (Kuning)	0,15 (Kuning)

**Tabel 4.7.** Lanjutan hasil nilai *Rf* kromatografi lapis tipis ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*)

<i>Rf</i>	Visual	<i>Dragendroff</i>	$FeCl_3$	<i>Lieberman-Burchard</i>	Uap Amonia
0,21-0,30	-	0,21 (Coklat kemerahan)	-	-	-
0,31-0,40	-	-	0,4 (Hitam)	-	0,38 (Kuning)
0,41-0,50	-	-	-	-	-
0,51-0,60	-	-	-	-	-
0,61-0,70	-	-	0,7 (Hitam)	0,65 (Kuning)	0,65 (Kuning)
0,71-0,80	-	-	0,77 (Hitam)	0,75 (Kuning)	0,75 (Kuning)
0,81-0,90	0,9 (Kuning)	-	0,9 (Kuning)	0,9 (Hijau kebiruan)	0,9 (Kuning)
0,91-1,00	-	-	-	-	-

#### 4.1.8 Hasil Makroskopis *Candida albicans*

Pengamatan makroskopis khamir *Candida albicans* diamati secara visual pada media SDA dengan melihat bentuk koloni, tepi koloni, tekstur koloni, warna koloni. Hasil makroskopis *Candida albicans* dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.8.



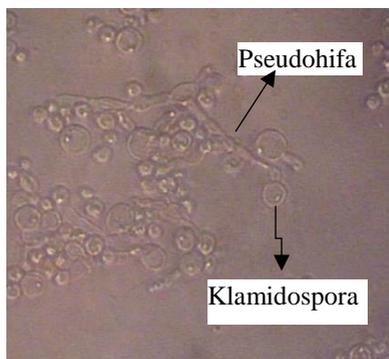
**Gambar 4.4.** Pengamatan makroskopis khamir *Candida albicans*

**Tabel 4.8.** Hasil pengamatan makroskopis *Candida albicans*

Parameter	Hasil pengamatan
Bentuk koloni	<i>Yeast like colony</i>
Tepi koloni	Utuh
Tekstur koloni	Halus, basah, <i>opaque</i>
Warna koloni	Putih kekuningan
Ukuran koloni	2 mm
Kenaikan permukaan	Timbul cembung

#### 4.1.9 Hasil Mikroskopis *Candida albicans*

Pada pengamatan mikroskopis khamir *Candida albicans* dilakukan dengan larutan iodium dan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 15x40. Hasil mikroskopis *Candida albicans* dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.9.



**Gambar 4.5.** Pengamatan Mikroskopis *Candida albicans*

**Tabel 4.9.** Hasil pengamatan mikroskopis *Candida albicans*

Parameter	Hasil Pengamatan
Bentuk sel	Bulat panjang
Susunan sel	Bergerombol
Warna sel	Putih

#### 4.1.10 Hasil Uji Aktivitas Antimikroba dengan Metode Difusi Sumuran

Pada pengujian senyawa antimikroba digunakan metode difusi sumuran. Uji aktivitas antimikroba dilakukan 3x replikasi dengan menggunakan cawan petri berdiameter 8mm, volume media 10 ml dan 0,1 ml suspensi khamir *Candida albicans*. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 50%, 40% dan 30% dengan kontrol positif ketoconazole 2% dan kontrol negatif DMSO 2%. DMSO 2% dipilih sebagai kontrol negatif karena tidak memiliki aktivitas antimikroba sedangkan ketoconazole 2% sebagai kontrol positif karena merupakan obat antijamur yang bekerja dengan

menghambat enzim sitokrom P-450, C-14- $\alpha$ -demethylase (P45014DM). Larutan uji 50% dibuat dengan menimbang 5g ekstrak dan dilarutkan ke dalam 10 ml DMSO 2%. Lalu pipet 4 ml sampai 5ml DMSO 2% untuk mendapatkan konsentrasi 40% dan pipet 3,75 ml sampai 5 ml untuk mendapatkan konsentrasi 30%. Setelah diberi larutan uji sebanyak 20  $\mu$ l, cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 1x24 jam. Parameter pada pengujian ini adalah adanya DHP (Daerah Hambat Pertumbuhan). Setelah 24 jam, hasilnya tanaman lamtoro tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Hal ini dilihat dari tidak adanya daerah hambatan di sekitaran lubang sumuran. Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhadap *Candida albicans* dapat dilihat pada Tabel 4.10 dan Gambar 4.6.

**Tabel 4.10.** Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhadap *Candida albicans*

Keterangan	R1	R2	R3	Rata-rata (mm) DHP $\pm$ SD
Konsentrasi 50%	0	0	0	0
Konsentrasi 40%	0	0	0	0
Konsentrasi 30%	0	0	0	0
Ketoconazol 2%	27	27,50	27,50	27,30 $\pm$ 0,23
DMSO 2%	0	0	0	0



**Gambar 4.6.** Hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhadap *Candida albicans*

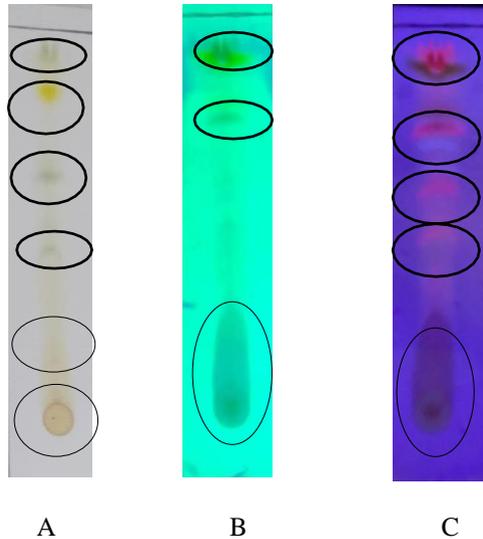
**Keterangan:**

- I : Konsentrasi 50%
- II : Konsentrasi 40%

- III : Konsentrasi 30%
- P : Kontrol positif ketoconazole 2%
- N : Kontrol negatif DMSO 2%
- A : Replikasi 1
- B : Replikasi 2
- C : Replikasi 3

#### 4.1.11 Hasil Pengujian Bioautografi

Pengujian senyawa antibakteri dilakukan dengan metode bioautografi. Adanya DHP ditunjukkan dengan terbentuknya daerah jernih pada media setelah dilakukan kontak langsung dengan plat KLT yang telah ditotolkan ekstrak etanol daun lamtoro. Plat KLT dieluasi dengan fase gerak kloroform-metanol dengan perbandingan 9:1, dengan konsentrasi 10% dan volume penotolan 5 µl. Hasil pengujian bioautografi dapat dilihat pada Gambar 4.7, 4.8 dan Tabel 4.11.



**Gambar 4.7.** KLT Bioautografi

**Keterangan:**

A: Pengamatan secara visual.

B: Pengamatan dibawah UV 254.

C: Pengamatan dibawah UV 366.



**Gambar 4.8.** Hasil bioautografi ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*).

**Tabel 4.11.** Hasil *Rf* Daerah Hambatan Pertumbuhan (DHP) dan *Rf* noda

<i>Rf</i>	DHP	Noda
0,00-0,10	-	-
0,11-0,20	-	-
0,21-0,30	-	-
0,31-0,40	-	-
0,41-0,50	-	0,43 (hijau)
0,51-0,60	-	-
0,61-0,70	-	0,62 (hijau)
0,71-0,80	-	-
0,81-0,90	-	0,85 (kuning)
0,90-1,00	-	0,93 (hijau)

## 4.2 Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) terhadap *Candida albicans*. Simplisia daun lamtoro diperoleh dari Balitro Bogor. Simplisia yang telah diperoleh kemudian dilakukan pengamatan makroskopis untuk

mengamati bentuk daun, tepi daun, warna daun dan bau daun. Simplisia daun lamtoro kemudian dihaluskan menggunakan blender dan diayak menggunakan ayakan dengan mesh. 60 untuk mendapatkan serbuk halus karena semakin halus bahan yang digunakan maka semakin tinggi rendemen yang dihasilkan, karena ukuran bahan yang sesuai akan menjadikan proses ekstraksi berlangsung dengan baik dan tidak memakan waktu yang lama. (Ardyanti, Suhendra dan Puta, 2020). Pengamatan mikroskopis dilakukan dengan menggunakan serbuk simplisia daun lamtoro yang ditetesi dengan pereaksi kloralhidrat dan diamati dibawah mikroskop perbesaran 40x untuk melihat fragmen-fragmen yang terdapat pada simplisia daun lamtoro. Dari pemeriksaan mikroskopis didapatkan mesofil, rambut penutup tipe uniseluler dan sklerenkim.

Serbuk daun lamtoro yang telah halus kemudian dilakukan standarisasi parameter spesifik (identitas dan organoleptis) dan non spesifik (susut pengeringan). Hasil susut pengeringan simplisia daun lamtoro adalah  $8,3\% \pm 0,1$ . Hasil ekstrak kental yang diperoleh adalah rendemen sebesar 10,33%. Faktor waktu dapat mempengaruhi hasil rendemen yang diperoleh. Semakin lama waktu maserasi yang diberikan maka semakin lama kontak antara pelarut dengan bahan yang akan memperbanyak jumlah sel yang pecah dan bahan aktif yang terlarut (Chairunnisa, Wartini dan Suhendra, 2019).

Ekstrak kental yang diperoleh kemudian dilakukan standarisasi spesifik meliputi identitas, organoleptis dan non spesifik yaitu susut pengeringan ekstrak. Susut pengeringan ekstrak dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui berapa banyak senyawa yang hilang saat proses pengeringan (Depkes RI, 2000). Hasil yang diperoleh dari susut pengeringan ekstrak adalah  $9,01\% \pm 0,32$ . Hasil yang diperoleh dari susut pengeringan ekstrak memenuhi syarat karena kurang dari 10%.

Ekstrak kental daun lamtoro (*Leucaena leucocephala*) kemudian

dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung. Pada penelitian ini dilakukanskrining fitokimia dengan metode KLT, dimana merupakan metode kualitatif yang dapat memberikan hasil yang lebih akurat. Setelah dieluasi dengan fase gerak kloroform:metanol (7:3), plat KLT kemudian diamati secara visual, UV 254 dan UV 366. Setelah itu diberikan penampak noda berupa uap amonia,  $FeCl_3$ , *Dragendroff* dan *Lieberman-Burchard*. Hasil yang diperoleh setelah pemberian uap ammonia adalah terbentuk warna kuning pada plat yang menunjukkan adanya flavonoid. Pada pemberian  $FeCl_3$  terbentuk warna hitam yang menunjukkan adanya tannin. Pada pemberian *Dragendroff* terbentuk coklat kemerahan yang menunjukkan adanya alkaloid dan pada pemberian *Lieberman-Burchard* terbentuk warna biru sampai biru violet yang menunjukkan adanya saponin.

Pada pengamatan mikroskopis khamir *Candida albicans* yang terbentuk pada media SDA menunjukkan bentuk koloni membukit, tepi utuh, tekstur basah, halus, *opaque* dan warnaputih kekuningan. Pada pengamatan mikroskopis khamir *Candida albicans* dilakukan dengan penambahan larutan iodium dan diamati dibawan mikroskop untuk melihat bagian spesifik pada khamir *Candida albicans*. Pada pengamatan mikroskopis *Candida albicans* bagian spesifik dari *Candida albicans* adalah adanya pseudohifa dan klamidospora.

Pengujian antimikroba pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode difusi sumuran dengan media SDA. Setelah 24 jam, hasilnya tanaman lamtoro tidak memilikiaktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Hal ini dilihat dari tidak adanya daerah hambatan di sekitaran lubang sumuran. Sedangkan kontrol positif ketoconazole 2% memiliki aktivitas antimikroba ditandai dengan adanya zona bening di sekitar lubang sumuran.

Pada pengujian bioautografi plat KLT dieluasi dengan fase gerak

kloroform-metanol dengan perbandingan 9:1, dengan konsentrasi 10% dan volume penotolan 5 µl. Pada penelitian ini tidak terdapat zona bening pada media padat yang menunjukkan tidak adanya aktivitas antimikroba. Hal ini disebabkan karena metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun lamtoro tidak dapat menghambat sintesis polimer dinding sel pada membran sel *Candida albicans* seperti pada kontrol positif.

Mekanisme kerja senyawa antijamur yakni dengan merusak membran sel jamur, menetralkan enzim yang terkait dalam proses invasi jamur, menghambat sistem enzim jamur sehingga mengganggu terbentuknya ujung hifa dan mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein (Swandiyasa, Puspawati dan Asih, 2019). Tidak efektifnya lamtoro pada penelitian ini juga bisa disebabkan oleh rendahnya kadar senyawa antimikroba yang terkandung dalam ekstrak lamtoro tersebut. Tidak adanya aktivitas antimikroba bisa juga disebabkan karena jenis mikroba tersebut dan kemampuan ekstrak untuk berdifusi. Jenis mikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan khamir yang memiliki dinding sel yang kompleks. Struktur penyusun dinding sel *Candida albicans* tersusun dari polisakarida (mannan, glukosa, kitin) protein dan lipid dengan membran sel dibawahnya yang mengandung sterol (Nuryani dan Jhunnison, 2016). Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung. Adanya sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antimikotik. Pada penelitian sebelumnya lamtoro memiliki aktivitas antimikroba pada bakteri, namun pada penelitian ini lamtoro tidak memiliki aktivitas antimikroba pada jamur. Hal ini bisa disebabkan karena senyawa antimikroba yang terkandung pada daun lamtoro bekerja dengan mengikat peptidoglikan yang ada pada bakteri, sedangkan pada jamur tidak memiliki peptidoglikan sehingga senyawa antimikroba pada daun lamtoro tidak efektif. Aktivitas antimikroba juga dipengaruhi oleh konsentrasi. Semakin pekat suatu konsentrasi yang

digunakan, maka ekstrak tersebut akan sulit berdifusi secara maksimal ke dalam medium. Hal ini karena konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi dapat menyebabkan laju difusi ekstrak terhambat dan menyebabkan kejenuhan sehingga senyawa-senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tidak terlarut dengan sempurna. Senyawa-senyawa aktif tersebut tidak dapat masuk ke dalam sel mikroba dan tidak dapat mempengaruhi pertumbuhan mikroba seperti merusak dinding sel, menghambat pembentukan dinding sel (Maharani dkk, 2023).

Faktor lain yang dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba adalah ukuran partikel. Semakin kecil ukuran partikel bahan maka mempercepat laju difusi (Sekali, Wartini dan Suhendra, 2020).