

AKTIVITAS ANTIJAMUR FRAKSI KAYU SECANG TERHADAP (*Candida albicans*) DAN BIOAUTOGRAFI

Salsadella Juwita Senja*, Ana Indrayati, Reslely Harjanti

Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia

*Penulis Korespondensi: salsasinja28@gmail.com

Abstrak

Secang (*Caesalpinia sappan* L.) adalah tanaman dari famili Caesalpiniaceae yang kayunya telah dimanfaatkan dalam pengobatan tradisional. Kayu secang memiliki kandungan senyawa seperti brazilin, flavonoid, saponin, propane, tanin, serta terpenoid yang berpotensi menghambat pertumbuhan jamur. Infeksi jamur khususnya *C. albicans* merupakan masalah yang sering terjadi meskipun obat antijamur seperti flukonazol banyak digunakan, namun dapat meningkatkan kasus resistensi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat ekstrak dan fraksi kayu secang serta golongan yang teraktif dengan KLT bioautografi. Kayu secang diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan etanol 96% sebagai pelarut, dan difraksinasi menggunakan *n*-heksana, etil asetat, serta air. Uji daya hambat ekstrak dan fraksi kayu secang pada pertumbuhan *C. albicans* menggunakan metode difusi cakram kertas berdiameter 6 mm. Konsentrasi yang digunakan pada metode difusi adalah 6; 9; dan 12%, kontrol positif flukonazol dan kontrol negatif DMSO 3%. Metode difusi dilanjutkan dengan metode KLT bioautografi pada senyawa yang teraktif. Data hasil uji difusi yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan pengujian analisis *Two-way* ANOVA. Hasil data yang diperoleh terdistribusi secara normal (Sig > 0,05). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak, fraksi *n*-heksana, fraksi etil asetat, dan fraksi air memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Diameter zona hambat yang paling besar yaitu fraksi air dengan konsentrasi 12% dan rata-rata zona hambatnya 16,19 mm termasuk kategori kuat. Uji bioautografi pada fraksi air menunjukkan adanya senyawa tanin sebagai komponen aktif yang berperan dalam aktivitas antijamur.

Kata kunci: *Caesalpinia sappan* L., *Candida albicans*, fraksi, bioautografi.

Abstract

Sappan (*Caesalpinia sappan* L.) is a plant of the Caesalpiniaceae family that is used for traditional medicine. Utilized Secang (*Caesalpinia sappan* L.) is a plant from the Caesalpiniaceae family whose wood has long been used in traditional medicine and contains compounds such as brazilin, flavonoids, saponins, propane, tannins, and terpenoids with potential antifungal activity. Fungal infections, particularly *Candida albicans*, remain common health problems, and although antifungal drugs such as fluconazole are widely used, resistance cases continue to increase. This study aimed to evaluate the antifungal activity of secang wood extract and its fractions against *C. albicans* and to identify the most active compound group using thin-layer chromatography (TLC) bioautography. Secang wood was extracted by maceration with 96% ethanol and fractionated with *n*-hexane, ethyl acetate, and water, followed by antifungal testing using the paper disc diffusion method at concentrations of 6%, 9%, and 12%, with fluconazole as a positive control and 3% DMSO as a negative control. Data were analyzed using *two-way* ANOVA and showed normal distribution (Sig > 0.05). The results demonstrated that the extract, *n*-hexane fraction, ethyl acetate fraction, and water fraction inhibited the growth of *C. albicans*, with the water fraction at 12% producing the largest inhibition zone of 16.19 mm, categorized as strong activity. TLC bioautography of the water fraction revealed the presence of tannins as active compounds responsible for antifungal activity.

Keywords: *Caesalpinia sappan* L., *Candida albicans*, fraction, bioautography.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi adalah satu diantara penyebab utama masalah kesehatan yang semakin umum terjadi. Bersumber WHO (Organisasi Kesehatan Dunia), terdapat 5.922 kematian di penjuru dunia pada tahun 2020, sepertiga di antaranya diakibatkan oleh gangguan menular. Penyebab paling umum dari infeksi adalah jamur. Jamur penyebab infeksi pada manusia ialah *C. albicans*. *Candida albicans* ialah jamur yang sering ditemui pada rongga mulut, kulit, saluran pernafasan, saluran cerna, maupun vagina. Jamur ini menimbulkan gangguan kesehatan reproduksi wanita yang terkenal dengan keluarnya cairan berlebihan atau keputihan dari alat kelamin luar. Banyak perempuan yang mengeluhkan permasalahan ini (Rachmania *et al.*, 2021).

Penelitian yang sudah dilaksanakan (Sherry *et al.*, 2017) menunjukkan dari 300 pasien yang terinfeksi Candidiasis vulvovaginalis, 212 di antaranya terdeteksi terinfeksi oleh *C. albicans* melalui pemeriksaan swab vagina. Menurut Chunaifa *et al.* (2017) faktor yang memicu infeksi Candidiasis vulvovaginalis antara lain adalah usia, di mana infeksi ini kebanyakan terjadi pertama kali pada masa subur, namun juga dapat menyebabkan infeksi berulang pada usia menopause. Selain itu, merokok, kehamilan, perilaku seksual, stres psikososial, serta frekuensi hubungan seks juga turut berperan. Pemakaian antibiotik periode panjang, kurangnya zat besi, diabetes aktif yang tidak terkontrol, serta imunosupresi yang buruk merupakan faktor resiko perkembangan *C. albicans* (Yasir, 2021).

Kayu secang dari famili caesal piniaceae

banyak dimanfaatkan batang maupun kayunya dalam pengobatan tradisional. Menurut Nomer *et al.* (2019) kandungan dari kayu secang berupa senyawa flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, brazilin, fenil propane, serta terpenoid. Brazilin, yang diduga memiliki peran penting dalam efek farmakologis kayu secang, merupakan komponen utama dan senyawa penciri dari tanaman tersebut. Senyawa brazilin dikenal memiliki berbagai aktivitas farmakologis, termasuk sebagai antioksidan, antivirus, antimikroba, anti-inflamasi, serta antijamur (Suraini & Enlita, 2019).

Penelitian yang dilaksanakan Listiani *et al.* (2019) menunjukkan hasil secang memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans*, larutan ini dapat digunakan sebagai alternatif herbal. Menurut Yasir, (2021) konsentrasi 6,4% dengan rata-rata diameter 12,86 mm serta konsentrasi 3,2% dengan rata-rata diameter zona hambat 9,9 mm, serta konsentrasi 12,8% ialah 14,47 mm bisa memberikan hambatan pada *C. albicans*. Hasil ini sesuai penelitian Nandina *et al.* (2019) yang memperlihatkan konsentrasi bahan antimikroba yang semakin tinggi maka kemampuan untuk memberikan hambatan pertumbuhan jamur semakin besar.

Berdasarkan uraian tersebut yang memaparkan bahwa tanaman kayu secang berkhasiat sebagai antijamur, maka peneliti perlu melakukan riset ulang mengenai pengujian daya hambat ekstrak dan fraksi kayu secang pada pertumbuhan *C. albicans* serta bioautografinya sebagai upaya untuk mengeksplorasi, mengoptimalkan pemanfaatan kayu secang sebagai bahan obat konvensional.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang bersifat *in vitro*, dengan tujuan untuk mengevaluasi aktivitas antijamur fraksi kayu secang terhadap *Candida albicans* dan bioautografinya

Alat dan Bahan

Alat yang dipakai meliputi autoklaf (Hiramaya), ayakan 40 mesh (KPK Product), pipet tetes (Pyrex), cawan petri (Pyrex), bejana maserasi, pipet volume (Pyrex) ukuran 5 mL dan 10 mL, Erlenmeyer (*Iwaki asahi*) ukuran 50 mL, gelas ukur (*Iwaki asahi*) 10 mL dan 100 mL, jangka sorong (*Digital cariper*), incubator (Memert), lampu spiritus, *laminar air flow* (LAF), korek api, corong kaca, spuit, oven (Thermo), batang pengaduk, ose, *rotary evaporator*, rak tabung, tabung reaksi (*pyrex*), timbangan analitik (*Ohaus*), vial ukuran 10 mL dan 20 mL, *waterbath* (Memert), corong pisah (*Pyrex*) ukuran 100 mL, *chamber*, lempeng KLT GF 254, cawan *crusible*.

Bahan yang dipergunakan meliputi kayu secang yang didapatkan dari Tawangmangu Kabupaten Karanganyar, Jawa Tengah, biakan jamur *C.albicans*, (Dimetil sulfoksida) DMSO 3%, kertas cakram ukuran 6 mm, etanol 96%, larutan Mc. Farland, flukonazol injeksi, etil asetat, *n-heksana*, aquadestilata, kapas, larutan (Natrium klorida) NaCl 0,9%, (*Potato Dextrose Agar*) PDA, (*Potato Dextrose Borth*) PDB.

Prosedur Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Kayu Secang

Serbuk kayu secang sebanyak 600g dimaserasi dengan memakai 3000 mL etanol 96%

sebagai pelarut selama 1x24 jam pada suhu kamar, sambil sesekali diaduk. Proses penyaringan dilakukan setiap 1x24 jam menggunakan kertas saring. Setelah itu, sampel diremaserasi kembali dengan etanol 96% karena pelarut ini lebih selektif dalam menarik senyawa yang diinginkan, dan menghasilkan ekstrak yang lebih kental dengan waktu yang lebih cepat dibandingkan etanol 70%. Setelah filtrat terkumpul, proses pemisahan dan pengentalan dilakukan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C hingga didapatkan ekstrak kental (Cahyaningtyas *et al.*, 2019).

Pembuatan Fraksi Kayu Secang

Fraksinasi dilaksanakan dengan menimbang 10 gram ekstrak etanol kayu secang ditambahkan dengan 5 mL etanol 96% untuk ditambah dengan aquadest 75 mL dan *n-heksana* 75 mL, kemudian dilaksanakan ekstraksi cair- cair dalam corong pisah dan dilakukan replikasi sebanyak 3 kali untuk mengoptimalkan pemisahan zat. Ekstraksi cair-cair menghasilkan dua lapisan, yakni lapisan *n-heksana* dan residu etanol. Lapisan residu etanol yang terpisah dari *n-heksana* lalu difraksinasi menggunakan pelarut etil asetat sebanyak 75 mL di dalam corong pisah, dengan proses replikasi yang sebanyak tiga kali. Fraksi etil asetat terletak pada lapisan atas, sementara fraksi air terkumpul pada bagian bawah sebagai filtrat. Fraksi etil asetat kemudian dipisahkan dengan fraksi air. Hasil fraksinasi lalu diuapkan di atas *waterbath* pada suhu 40°C. Hasil yang diperoleh ditimbang dan digunakan untuk pengujian selanjutnya (Melsi *et al.*, 2022).

Penapisan Fitokimia

Alkaloid. 1 mL ekstrak dicampur dengan kloroform serta amonia masing-masing 1 mL,

kemudian dipanaskan lalu digojog dan disaring. Hasil filtrat dibagi menjadi 3 kemudian dimasukkan tabung reaksi dan ditambah 3 tetes H₂SO₄ 2N lalu digojog. Filtrat diambil lalu diuji dengan pereaksi wagner, mayer, dan dragendorf. Hasil penapisan menunjukkan apabila positif ditandai dengan endapan jingga, putih, atau coklat (Harborne, 2006).

Flavonoid. Senyawa flavonoid diidentifikasi dengan cara melarutkan sampel dalam 5 mL aquadest, lalu mengocoknya hingga tercampur rata. Sampel kemudian dipanaskan selama 5 menit, kemudian didinginkan, lalu disaring. Pada filtrat yang diperoleh, lalu ditambah serbuk Mg, diikuti dengan penambahan 1 mL HCl dan 1 mL amil alkohol, kemudian digojog hingga tercampur sempurna. Hasil positifnya perubahan warna menjadi merah ungu (Harborne, 2006).

Tanin. Identifikasi senyawa tanin, sampel 1mL dididihkan dengan air panas, lalu disaring direaksikan dengan 2-3 tetes FeCl₃⁻ terbentuknya warna hijau kehitaman ditunjukkan pada ekstrak etanol kayu secang. Hasilnya sesuai studi (Harborne 1987). Perubahan yang ada akibat pembentukan senyawa kompleks tanin bereaksi bersama ion Fe³⁺.

Saponin. Identifikasi senyawa saponin dengan penambahan air pada ekstrak dan digojog hingga homogen kemudian dipanaskan selama 5 menit pada suhu 70°C lalu dikocok kuat. Hasil positifnya dengan munculnya busa (Harborne 1987).

Triterpenoid/steroid. Ekstrak 50 mg ditimbang lalu dilarutkan dengan etanol 30% 5 mL dan dipanaskan 5 menit dalam suhu 50°C,

kemudian dilakukan penyaringan. Filtrat yang didapatkan diuapkan. Hasil residu ditambahkan eter 2 mL dan kemudian dimasukan dalam tabung reaksi. Sampel lalu ditambah pereaksi lieberman burchard. Reaksi dianggap positif untuk triterpenoid jika warna merah atau ungu terbentuk, apabila warna hijau atau biru menandakan positif steroid (Harborne, 2006).

Pengujian antijamur ekstrak dan fraksi kayu secang

Penentuan aktivitas antijamur *C. albicans* dilakukan menggunakan metode difusi kertas cakram diameter 6 mm. Metode ini dilaksanakan dengan prosedur yaitu media PDA 20 mL dimasukkan pada cawan petri ditunggu sampai memadat. Suspensi jamur *C. albicans* yang telah distandarkan di inokulasi dengan kapas lidi steril diatas permukaan media. Ekstrak, fraksi etil asetat, fraksi *n-heksana*, serta fraksi air diambil sebanyak 25µL dan ditetaskan pada kertas cakram steril dengan konsentrasi 6%, 9%, 12% kemudian diletakkan diatas permukaan media (Sumarsih, 2021). Flukonazol dengan konsentrasi 1% digunakan untuk Kontrol positif karena flukonazol menjadi pilihan lini pertama dalam pengobatan jamur *C. albicans*. Kontrol negatif dalam pengujian ini menggunakan DMSO 3% karena sifat dari DMSO yang tidak memiliki sifat antijamur sehingga cocok digunakan sebagai kontrol negatif. Pembuatan kontrol. negatif DMSO 3% dilakukan dengan melarutkan DMSO 10 mL dengan aquadest 100 mL (Rizki *et al.*, 2021).

Kertas cakram yang telah ditetesi dengan flukonazol 1% dan DMSO 3% diletakkan di atas media. Kertas cakram yang telah diletakkan pada

permukaan media cawan petri lalu dilakukan inkubasi dalam suhu 37°C hingga 24 jam diinkubator. Zona hambat yang terwujud ditandai dengan adanya zona jernih diukur memakai jangka sorong. (Karlina *et al.*, 2020).

Analisis KLT Bioautografi

Pengujian KLT bioautografi dilakukan menggunakan konsentrasi ekstrak maupun fraksi teraktif yang memiliki zona jernih paling besar. Pertama, mempersiapkan plat KLT dengan silika berukuran 1x10 cm sebagai fase diam. Lempeng KLT ditandai dengan garis pada tepi bawah serta atas plat menggunakan pensil dengan jarak masing-masing 1 cm untuk tepi atas serta 1,5 cm untuk tepi bawah. Plat KLT dipanaskan dengan suhu 105°C hingga 10 menit guna mengaktifkan plat agar kadar air yang menempel di plat hilang. Kedua, menyiapkan fase gerak (eluen) menggunakan eluen Toluena *P*-etil asetat *P*-metanol *P*-asam format (8:12:2:1). Eluen yang ada di bejana dilakukan penjenjuran dahulu dengan cara memasukan setiap fase gerak ke dalam chamber lalu ditutup. Penjenjuran dilaksanakan hingga fase gerak naik ke kertas saring sampai tanda batas. Fraksi dengan konsentrasi yang memiliki zona jernih terbesar dan baku pembandingan berupa asam galat ditotolkan ke plat KLT memakai pipa kapiler. Plat yang telah ditotol dimasukkan kedalam *chamber* yang sudah dijenuhkan ditunggu sampai fase gerak naik dan lempeng KLT diambil dari *chamber* dilakukan pengeringan. Plat KLT diamati dibawah lampu UV 366 nm serta lampu UV 254 nm (Paputungan *et al.*, 2019).

Media PDA ditimbang sebanyak 1,95 gram ditambahkan dengan aquadest hingga 50 mL,

kemudian PDA dilarutkan sampai homogen. Media PDA yang sudah dilarutkan disterilkan memakai autoklaf dalam suhu 121°C hingga 15 menit, setelah itu ditunggu hingga cukup dingin dan media PDA dituang ke setiap cawan petri 30 mL pada keadaan masih cair dan ditunggu hingga memadat. Isolat jamur *C. albicans* diinokulasi dengan kapas lidi steril diatas permukaan media. Lempeng KLT diletakkan di atas media yang memadat dan didiamkan di lemari pendingin selama 30 menit. Lempeng kromatogram kemudian diangkat, dikeluarkan dari media, dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1 kali 24 jam. Zona hambat akan terbentuk pada permukaan media dimana senyawa antimikroba menempel pada media yang diamati (Paputungan *et al.*, 2019).

Analisis Data

Data penelitian ini yaitu nilai zona hambat dari *C. albicans* yang diberikan pembuktian melalui zona jernih pada sekeliling kertas cakram yang dihasilkan dari pengujian menggunakan beberapa konsentrasi dari ekstrak etanol dan fraksi. Data yang didapatkan dilakukan analisis dengan *Two Way* ANOVA, jika data berdistribusi normal ($p \geq 0,05$), namun jika data berupa zona jernih disekeliling kertas cakram tidak berdistribusi normal ($p \leq 0,05$) maka dilaksanakan uji *Kruskal-Wallis*

HASIL DAN PEMBAHASAN

Identifikasi senyawa kimia menunjukkan bahwa ekstrak kayu secang mengandung alkaloid, flavonoid, tanin, dan saponin. Hasil dari penelitian dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil identifikasi senyawa kimia ekstrak kayu secang

Senyawa	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Larutan berwarna putih untuk wagner, coklat untuk mayer, merah bata untuk dragendrof	++
Flavonoid	Larutan berwarna jingga pada lapisan amil alkohol	++
Saponin	Terdapat busa	+
Triterpenoid/steroid	Terbentuk warna merah pekat	++

Keterangan :

- (+) = Hasil positif dengan konsentrasi rendah
 (++) = Hasil positif dengan konsentrasi sedang
 (+++) = Hasil positif dengan konsentrasi tinggi
 (-) = Tidak mengandung senyawa uji

Ekstrak etanol dari kayu secang dibuat dengan metode maserasi, menggunakan etanol 96%. Hasil maserasi serbuk kayu secang 600g diperoleh ekstrak kental 54 gram serta rendemen 9%. Rendemen adalah perbandingan antara hasil banyaknya metabolit yang diperoleh setelah diekstraksi dengan berat sampel yang akan digunakan, sehingga semakin besar rendemen yang diperoleh, maka metabolit yang diperoleh semakin banyak (Depkes RI, 2000). Hasil rendemen memenuhi syarat karena lebih dari 8,1%. Proses fraksinasi menghasilkan dua lapisan: lapisan atas terdiri dari pelarut *n-heksana*, dan lapisan bawah terdiri dari pelarut air. Perbedaan massa jenis antara *n-heksana* (0,66 g/ml) yang lebih rendah dan air (1 g/ml) menyebabkan pemisahan lapisan ini. Fraksinasi menggunakan pelarut etil asetat, lapisan atas terbentuk dari etil asetat, sementara lapisan bawah terdiri dari air karena dengan massa jenis air (1 g/ml)

Tabel 2. Hasil rendemen total fraksi *n-heksana*, etil asetat, dan air

Weight of extract (g)	Pelarut	Berat fraksi (g)	Rendemen (%)
10	<i>n-heksan</i>	2,00	20
10	Etil asetat	3,00	30
10	Air	4,00	40

Tabel 2. Menyajikan hasil perhitungan rendemen diperoleh dari pelarut yang berbeda. Berdasarkan data tersebut, fraksi air menghasilkan rendemen yang cukup tinggi dibandingkan dengan fraksi *n-heksana* dan etil asetat, sementara fraksi *n-heksana* mempunyai rendemen yang lebih rendah daripada fraksi etil asetat. Air bersifat polar, senyawa dalam kayu secang seperti senyawa tannin, alkaloid, dan flavonoid dapat tertarik kedalam fraksi air.

Uji Aktivitas Antijamur Secara Difusi

Aktivitas antijamur dari ekstrak dan fraksi kayu secang terhadap *C. albicans* diuji memakai metode difusi cakram dengan konsentrasi 6%, 9%, serta 12%, dengan flukonazol sebagai kontrol positif dan DMSO 3% sebagai kontrol negatif. Aktivitas antijamur dari ekstrak etanol, fraksi *n-heksana*, fraksi etil asetat, dan fraksi air kayu secang diuji pada *C. albicans*, menghasilkan hambatan pertumbuhan yang terlihat dari terdapatnya area bebas jamur di sekitar kertas cakram.

Hasil uji aktivitas antijamur dari ekstrak etanol, fraksi *n-heksana*, etil asetat, serta fraksi air memiliki daya hambat pada *C. albicans*, seperti yang ditunjukkan oleh hasil uji pada tabel 3.

Tabel 3. Diameter hambat uji antijamur kayu secang pada *C. albicans* secara difusi

Sampel	Konsentrasi (%)	Rata-rata daya hambat	±SD
Ekstrak	6	7,71	7,71±0,745
	9	10,56	10,56±0,517
	12	14,7	14,07±1,458
Fraksi n-heksana	6	4,34	4,34±1,547
	9	6,02	6,02±2,206
	12	8,24	8,24±0,708
Fraksi etil asetat	6	7,81	7,81±0,886
	9	10,66	10,66±0,142
	12	14,89	14,89±2,750
Fraksi air	6	9,28	9,28±0,150
	9	14,72	14,72±3,117
	12	16,19	16,19±2,182
Kontrol positif (Flukonazol)	1	21,06	21,06±0,075
Kontrol negatif (DMSO 3%)	3	0	0

Keterangan :

Kontrol (+) = Fluconazole

Kontrol (-) = DMSO 3%

Senyawa alkaloid diuji dengan tiga reagen, berupa wagner, mayer, dan dragendorff. Pengujian ketiga reagen tersebut menunjukkan hasil positif, ditandai adanya endapan putih pada reagen wagner, endapan cokelat pada reagen mayer, serta endapan berwarna jingga hingga merah bata pada reagen dragendorff. Endapan putih kalium- alkaloid terbentuk akibat reaksi dengan pereaksi wagner, yang disebabkan karena terbentuknya ikatan kovalen koordinasi antara ion logam K^+ dan atom N, menghasilkan kompleks kalium- alkaloid. Reaksi antara dragendorff dan alkaloid melibatkan substitusi ligan. Atom N yang memiliki pasangan elektron bebas (PEB) membentuk ikatan kovalen koordinasi dengan ion kalium (K^+) dari tetraiodobismutat kalium, menghasilkan kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Erwan & Parbuntari 2023). Flavonoid bereaksi dengan logam Mg dan Cl_2 , menghasilkan warna merah, jingga, atau kuning.

Uji senyawa alkaloid, pereaksi mayer menghasilkan endapan kalium-alkaloid, di mana ion logam kalium yang berasal dari kalium tetraiodomerkurat (II) mengakibatkan terbentuknya kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Erwan & Parbuntari 2023). Uji kandungan dilakukan untuk mengetahui keberadaan senyawa fenol ditambahkan dengan $FeCl_3$. Gugus fenol dalam ekstrak dibuktikan dengan terdapatnya warna hijau biru tua ataupun kehitaman menunjukkan adanya gugus fenol yang berasal dari senyawa polifenol menurut Ergina & Indarini (2014).

Glikosil yang terdapat pada saponin berfungsi sebagai gugus polar, sementara terpenoid serta steroid yang terkandung di dalamnya berperan sebagai gugus nonpolar yang bersifat surfaktan. Dalam struktur misel, gugus polar saponin cenderung mengarah ke luar, sedangkan gugus nonpolar mengarah ke dalam. Reaksi ini mirip dengan pembentukan busa. Hasil positif terpenoid terlihat dengan terbentuknya cincin ungu kecokelatan setelah penambahan H_2SO_4 . Proses ini terjadi akibat reaksi oksidasi yang menghasilkan ikatan rangkap terkonjugasi, yang membentuk gugus kromofor. Gugus ini terbentuk melalui reaksi kondensasi, di mana terjadi pelepasan H_2O serta pengkombinasian karbokation (Habibi, 2018).

Hasil uji aktivitas antijamur dari ekstrak etanol, fraksi *n-heksana*, etil asetat, serta fraksi air memiliki daya hambat pada *C. albicans*, seperti yang ditunjukkan oleh hasil uji pada tabel 4. Diameter hambat fraksi air serta kontrol positif flukonazol lebih efektif dalam menghambat *C. albicans*. Konsentrasi fraksi air adalah 6, 9, dan

12%. Diameter zona hambat pada fraksi air yaitu 9,28 mm, 14,72 mm, dan 16,19 mm. Konsentrasi kontrol positif flukonazol 1%, mempunyai zona hambat 21,06 mm. Hasil uji *One-Sample Kolmogorov-Smirnov* diperoleh signifikansi $\geq 0,05$ data tersebut terdistribusi normal sehingga bisa dilanjutkan uji ANOVA. Hasil uji *two-way* ANOVA data menghasilkan nilai sig 0,000 ($<0,05$). Nilai tersebut menunjukkan ekstrak, fraksi berbeda secara signifikan. Uji kemudian dilanjutkan *Post Hoc Tukey*, dengan hasil dari tiap sampel uji ada perbedaan nyata dalam menghambat *C. albicans*. Berdasarkan tabel Tukey HSD terdapat tanda * pada *Mean Difference*, tanda itu menunjukkan perbedaan diameter hambat aktivitas antijamur tersebut signifikan, sedangkan jika tidak terdapat tanda * maka diameter hambat aktivitas antijamur tidak signifikan yang berarti tidak adanya perbedaan.

Zona hambat untuk antijamur dikelompokkan berdasarkan kriteria Davis dan Stout (1971): zona hambat dengan diameter kurang dari 5 mm dianggap lemah, antara 5-10 mm dianggap sedang, 11-20 mm dianggap kuat, dan lebih dari 20 mm dianggap sangat kuat. Fraksi air konsentrasi 12% menunjukkan zona hambatnya lebih kuat dibandingkan dengan fraksi lainnya. Ekstrak etanolik kayu secang menunjukkan daya hambat terhadap *C. albicans* pada ukuran zona hambat 7,71 mm dengan konsentrasi 6%, yang termasuk dalam kategori sedang. Konsentrasi 9% menghasilkan daya hambat 10,56 mm sedangkan konsentrasi 12% menghasilkan daya hambat 14,07 mm dengan kategori kuat. Fraksi *n-heksana* konsentrasi 6% menunjukkan daya hambat antijamur 4,35 mm

yang dianggap lemah. Fraksi *n-heksana* konsentrasi 9% menunjukkan daya hambat antijamur 6,02 mm, serta konsentrasi 12% menunjukkan daya hambat 8,24 mm, termasuk dalam kategori sedang. Fraksi etil asetat konsentrasi 6% menunjukkan daya hambat antijamur 7,81 yang masuk dalam kategori sedang. Fraksi etil asetat konsentrasi 9% menunjukkan zona hambat 10,56 mm dan konsentrasi 12% menunjukkan zona hambat 14,89 mm yang termasuk kategori kuat.

Fraksi air konsentrasi 6% menunjukkan zona hambat 9,28 mm yang tergolong kategori sedang. Fraksi air konsentrasi 9% menunjukkan zona hambat 14,72 mm dan konsentrasi 12% menunjukkan zona hambat 16,19 mm yang masuk kategori kuat. Disimpulkan bahwa konsentrasi 12% pada fraksi air adalah konsentrasi yang teraktif dalam menghambat tumbuhnya jamur *C. albicans*.

Fraksi air dibandingkan dengan etil asetat, ekstrak etanol kayu secang, serta fraksi *n-heksana*, mempunyai antijamur tertinggi dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* dikarenakan fraksi air berasal dari pemisahan ekstrak etanol kayu secang, sehingga senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tannin dapat bekerja dengan sinergis untuk menciptakan daya hambat yang melebihi. Senyawa alkaloid berfungsi menghambat respirasi sel jamur *C. albicans*, asam nukleat protein, dan membran fosfolipid

yang mengakibatkan gangguan pada pembuatan dan fungsi zat tersebut sehingga terjadi kerusakan total pada sel jamur (Utami *et al.*, 2022).

Tanin dapat mengganggu sintesis protein di lapisan sel dan polipeptida dinding sel,

sehingga pembentukan dinding sel jamur menjadi tidak sempurna serta lisis (Agustina *et al.*, 2021). Kontrol negatif dalam pengujian ini menggunakan DMSO 3% yang memiliki daya hambat 0. Hasil dari pengujian DMSO 3% tidak memiliki aktivitas antijamur dari masing-masing fraksi dan ekstrak etanol kayu secang. Kontrol positif yang dipakai adalah flukonazole 1% serta memiliki zona hambat 21,06%. Kontrol positif flukonazol menunjukkan daya hambat tertinggi, karena flukonazol secara spesifik menghambat enzim mikrosomal sitokrom P450 pada membran fungi. Enzim ini bertanggung jawab dalam sintesis ergosterol sehingga jamur akan mati (Ramadhan *et al.*, 2017). Flukonazol menjadi pilihan lini pertama dalam pengobatan jamur *C. albicans*, sedangkan terendah adalah kontrol negatif DMSO 3%, karena sifat dari DMSO 3% yang tidak memiliki sifat antijamur sehingga cocok digunakan sebagai kontrol negatif. (Rizki *et al.*, 2021).

Analisis Fraksi Teraktif Menggunakan Metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) serta Bioautografi

Hasil pengujian difusi yang telah dilakukan didapatkan bahwa fraksi teraktif yaitu fraksi air. KLT dilakukan menggunakan ekstrak dan fraksi teraktif sebagai sampel. Eluen yang digunakan adalah Toluen P-etil asetat P-metanol P- asam format (8:12:2:1). Idealnya, eluen dipilih dari pelarut organik yang tidak polar, serta kemudian pelarut yang lebih polar ditambahkan untuk meningkatkan kepolaran (Paputungan, 2019). Senyawa yang dianalisis yaitu tannin.

Pengamatan senyawa tannin diamati pada sinar UV 254 nm, 366 nm, serta sinar tampak.

Sampel akan mengalami peredaman sehingga Nampak bercak berwarna berwarna kuning kecoklatan. Bercak yang Nampak dihitung nilai (*Retention Factor*) RF. Nilai RF ekstrak ialah 0,69, nilai RF fraksi air adalah 0,69, serta nilai baku pembanding adalah 0,69. Angka tersebut menunjukkan bahwa ekstrak, dan fraksi air mengandung tannin dan terjadi pemisahan yang baik.

Pengujian dengan metode bioautografi secara kontak, dengan menempelkan lempeng KLT pada media PDA yang sudah dioleskan dengan jamur *C. albicans* menggunakan kapas lidi steril, lalu dilakukan inkubasi pada suhu kurang lebih 37°C selama 24 jam. Hasil uji daya hambat antijamur metode bioautografi bisa terlihat dalam gambar 1.



Gambar 1. Hasil uji KLT Bioautografi

Hasil penelitian yang diperoleh yaitu ekstrak dan fraksi air kayu secang dengan metode KLT bioautografi memberikan zona hambat pada jamur *C. albicans*, yang ditandai terbentuknya zona jernih yang terlihat dari noda pada plat hasil elusi. Hasil RF yang diperoleh yaitu 0,61. Senyawa yang terkandung dalam fraksi air seperti flavonoid, tannin, alkaloid akan berdifusi dari plat KLT ke medium agar, setelah diinkubasi akan terlihat hasil zona hambat dalam media tersebut. Hasil yang didapatkan dinyatakan bahwa ekstrak serta fraksi air dari kayu secang berdaya hambat atas jamur *C. albicans* (Yasir, 2021).

KESIMPULAN

Hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

Pertama, ekstrak dan fraksi *n-heksana*, etil asetat, dan air memiliki daya hambat terhadap *C. albicans*.

Kedua, fraksi dari ekstrak etanol kayu secang yang teraktif dalam menghambat *C. albicans* adalah fraksi air

Ketiga, fraksi teraktif dari ekstrak kayu secang adalah fraksi air yang mengandung golongan senyawa tannin dengan RF 0,61.

SARAN

Penelitian selanjutnya disarankan agar mengembangkan formulasi sediaan yang berpotensi meningkatkan stabilitas dan efektivitas zat aktif terhadap *C. albicans*, menggunakan metode dilusi cair agar dapat mengukur aktivitas konsentrasi hambat minimum (KHM) secara kuantitatif serta memperluas skrining fitokimia yang relevan dengan aktivitas antijamur.

DAFTAR PUSTAKA

- Agustina, E., Andiarna, F., Hidayati, I., & Kartika, V. F. (2021). Uji aktivitas antijamur ekstrak black garlic terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. *BIOMA: Jurnal Ilmiah Biologi*, 10(2):143–157.
- Ayu Ida, P. E., Desi Bintari, N. W., Idayani, S., & Damayanti, I. A. M. (2023). Gambaran jamur *Candida albicans* pada urin pra-menstruasi mahasiswi Stikes Wira Medika Bali. *Jurnal Riset Kesehatan Nasional*, 7(2):84–90.
<https://doi.org/10.37294/jrkn.v7i2.499>
- Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. (2013). *Pedoman penyiapan bahan baku obat bahan alam berbasis ekstrak/fraksi* (Cetakan pertama, Issue November). Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia.
- Cahyaningtyas, D. M., Puspawati, N., & Binugraheni, R. (2019). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanolik kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biomedika*, 12(2):205–216
- Erwan, O. M., & Parbuntari, H. (2023). Identifikasi senyawa metabolit sekunder pada daun salam (*Syzygium polyanthum*). *Jurnal Periodic Jurusan Kimia UNP*, 12(3), 39–39.
- Habibi, A. I., Firmansyah, R. A., & Setyawati, S. M. (2018). Skrining fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*. Universitas Islam Negeri Walisongo.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Bandung: Penerbit ITB.
- Harborne, J. B. (2006). *Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis* (3rd ed.). Springer Science & Business Media.
- Karlina, Y., Adirestuti, P., Agustini, D. M., Fadhillah, N. L., & Malita, D. (2020). Pengujian potensi antijamur ekstrak air kayu secang terhadap *Aspergillus niger* dan *Candida albicans*. *Chimica et Natura Acta*, 4(1): 84–87.
- Khaira, R. (2020). Identifikasi jamur *Candida albicans* pada bak penampungan air di toilet umum. *Journal of Pharmacy and Science*, 3(1).
- Latirah. (2021). Color test extract of secang (*Caesalpinia sappan* L.), gambier (*Uncaria gambir* Roxb.), and areca seeds (*Areca catechu* L.). *Jurnal Teknologi dan Seni Kesehatan*, 12(1):53–61.

- Listiani, B., Meidyawati, R., Npa, D. A. Y. U., & Arniawaty, D. W. I. (2019). Antifungal efficacy of secang heartwood (*Caesalpinia sappan* L.) solution on biofilm *Candida albicans*. *International Journal of Pharmaceutics*, 11(1):5–8.
- Melsi, K., Nopiyanti, V., & Rejeki, E. S. (2022). Uji aktivitas antioksidan fraksi n-heksan, etil asetat, dan air ekstrak daun biwa (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) dengan metode DPPH. *As-Syifaa: Jurnal Farmasi*, 14(2):83–88.
- Paputungan, W. A., Lolo, W. A., & Siampa, J. P. (2019). Aktivitas antibakteri dan analisis KLT- bioautografi dari fraksi biji kopi robusta (*Coffea canephora* Pierre ex A. Froehner). *Pharmacon*, 8(3), 516.
- Rachmania, R. A., Dwitianti, D., Iriansyah, Q. W., & Putri, F. F. (2021). Potensi fraksi kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) terhadap penghambatan xantin oksidase dalam menurunkan kadar asam urat pada hiperurisemia. *Pharmacy: Jurnal Farmasi Indonesia*, 18(1):21.
- Rizki, S. A., Latief, M., Fitriyaningsih, Rahman, & Havizur. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak n- heksan, etil asetat, dan etanol daun durian (*Durio zibethinus* Linn.) terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* dan *Staphylococcus epidermidis*. *JMJ: Jurnal Medika Jambi*, 4(1):442–457.
- Rukmana, M. R., Nughroho, B. R., & Wisnumurti, A. D. (2020). Uji resistensi isolat khamir yang diisolasi dari limbah industri di Rungkut, Surabaya, Indonesia. *Jurnal Bioeksperimen*, 6(2):133–140.
- Suhartinah, S. (2023). Uji aktivitas sediaan gel ekstrak daun kenikir (*Cosmos caudatus* Kunth) terhadap kecepatan penyembuhan luka sayat pada punggung kelinci. *Intan Husada: Jurnal Ilmiah Keperawatan*, 11(1):1–14.
- Suraini, & Enlita. (2019). Uji potensi ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. *Jurnal Upertis*, 8(1):47–56.
- Yasir, Y., Rusli, & Asmita. (2021). Antifungal activity test of ethanol extract of secang wood (*Caesalpinia sappan* L.) against *Candida albicans*. *Jurnal Novem Medika Farmasi*, 10–17. Universitas Islam Makassar.