

JURNAL METAMORFOSA

Journal of Biological Sciences

eISSN: 2655-8122

<http://ojs.unud.ac.id/index.php/metamorfosa>

Elusidasi Dan Daya Hambat Ekstrak Etanol Daun Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus* L.) Terhadap *Candida albicans* ATCC 1023

Elucidation And Inhibition Of Extract Ethanol Sembung Delan (*Sphaeranthus Indicus* L.) Against *Candida Albicans* ATCC 1023

Yulita Salma Lani^{1*}, Ida Bagus Gede Darmayasa², Ni Made Susun Parwanayoni³

^{1,2,3}Program studi biologi, Fakultas MIPA, Universitas Udayana, Bukit Jimbaran, Badung

*Email: lanilitha2@gmail.com

INTISARI

Tumbuhan sembung delan (*Sphaeranthus indicus* L.) merupakan salah satu tumbuhan pengganggu di Indonesia yang memiliki potensi besar sebagai salah satu antijamur. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mendapatkan kemampuan ekstrak daun sembung delan dalam menghambat *Candida albicans* ATCC 1023, sebagai spesies patogen dan penyebab kandidiasis, serta senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak. Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi dalam 7 perlakuan dan 4 kali ulang dengan satu faktor perlakuan yaitu konsentrasi 1 % (b/v), 2 % (b/v), 3 % (b/v), 4 % (b/v), 5 % (b/v). Kontrol positif (*Nystatin*) dan kontrol negatif (*methanol solvent*). Dilakukan uji fitokimia dan analisis kandungan senyawa menggunakan GC-MS. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak daun sembung delan mampu menghambat *C. albicans* ATCC 1023 dengan daya hambat yang paling besar adalah konsentrasi 5% (b/v) dengan diameter 13,00 mm, dan konsentrasi minimum 0,3% (b/v) dengan diameter zona hambat sebesar 5,92 mm. Secara statistik berbeda nyata ($P \leq 0,05$) dengan konsentrasi 0,1% (b/v), dan 0,2% (b/v) yang diameternya 0,000 mm dan konsentrasi optimum 4% (b/v) dengan diameter 11,25 mm. Hasil uji fitokimia ekstrak kasar daun sembung delan mengandung saponin, fenol, steroid, terpenoid, alkaloid, dan tanin. Untuk analisis GC-MS diperoleh 7 senyawa aktif dengan 6 diantaranya diketahui sebagai senyawa antifungi yaitu *Thymol*; *1-Tetradecanamine, N,N-dimethyl-*; *Benzene, 2-methoxy-1,2,3-trimethyl-*; *6-Octenal, 3,7-dimethyl-*; *Thymol* dan *Benzyl chloride*. Senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak daun sembung delan berpotensi dapat dimanfaatkan sebagai bahan herba untuk mengendalikan *C. albicans* ATCC 1023.

Kata kunci: *Minimum Inhibitory Concentration*, Fitokimia, Kromatografi Lapis Tipis, Gas Chromatography Mass Spectrometry.

ABSTRACT

The sembung delan (*Sphaeranthus indicus* L.) plant is one of the weeds in Indonesia which has great potential as an alternative antifungal. The purpose of this study was to determine the ability of sembung delan leaf extract to inhibit the fungus *Candida albicans* ATCC 1023, as a pathogenic species and cause of candidiasis, as well as chemical compounds contained in the extract. The research design used in this study was a completely randomized design (CRD) divided into 7 treatments and 4 repetitions with one treatment factor, namely the concentration of 1% (w/v), 2% (w/v), 3% (w/v), 4% (w/v), 5% (w/v). Positive control (*Nystatin*) and negative control (*Solvent*). Phytochemical tests were carried out and analysis of compound content using GC-MS. The results showed that sembung delan

leaf extract was able to inhibit *C. albicans* ATCC 1023 with the greatest inhibition, namely at a concentration of 5% (w/v) with a diameter of 13.00 mm, a minimum concentration of 0.3% (w/v) with a diameter of 5.925 mm. Statistically significantly different ($P \leq 0.05$) with a concentration of 0.1% (w/v), and 0.2% (w/v) with a diameter of 0.000 mm and an optimum concentration of 4% (w/v) with a diameter of 11.25 mm. Phytochemical test results of the crude extract of sembung delan contain saponins, phenols, steroids, terpenoids, alkaloids, and tannins. For GC-MS analysis, 7 active compounds were obtained with 6 of them known as anti-fungal compounds, namely *Thymol*; 1-*Tetradecanamine, N, N-dimethyl-*; *Benzene, 2-methoxy-1,2,3-trimethyl-*; 6-*Octenal, 3,7-dimethyl-*; *Thymol* and *Benzyl chloride*. The active compounds contained in sembung delan leaf extract have the opportunity to be used as herbal ingredients to control *C. albicans* ATCC 1023.

Keywords: *Minimum Inhibitory Concentration*, Phytochemicals, Thin Layer Chromatography, Gas Chromatography Mass Spectrometry.

PENDAHULUAN

Indonesia termasuk negara dengan Megabiodiversitas yang kaya akan tumbuhan yang berpotensi sebagai bahan obat alternatif. Ada sekitar 40.000 jenis tumbuhan dan kurang lebih 940 jenis diantaranya berkhasiat sebagai obat (Masyhud, 2010). Berkembangnya pola hidup masyarakat di dunia dengan slogan *back to nature* untuk memanfaatkan bahan-bahan alami sebagai obat alternatif. Saat ini kurang lebih 199 industri farmasi yang ada di Indonesia. Sekitar 10 perusahaan diantaranya merupakan industri kefarmasian yang umumnya lebih banyak pengusaha local (Harjawinata *et al.*, 2015).

Tumbuhan sembung delan (*Sphaeranthus indicus* L.) termasuk salah satu tumbuhan pengganggu yang hidup pada daerah persawahan dataran rendah. Tumbuhan ini termasuk dalam famili compositae dengan ciri-ciri: herba bercabang-cabang, tingginya 0,2- 0,9 m, batang berpenampang bulat, daun tersebar memanjang hingga membulat dengan permukaan penuh dengan rambut kelenjar, karangan bunga bentuk bulat memanjang dan pada saat mekar berwarna ungu dengan aroma kuat (Herbie, 2015). Robinson (1995) menyatakan daun sembung delan (*S. indicus* L.) menghasilkan metabolit sekunder berupa senyawa ester asetilat, hidrokarbon asetilina dan alkohol. Hasil penelitian Darmayasa (2002) mendapatkan ekstrak kasar daun sembung delan secara *In vitro* memiliki kemampuan bakterisida terhadap *Pseudomonas solanacearum*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Candida albicans termasuk penyebab penyakit infeksi yang sering terjangkit di tengah masyarakat Indonesia. Indonesia yang terletak di daerah tropis, memiliki kelembaban udara yang cukup tinggi merupakan kondisi yang baik bagi pertumbuhan jamur. *Candida albicans* memiliki habitat alaminya ada pada saluran pernafasan bagian atas, saluran pencernaan dan mukosa genital pada mamalia. Apabila keberadaan jamur ini meningkat dalam habitat alaminya, dapat menyebabkan penyakit. Jamur *C. albicans* diduga sebagai penyebab utama terjadinya kandidiasis (Kurniawan, 2009 dan Mutschler, 1991). Selanjutnya Mutschler (1991) menyatakan *C. albicans* digolongkan sebagai jamur oportunistik dimana pada kondisi tubuh hostnya melemah dapat menimbulkan penyakit. Pendapat yang juga disampaikan oleh Handayani *et al.*, (2010) yang mengelompokkan *C. albicans* sebagai jamur flora normal dalam rongga mulut yang bersifat oportunistik. Lebih lanjut disampaikan *C. albicans* dapat berpoliferasi dengan cepat jika system kekebalan tubuh hospesnya menurun sehingga daya infeksiya meningkat dan dapat menyebabkan kandidiasis.

Penyakit kandidiasis merupakan suatu infeksi yang disebabkan oleh *Candida*, yang awalnya diberi nama *Monilia*. Kandidiasis pada bagian mulut atau sering diistilahkan monilitas adalah salah satu penyebab infeksi utama pada bagian mulut manusia. Kehadiran penyakit ini mencapai 20%-75% ditemukan pada manusia sehat tanpa menunjukkan tanda-tanda. Pada penyakit sistemik, kandidiasis dapat

menimbulkan lonjakan angka kematian sekitar 71% -79%. Terutama pada bayi dan orang dewasa yang system kekebalannya melemah. Penularan dari penyakit ini pada bayi dapat terjadi melalui dot, pakaian, bantal, dan sebagainya (Prasetya, 2011). Adanya infeksi *C. albicans* pada rongga mulut dapat dicirikan dengan timbulnya bercak putih pada gingiva, lidah, dan membran mukosa oral (Carranza *et al.*, 2012).

Berdasarkan permasalahan yang telah dipaparkan, sangat penting diteliti mengenai elusidasi dan daya fungisida dari ekstrak daun sembung delan terhadap jamur *C. albicans* ATCC 1023.

BAHAN DAN METODE

Simplesia yang diujikan dalam penelitian ini adalah daun sembung delan yang dikoleksi dari di wilayah Desa Pekraman Pemogan, Kecamatan Denpasar Selatan, Kota Denpasar, Provinsi Bali. Sebagai jamur uji adalah isolat *C. albicans* ATCC 1023 yang diperoleh dari Badan POM Denpasar, etanol PA, methanol PA, etil asetat, plat KLT, media PDA dan silica gel PA.

Sumber data yang diambil dalam penelitian ini berupa data deskriptif dan eksperimental. Untuk data deskriptif meliputi isolasi dan reidentifikasi *C. albicans* ATCC 1023, sedangkan data penelitian eksperimental di laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang dibagi dalam 7 perlakuan dan 4 kali ulangan. Maka jumlah seluruh unit percobaan yaitu 28 dengan satu faktor perlakuan yaitu pemberian ekstrak daun sembung delan (*Sphaeranthus indicus* L.) dengan konsentrasi 1 % (b/v), 2 % (b/v), 3 % (b/v), 4 % (b/v), 5 % (b/v). Kontrol positif (*Nystatin*) dan kontrol negatif (*solvent*). Ekstrak daun sembung delan dibuat dengan cara, daun dicuci dengan air, dipotong kecil-kecil kemudian dikering anginkan. Selanjutnya potongan yang sudah kering diblender hingga menjadi serbuk dan dimaserasi dalam etanol (PA) selama 72 jam dengan perbandingan 1:10 (berat/volume). Bahan yang dimaserasi disaring dengan kertas saring wathman no. 1 setiap 24 jam. Filtrat yang diperoleh dari hasil 3 kali penyaringan digabung kemudian

dipisahkan solventnya dengan *rotary evaporator* (Iwaki, Japan) pada suhu 50 °C sehingga memperoleh ekstrak kasar (*crude extract* yang selanjutnya diuji kemampuan fungisidanya (Parwanayoni *et al.*, 2018; Parwanayoni dan Sudirga, 2020).

Uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 1023 dilakukan dengan metode *kirbybauer* (kertas cakram). Disiapkan larutan konsentrasi stok 25% (b/v) dengan cara sebanyak 1,25g ekstrak kasar daun sembung delan dilarutkan 100 mL etanol. Kemudian dilakukan pengenceran larutan stok untuk memperoleh konsentrasi 1% (b/v), 2% (b/v), 3% (b/v), 4% (b/v) dan 5% (b/v). selanjutnya dengan menyiapkan tujuh buah cawan Petri steril kemudian diisi 200 µL suspensi *C. albicans* lalu dituangkan 15 mL media PDA (suhu 37°C) kemudian dihomogenkan. Setelah media memadat pada cawan Petri, selanjutnya kertas cakram yang sudah didedahkan masing-masing 20 µL ekstrak dengan konsentrasi konsentrasi 1% (b/v), 2% (b/v), 3% (b/v), 4% (b/v) dan 5% (b/v), kontrol positif (*Nystatin* 5%), dan kontrol negatif (etanol) diletakkan di cawan Petri. Selanjutnya cawan Petri yang telah berisi jamur dan ekstrak uji, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 sampai 48 jam. Daya hambat ekstrak daun sembung delan dapat diamati dengan mengukur diameter zona hambatan (*clear zona*) di sekitar kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong. (Parwanayoni *et al.*, 2018; Parwanayoni dan Sudirga, 2020).

Uji fitokimia dilakukan terhadap senyawa hasil ekstraksi etanol yang bertujuan untuk menentukan golongan senyawa aktif antijamur. Dibuat larutan uji dengan campuran 50 mg ekstrak dalam 10 mL etanol. Uji fitokimia yang dilakukan sebagai berikut: Uji alkaloid ditentukan dengan cara ekstrak kasar ditambahkan HCl 2 N selanjutnya ditambahkan pereaksi Meyer dan Wagner. Menurut Darwis (2000) dan Agust *et al.* (2014), hasil uji positif apabila dengan pereaksi Mayer tampak adanya endapan putih. Untuk pereaksi Dragendorff timbul endapan merah-jingga. Terbentuk warna kecokelatan dengan pereaksi Bouchardat dan dengan pereaksi Wagner terbentuk warna

cokelat. Uji flavonoid, dilakukan dengan cara ekstrak ditambahkan HCl pekat dan 2 potongan kecil Mg, reaksi positif jika terjadi perubahan warna merah menjadi orange. Sedikit ekstrak dilarutkan dengan etanol kemudian ditambahkan pereaksi NaOH 10%, Uji positif ditunjukkan oleh terbentuknya warna merah, kuning atau jingga (Agust *et al.*, 2014). Uji saponin, dilakukan dengan cara ekstrak kasar ditambahkan air lalu dikocok dengan kuat, apabila terbentuk busa stabil yang tidak hilang setelah ditambahkan asam berarti positif adanya saponin (Darwis, 2000). Uji triterpenoid atau steroid, ekstrak ditambahkan pereaksi Liebermann-Burchanrd dan uji positif akan ditunjukkan dengan adanya warna merah ungu untuk triterpenoid dan hijau sampai biru untuk steroid (Mujeeb *et al.*, 2014). Uji tannin, isolat ditambahkan larutan FeCl₃ 1% dan HCl 2 M, dimana dengan larutan FeCl₃ 1% akan terjadi perubahan warna menjadi hijau kehitaman, sedangkan dengan HCl 2 M akan ditunjukkan dengan perubahan warna menjadi merah (Mujeeb *et al.*, 2014).

Identifikasi senyawa aktif dari ekstrak etanol daun sembung delan yang memiliki aktivitas antijamur diidentifikasi menggunakan alat GCMS. Adanya kesesuaian antara bobot molekul dan pola fragmentasi dari senyawa hasil isolasi dengan senyawa pada library pada sistem GCMS, sehingga struktur molekul senyawa yang disolasi dapat diidentifikasi (Parwanayoni dan Sudirga, 2020).

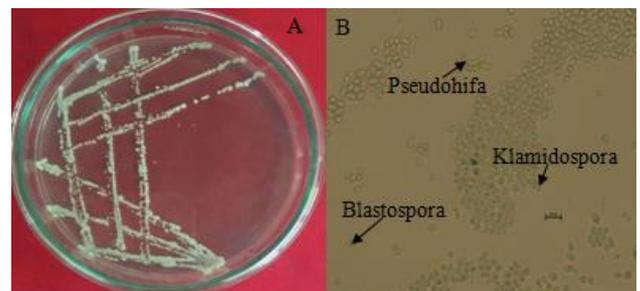
HASIL

Identifikasi Morfologi Jamur *Candida albicans*

Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *C. albicans* ATCC 1023 yang diperoleh dari BPOM Denpasar. Reidentifikasi morfologi koloni pada penelitian ini bertujuan untuk meyakinkan bahwa isolat uji yang digunakan merupakan *C. albicans* ATCC 1023.

Tabel 1. Reidentifikasi morfologi jamur *C. albicans* ATCC 1023

Morfologi Koloni	<i>Candida albicans</i> ATCC 1023
Bentuk	Bulat, lonjong dan tunas
Tepian	Rata
Warna	Putih kekuningan
Tekstur permukaan	Halus dan licin atau berlipat-lipat
Elevasi	Cembung



Gambar 1. Makroskopis (a) dan mikroskopis (b) *C. albicans* ATCC 1023 dengan perbesaran 400x .

Hasil pengamatan secara makroskopis *C. albicans* ATCC 1023 didapat koloni berwarna putih kekuningan, permukaan koloni halus dan licin atau berlipat-lipat. Sedangkan pada pengamatan mikroskopis dengan pembesaran 400x sel tampak berbentuk bulat atau lonjong dan tunas ada yang tetap menempel pada sel induk sehingga kelihatan seperti pseudomiselia, selengkapnya disajikan pada Tabel 1 dan Gambar 1.

Daya Hambat Ekstrak Etanol Kasar Daun Sembung Delan (*S. indicus* L.) Terhadap *C. albicans* ATCC 1023

Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak daun sembung delan (*S. indicus* L.) dengan variasi konsentrasi 1% (b/v), 2%(b/v), 3%(b/v), 4%(b/v) dan 5% (b/v) terhadap *C. albicans* ATCC 1023 menunjukkan ekstrak etanol daun sembung delan mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan jamur yang diujikan. Hal ini dibuktikan dengan terbentuknya daerah hambatan di sekitar kertas cakram (Gambar 2). Daerah hambatan yang paling besar diperoleh pada konsentrasi 5% yaitu sebesar 13,00 mm.

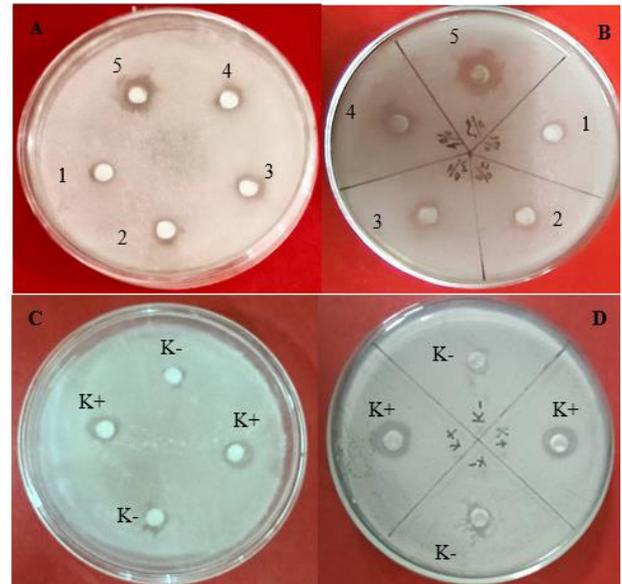
Ada kecenderungan semakin kecil konsentrasi ekstrak daun sembung delan yang didedahkan pada kertas cakram semakin kecil pula daerah hambatan yang terbentuk. Berdasarkan hasil analisis statistik dengan uji *Duncan Multiple Range Test* menunjukkan, pemberian ekstrak konsentrasi 5% (b/v) sangat berbeda nyata ($P \leq 0,05$) dengan konsentrasi yang lain. selengkapnya dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Rerata diameter zonaambat uji ekstrak kasar daun sembung delan terhadap *C. albicans* ATCC 1023 masa inkubasi 2 hari suhu 37°C pada media PDA

No.	Perlakuan Ekstrak	Rerata diameter zonaambat ekstrak daun sembung delan terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 1023 (mm)
1.	Kontrol negatif	$0,0000 \pm 0,00000^a$
2.	1%	$8,5000 \pm 0,00000^b$
3.	2%	$9,3750 \pm 0,25000^c$
4.	3%	$10,7500 \pm 0,95743^d$
5.	4%	$11,2500 \pm 0,28868^{de}$
6.	5%	$13,0000 \pm 0,40825^f$
7.	Kontrol positif	$11,8750 \pm 0,75000^e$

Keterangan:

Angka rata-rata dengan tanda \pm standar deviasi yang diikuti oleh huruf yang sama pada kolom yang sama menunjukkan nilai tidak berbeda secara signifikan ($P \leq 0,05$) berdasarkan uji DMRT pada taraf signifikansi 5%.



Gambar 2. Uji daya hambat ekstrak daun sembung delan terhadap *Candida albicans* ATCC 1023 selama 2 hari inkubasi suhu 37°C, (A) tampak depan 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% (b/v); (B) tampak belakang 1%, 2%, 3%, 4% dan 5% (b/v); (C) tampak depan Kontrol (+)= *Nystatin*; (-) = etanol; (D) tampak belakang Kontrol (+)= *Nystatin*; (-) = etanol

Daya Hambat Ekstrak Kasar Etanol Daun Sembung Delan terhadap *C. albicans* ATCC 1023 pada Konsentrasi Minimum

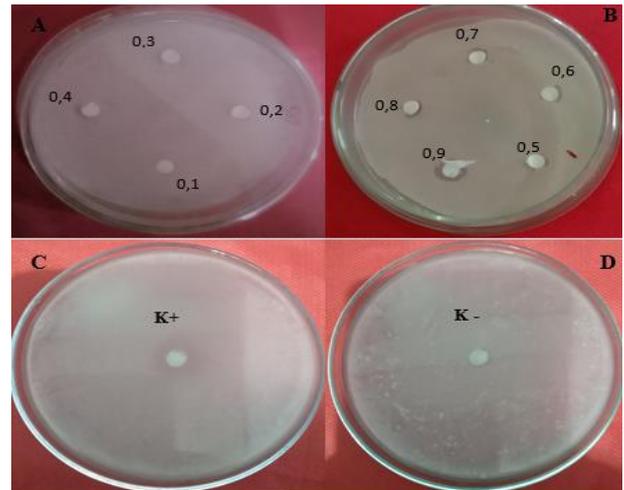
Uji *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) ekstrak daun sembung delan terhadap *C. albicans* ATCC 1023 diperoleh hasil yaitu, pada konsentrasi 0,1% (b/v) dan 0,2% (b/v) ekstrak kasar daun sembung delan belum menunjukkan kemampuannya menghambat jamur yang diujikan. Tetapi pada konsentrasi 0,3% (b/v) ekstrak kasar daun sembung delan sudah menunjukkan daya antifunginya dengan dibuktikan adanya daerah hambatan di sekitar kertas cakram sebesar 5,92 mm (Tabel 3 dan Gambar 3). Konsentrasi optimum ekstrak daun sembung delan terhadap *C. albicans* ATCC 1023 diperoleh pada konsentrasi 4% (b/v) yaitu dengan diameter zona hambat sebesar 11,25 mm, diameter daya hambatnya terus mengalami peningkatan sesuai dengan peningkatan konsentrasi yang diberikan. Secara statistik, pemberian konsentrasi 4% (b/v) tidak berbeda signifikan ($P \geq 0,05$) terhadap kontrol positif (Tabel 3).

Tabel 3 Rerata diameter zona hambat uji MIC ekstrak kasar daun sembung delan terhadap *C. albicans* ATCC 1023 masa inkubasi 2 hari suhu 37°C pada media PDA

No.	Perlakuan Ekstrak	Rerata diameter zona hambat MIC ekstrak daun sembung delan terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 1023 (mm)
1.	Kontrol negative	0,0000 ± 0,00000 ^a
2.	0,1%	0,0000 ± 0,00000 ^a
3.	0,2%	0,0000 ± 0,00000 ^a
4.	0,3%	5,9250 ± 0,09574 ^b
5.	0,4%	6,3250 ± 0,05000 ^c
6.	0,5%	6,5250 ± 0,05000 ^d
7.	0,6%	6,7000 ± 0,00000 ^e
8.	0,7%	7,0000 ± 0,00000 ^f
9.	0,8%	7,2750 ± 0,05000 ^g
10.	0,9%	7,5250 ± 0,05000 ^h
11.	Kontrol positif	7,0000 ± 0,00000 ^f

Keterangan:

Angka rata-rata dengan tanda ± standar deviasi yang diikuti oleh huruf yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan nilai berbeda secara signifikan ($P \leq 0,05$) berdasarkan uji DMRT pada taraf signifikansi 5%.



Gambar 3 Uji MIC ekstrak sembung delan terhadap *Candida albicans* ATCC 1023 selama 2 hari inkubasi suhu 37°C, (A) 0,1%, 0,2%, 0,3% dan 0,4%; (B) 0,5%, 0,6%, 0,7%, 0,8% dan 0,9%; (C) K+ = *Nystatin*; dan (D) K- = etanol

Golongan Senyawa yang Terkandung dalam Ekstrak Daun Sembung Delan

Uji fitokimia ekstrak daun sembung delan

Hasil uji fitokimia ekstrak daun sembung delan meliputi uji saponin, fenol, tanin, terpenoid, steroid dan alkaloid disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Uji fitokimia ekstrak daun sembung delan

Golongan senyawa	Hasil reaksi	Keterangan
Saponin (Uji Busa)	+	Ada busa yang stabil
Fenol (FeCl ₃)	+	Ada warna biru kehitaman
Steroid	+	Ada warna hijau kebiruan
Terpenoid	+	Ada cincin coklat
Glikosida	-	Tidak terbentuk warna hijau kebiruan
Alkaloid (Pereaksi Mayer)	+	Ada endapan putih
Alkaloid (Pereaksi Bouchardat)	-	Tidak terbentuk endapan coklat kehitaman
Alkaloid (Pereaksi Dragendrof)	-	Tidak terbentuk endapan jingga
Alkaloid (Pereaksi Wagner)	+	Ada endapan
Tanin (Pb asetat 10%)	-	Tidak teramati fluoresensi kuning (UV 366 nm)
	+	Ada endapan putih

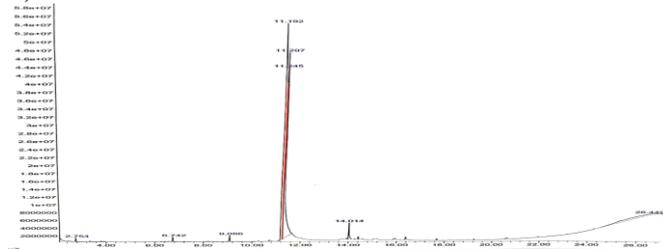
Hasil uji fitokimia menunjukkan positif adanya golongan senyawa saponin, fenol, steroid, terpenoid, alkaloid, dan tanin pada

ekstrak daun sembung delan. Tetapi menunjukkan hasil negatif terhadap glikosida. Pada pereaksi Wagner, Mayer dan Bouchardat menunjukkan hasil negatif alkaloid namun

dengan pereaksi Mayer dan Dragendrof memperoleh hasil positif mengandung alkaloid.

Gas chromatograph mass spectrometer (GC-MS).

Hasil identifikasi ekstrak daun sembung delan dengan GC-MS membentuk 7 puncak tertinggi dan teridentifikasi 7 senyawa (Gambar 4).



Gambar 4 Kromatogram hasil analisis GC-MS pada fraksi VI

Adapun 7 senyawa yang teridentifikasi yaitu 2,2- Dimethoxybutane; Benzyl chloride; 6-octenal, 3,7-dymethyl-; Thymol; Benzene, 2-methoxy-1,3,5-trimethyl-; Thymol dan 1-Tetradecanamine, N,N-diamethyl (Tabel 4). Senyawa tersebut terprogram dalam data base GC-MS dengan library NIST 14.

Tabel 5 Senyawa-senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak daun sembung delan

Puncak (Peak)	Waktu Retensi (menit)	Berat Molekul (g/mol)	% Area	Rumus Molekul
Puncak 1	2.754	118,17	0,35	C ₆ H ₁₄ O ₂
Puncak 2	6.742	126,58	0,51	C ₇ H ₇ Cl
Puncak 3	9.086	154,25	0,66	C ₁₀ H ₁₈ O
Puncak 4	11.192	150,22	38,61	C ₁₀ H ₁₄ O
Puncak 5	11.245	150,21	12,66	C ₁₀ H ₁₄ O
Puncak 6	11.297	150,22	38,87	C ₁₀ H ₁₄ O
Puncak 7	14.014	241,45	2,06	C ₁₄ H ₃₁ N

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil reidentifikasi morfologi jamur pada Tabel 1. menunjukkan *C. albicans* ATCC 1023. Hal ini sesuai dengan penjelasan dari Dumilah (1992) bahwa secara mikroskopis *Candida albicans* memiliki bentuk bulat atau lonjong dan ada tunas yang tetap melekat pada sel induk sehingga kelihatan

seperti pseudomiselia. Menurut Vidotto *et al.*, (2003) pada suhu 37⁰C, jamur ini dapat berbentuk sel tunggal, yang dapat diartikan bahwa struktur morfologi selnya terdiri dari sel-sel individual yang dapat berdiri sendiri.

Hasil analisis statistik dengan uji anova seperti yang disajikan pada Tabel 2. menunjukkan ekstrak kasar etanol daun sembung delan secara signifikan (P<0,05) mampu menghambat *C. albicans* ATCC 1023. Hal ini dibuktikan dengan adanya daerah hambatan (*clear zona*) di sekitar kertas cakram, disajikan pada gambar 2. Zona hambatan yang paling besar diperoleh pada konsentrasi 5% (b/v) yaitu sebesar 13,0000 ± 0,40825 mm. Besarnya daerah hambatan ini mengalami penurunan selaras dengan penurunan konsentrasi yang diujikan. Jika dilihat dari hasil beda rata-rata antar konsentrasi yang diberikan, tampak pada konsentrasi 5% (b/v) sangat berbeda nyata (P<0,05) dengan perlakuan yang lain sedangkan pada konsentrasi 3% (b/v) dengan daerah hambatan sebesar 10,7500 ± 0,95743 mm tidak berbeda nyata (P>0,05) dengan konsentrasi 4% (b/v) dengan daerah hambatan sebesar 11,2500±0,28868 juga terlihat daerah hambatan yang paling kecil terjadi pada konsentrasi 1% (b/v) yaitu sebesar 8,5000±0,00000 mm. Sedangkan pada kontrol

negatif (etanol) yang hanya didedahkan berdasarkan data base NIST yang pelarutnya saja, tidak membentuk daerah hambatan (0,0000 ± 0,00000 mm). Hal ini menunjukkan pada kontrol negatif (pelarut) tidak mengandung bahan aktif yang mampu menghambat jamur uji, dengan kata lain konsentrasi ekstrak kasar daun sembung delan merupakan penyebab terbentuknya daerah hambatan di sekitar kertas cakram. Adanya perbedaan diameter zona hambatan dimasing-masing konsentrasi ekstrak kasar daun sembung delan yang diujikan, membuktikan konsentrasi bahan aktif berpengaruh terhadap hal tersebut. Dalam penelitian Sidiq, *et al.* (2016) melaporkan bahwa, peningkatan zona hambat yang terbentuk berbanding lurus dengan penambahan konsentrasi. Hal ini disebabkan oleh adanya peningkatan kandungan antijamur pada ekstrak sehingga berakibat terhadap kemampuannya bertambah dalam menghambat

pertumbuhan jamur yang diujikan. Pernyataan Sidiq, *et al.* (2016), ada kesesuaian dengan hasil penelitian ini bahwa, semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun sembung delan yang diujikan, semakin besar pula diameter zona hambat yang terbentuk.

Terhambatnya pertumbuhan jamur uji oleh ekstrak disebabkan oleh adanya kandungan bahan aktif dalam ekstrak yang bersifat fungisida. Hal ini dapat menyebabkan kegagalan fungsi permeabilitas membran sel jamur sampai level toksik (Astuti, 2012). Selanjutnya Semangun, (2006) menyampaikan dengan terganggunya permeabilitas membran sel jamur dapat mengakibatkan terhambatnya jamur dalam proses memproduksi dan mensekresikan enzim ekstraseluler.

Hasil uji kontrol negatif yaitu etanol (96%) tidak berkontribusi terhadap penghambatan jamur *C. albicans* ATCC 1023. Ada dugaan saat etanol didedahkan pada kertas cakram sudah menguap sehingga tidak berefek terhadap terjadinya zone hambatan. Hal ini sesuai dengan pendapat Sebayang, (2006) bahwa etanol merupakan pelarut polar yang mudah menguap dan tidak berwarna. Penggunaan kontrol negatif yang hanya menggunakan pelarut etanol, bertujuan untuk meyakinkan bahwa pelarut tersebut tidak berefek terhadap terbentuknya zone bening di sekitar kertas cakram. Dengan kata lain terbentuknya zone bening benar-benar diakibatkan oleh bahan aktif yang ada pada ekstrak daun sembung delan.

Konsentrasi 4% (b/v) ($11,25 \pm 0,28$ mm) tidak berbeda signifikan ($P \geq 0,05$) dengan kontrol positif ($11,87 \pm 0,75$ mm), hal tersebut menunjukkan bahwa daya hambat konsentrasi optimum pada konsentrasi 4% (b/v) yang mengindikasikan bahwa konsentrasi yang diujikan memberikan efek antijamur yang sama walaupun secara angka berbeda. Adanya kesamaan pembentukan daya hambat antara nystatin dengan perlakuan ekstrak kasar daun sembung delan pada konsentrasi 4%, membuktikan ada peluang pada konsentrasi tersebut dapat digunakan sebagai acuan untuk memanfaatkan ekstrak daun sembung delan sebagai antijamur. Nystatin yang digunakan

sebagai kontrol positif memiliki kemampuan menghambat jamur uji dimana menurut Siswandono (1995) menyatakan nystatin tersebut dapat menyebabkan kerusakan membran sitoplasma dan mempengaruhi sintesis ergosterol yang merupakan bagian dari membran sel jamur. Kemudian Brescansin *et al.* (2013) menambahkan bahwa, aktifitas antijamur pada nystatin akan mengadakan ikatan yang kompleks dengan ergosterol dan dapat berakibat terganggunya fungsi membran.

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) adalah konsentrasi minimum antijamur yang masih mampu menghambat pertumbuhan jamur. Ekstrak sembung delan mulai menunjukkan daya hambatnya pada konsentrasi minimum 0,3% (b/v) dengan diameter zona hambat sebesar 5,92 mm. Secara statistik berbeda nyata ($P \leq 0,05$) dengan konsentrasi 0,1% (b/v), dan 0,2% (b/v) yang diameternya 0,000 mm. Konsentrasi ekstrak 0,1% (b/v) dan 0,2% (b/v) tidak menunjukkan adanya zona hambat yang membuktikan pada konsentrasi tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan jamur yang diujikan. Konsentrasi ekstrak terendah yang mengindikasikan adanya penghambatan pertumbuhan jamur *C. albicans* dinyatakan sebagai nilai MIC (Himratul-Aznita *et al.*, 2011). Terjadinya penurunan daya hambat disebabkan oleh kandungan zat aktif yang terdedahkan dalam kertas cakram berkurang sehingga mempengaruhi kemampuan aktivitas antijamurnya. Penentuan MIC bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi minimum ekstrak yang dapat menghambat *C. albicans*. Antijamur dikatakan memiliki aktivitas yang tinggi jika MIC diperoleh pada kadar sampel yang rendah akan tetapi mempunyai daya hambat yang besar.

Zona hambatan yang terbesar didapat pada konsentrasi 0,9% (b/v) yaitu 7,52 mm yang secara statistik berbeda nyata ($P \leq 0,05$) dengan perlakuan konsentrasi 0,8% (b/v), 0,7% (b/v), 0,6% (b/v), 0,5% (b/v), 0,4% (b/v) dan 0,3% (b/v). Pada Tabel 3 terlihat bahwa aktivitas antijamur ekstrak daun sembung delan menurun berbanding lurus dengan menurunnya konsentrasi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Pelczar dan Chan (2002), menyatakan semakin

tinggi konsentrasi suatu bahan antimikroba maka aktivitas antimikrobanya semakin besar pula. Peningkatan aktivitas mikrobanya dapat dilihat dengan semakin besarnya diameter zone hambatan yang terbentuk.

Skrining fitokimia dihasilkan oleh tumbuhan melalui proses metabolisme sekunder. Menurut Fitriani *et al.* (2012) bahwa masing-masing senyawa metabolit sekunder memiliki cara kerja yang berbeda-beda. Ekstrak daun sembung delan mengandung saponin, fenol, steroid, terpenoid, alkaloid, dan tanin. Kandungan fitokimia pada suatu tumbuhan tentunya dipengaruhi oleh faktor genetik dan tingkat stress ataupun letak demografi tumbuhan itu berada. Laily (2012) menyatakan bahwa ketinggian tempat merupakan salah satu faktor yang berpengaruh terhadap pertumbuhan dan pembentukan senyawa metabolit sekunder tumbuhan. Hasil uji positif saponin ditunjukkan dengan terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil dengan penambahan HCL selama \pm 10 menit. Daun sembung delan mengandung saponin sebagai hemolitik yang memiliki rasa yang pahit dan bersifat antimikroba. Rohimah dan Kurniasih (2015) menyatakan mekanisme kerja saponin yaitu dapat merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki lagi.

Uji fenol menggunakan FeCl_3 diperoleh hasil positif yaitu terbentuknya larutan berwarna biru kehitaman. Senyawa fenol dalam konsentrasi tinggi akan berpengaruh terhadap terjadinya koagulasi protein seperti enzim sedangkan dalam konsentrasi rendah mengakibatkan fungsi membran sitoplasma sel terganggu (Pelczar dan Chan (2002). Selanjutnya Sulistyawati *et al.*, (2009) mengatakan fenol dapat mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga terjadi kerusakan membran. Selain lisis akibat membrane mengalami kebocoran ada kemungkinan fenol masuk menembus dalam inti sel. Masuknya fenol ke dalam inti sel inilah yang menyebabkan jamur gagal mengalami pertumbuhan.

Hasil pengujian steroid diperoleh hasil positif. Hal ini dibuktikan adanya warna biru kehijauan setelah penambahan asam asetat dan asam sulfat pekat. Menurut Robinson, (1995)

Steroid dapat berperan sebagai antijamur. Senyawa steroid sebagai antijamur sangat dipengaruhi oleh keaktifan biologis senyawa tersebut, dalam hal ini terdapatnya gugus karbon. Gugus karbon ini yang masuk ke dalam sel jamur selanjutnya dapat bereaksi dengan senyawa-senyawa asam yang menyusun dinding sel jamur.

Uji terpenoid menggunakan asam sulfat pekat menunjukkan positif terpenoid dengan terbentuknya cincin cokelat atau violet pada perbatasan larutan. Demikian juga pada pengujian alkaloid didapat hasil yang positif. Alkaloid berasal dari derivat metabolisme primer asam amino seperti triptofan, tirosin, dan lisin (Jain *et al.*, 2019). Alkaloid dapat ditemukan dalam berbagai bagian tumbuhan antara lain biji, daun, ranting dan kulit kayu. Alkaloid secara efektif menghalangi herbivora dan beracun terhadap jamur dan bakteri (Irchhaiya *et al.*, 2015). Alkaloid mengganggu sintesis dinding sel mikroba sehingga menyebabkan lisis pada mikroba.

Uji Tanin menggunakan pereaksi pb asetat 10% menunjukkan terbentuknya endapan putih pada dasar tabung reaksi, merupakan senyawa aktif metabolit sekunder yang diketahui mempunyai beberapa khasiat yaitu sebagai antijamur. Tanin bersifat plasmolitik yang dapat merusak dinding atau membran sel sehingga mengganggu transportasi material baik dari dalam maupun dari luar sel. Akibat terganggunya permeabilitas sel, sehingga pertumbuhan jamur akan terhambat. Apabila terpapar dalam waktu yang lama, jamur dapat mengalami kematian (Ajizah 2004). Selanjutnya Robinson (1995) melaporkan bahwa Tanin yang terkandung dalam ekstrak juga memiliki kemampuan untuk menghambat enzim yang berperan dalam metabolisme sel jamur.

Setiap puncak memiliki waktu retensi yang berbeda (Gambar 4). Waktu retensi mengindikasikan jumlah waktu yang diperlukan molekul-molekul dari setiap senyawa untuk mengalami elusi. Menurut Husein *et al.* (2016), waktu retensi adalah waktu dari saat injeksi sampel (waktu awal) hingga ketika terjadi elusi pada senyawa. Semakin cepat waktu retensi,

semakin cepat senyawa pada puncak tersebut menguap. Waktu retensi berhubungan dengan berat molekul dari senyawa. Semakin berat molekul senyawa tersebut, semakin sulit untuk mengalami elusi, sehingga memiliki waktu retensi yang lama. Adanya waktu retensi memungkinkan spektrometer massa untuk menangkap, mengionisasi, dan mendeteksi molekul yang terionisasi secara terpisah. Hamed, *et al.* (2016) menyatakan, senyawa mengalami elusi dari kolom memasuki detektor yang mampu membuat signal elektronik terhadap senyawa yang terdeteksi.

Puncak 4, 5, dan 6 merupakan tiga puncak tertinggi pada kromatogram. Semakin besar konsentrasi senyawa dalam sampel, semakin besar pula signal yang dihasilkan untuk diproses oleh komputer. Semakin tinggi puncak mengindikasikan besarnya signal yang diterima. Menurut Hameed *et al.* (2016), setiap puncak dalam kromatogram mewakili sinyal yang dihasilkan ketika suatu senyawa dielusi dari kolom kromatografi gas ke dalam detektor. Identitas senyawa diketahui melalui perbandingan indeks retensi dan pola fragmentasi spektrum massa dengan *library NIST 14*.

Tujuh puncak yang teridentifikasi menunjukkan adanya 7 senyawa (Gambar4). Puncak 4 dan 6 teridentifikasi sebagai senyawa yang sama yaitu *Thymol*. Menghasilkan puncak yang berbeda diindikasikan karena kedua senyawa tersebut belum menguap seluruhnya kemudian membentuk puncak baru di waktu yang berdekatan. Selain 7 puncak yang teridentifikasi, terdapat pula beberapa senyawa yang kelimpahannya sangat kecil. Senyawa tersebut diindikasikan sebagai senyawa sisa atau pelarut yang belum terbilas saat membersihkan kolom.

Senyawa-senyawa yang teridentifikasi dalam ekstrak selengkapnya disajikan pada Tabel5. Senyawa-senyawa tersebut berbeda dengan senyawa yang diperoleh dari penelitian Darmayasa *et al.* (2020). Meskipun menggunakan ekstrak yang sama, namun kondisi lingkungan dan letak geografis tumbuhan sangat menentukan komposisi dan senyawa metabolit sekunder yang terkandung.

Sales *et al.* (2016) menyatakan kandungan metabolit sekunder ekstrak tumbuhan dalam satu spesies dapat berbeda karena berkaitan dengan potensi inhibisi mikroorganisme, kelarutan ekstrak, pH, volatilitas, karakteristik difusi dalam media pertumbuhan, dan spesies mikroorganisme yang diuji.

Senyawa yang paling melimpah yakni lebih dari 38,87 % ini ditunjukkan oleh puncak 6 (Gambar4). Puncak ini teridentifikasi sebagai senyawa *Thymol* dengan *data base NIST 14*. Senyawa ini berasal dari golongan senyawa *circineol* (fenol), Senyawa ini memiliki waktu retensi yang paling lama diantara enam senyawa lainnya. Hal ini menunjukkan senyawa ini memiliki berat molekul yang tertinggi diantara senyawa lainnya. Senyawa ini dapat berpotensi sebagai antifungi terutama menghambat jamur *Candida albicans* ATCC1023. Menurut Shahzad *et al.*, (2014) bahwa senyawa fenol dapat menyebabkan kerusakan membran sel sehingga fungsinya terganggu yang pada akhirnya jamur mengalami kegagalan pertumbuhan bahkan mengalami kematian.

KESIMPULAN

Ekstrak daun sembung delan (*Sphaeranthus indicus* L.) dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 1023 pada konsentrasi 1% (b/v), 2% (b/v), 3% (b/v), 4% (b/v) dan 5% (b/v) dengan diameter zona hambat 8,50 mm; 9,37 mm; 10,75 mm; 11,25 mm dan 13,00 mm serta mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 1023 pada konsentrasi minimum 0,3% (b/v) dengan diameter zona hambat 5,92 mm dan konsentrasi optimum 4% (b/v) dengan diameter zona hambat 11,25 mm. Hasil uji fitokimia pada ekstrak daun sembung delan menunjukkan positif adanya golongan senyawa saponin, fenol, steroid, terpenoid, alkaloid, tanin dan fraksi aktif ekstrak daun sembung delan mengandung 7 senyawa yaitu 1. 2,2-Dimethoxybutane; 2. Benzyl chloride; 3. 6-octenal, 3,7-dymethyl; 4. Thymol; 5. Benzene, 2-methoxy-1,2,3-trimethyl- 6. Thymol dan 7. 1-Tetradecanamine, N,N-diamethyl-. Senyawa thymol merupakan senyawa yang berpotensi

sebagai antifungi terutama menghambat jamur *Candida albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Agust, K., Supriadin, A., dan Kusmiyati, M. 2014. Uji Toksisitas Ekstrak dari Kulit Batang *Aglaia glabrata* dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. *Jurnal Universitas Islam Negeri Sunan Gunung Djati*, 8(2): 98-107.
- Astiti. 2012. Antifungal Activity of Teak (*Teactona grandis* L.f) Leaf Ekstrak Against *Athrinium phaeospermum* (Corda) M. B. Ellis, the Cause of Wooddecay on *Albizia falcataria* (L.) Fosberg. *Journal of ISSAAS*. 18(1): 62-69.
- Ajizah, A. 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava* L., *Bioscientiae* 1(1):31-38.
- Brescansin, E.G.,Portilho, M., and Pessine, F.B.T., 2013. Physical and Chemical Analysis of Commercial Nystatin. *Acta Scientiarum. Health Sciences*, Vol. 35 No. 2, p.215-221.
- Carranza, F.A., Newman, M.G., Takei, H.H., Klokkevold, P.R., 2012. Carranza's Clinical Periodontology. 11th ed, *Saunders Elsevier, China*.
- Darmayasa, I.B.G. 2002. Aktivitas Bakterisida Ekstrak Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus* (L.)) terhadap *Pseudomonas solanacearum* Penyebab Penyakit Layu pada Tanaman Tomat. *Tesis*. Pascasarjana Universitas Udayana Denpasar. Program Studi Bioteknologi Pertanian.
- Darmayasa, I.B.G., R. Kawuri, and I. W. Suanda. 2020. Elucidation and Inhibition of Sembung Delan (*Sphaeranthus indicus* L.) Leaf Extract Against Balinese Lontar Destructive Fungi. *Journal of Biological and Chemical Research*, 37(1): 30-35.
- Darwis, D. 2000. Teknik Dasar Laboratorium dalam Penelitian Senyawa Bahan Alam Hayati. Makalah Workshop Pengembangan Sumber Daya Manusia dalam Bidang Kimia Organik Bahan Alam Hayati. Padang: *Skripsi*. Universitas Andalas. Fakultas MIPA.
- Dumilah, S.S. 1992. *Candida albicans dan Kandidiasis Pada Manusia*. Jakarta : FKUI.
- Fitriani, A., Y. Hamdiyati. dan R. Engriyani. 2012. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzygium polyanthum* (Wight) Walp.) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* secara in vitro. *Journal Biosfer*, 29(2): 71-79.
- Hameed, I. H., H.J Altameme, and G.J. Mohammed. 2016. Evaluation of Antifungal and Antibacterial Activity and Analysis of Bioactive Phytochemical Compounds of *Cinnamomum zeylanicum* (Cinnamon bark) Using *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*. *Oriental Journal of Chemistry*, 32(4): 1769-1788.
- Handayani, Olivia, Endah, P. Adiasuti Djamhari dan Mintarsih. 2010. Daya Hambat Madu Indonesia Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Skripsi*. Universitas Airlangga Surabaya. Fakultas Kedokteran Gigi.
- Harjawinata, M.B., S. Hardhienata dan A. Qur'ania. 2015. Aplikasi Pencocokan Jenis Tanaman Obat Berdasarkan Penyakit Berbasis WEB. *Skripsi*. Bogor: UNPAK.
- Henrickson, C. 2005. Chemistry. Cliffs Notes. [http://en.wikipedia.org/wiki/\[6Desember2008\]](http://en.wikipedia.org/wiki/[6Desember2008]).
- Himratul-Aznita, W.H., N. Mohd-AI-Faisal., dan Fathilah, A.R. 2011. Determination of The Percentage Inhibition of Diameter Growth (PIDG) of Piper betle Crude Aqueous Extract Against Oral

- Candida Species. *Journal of Medicinal Plants Research [Online]*, Vol. 5 (6), 878-884. Tersedia : <http://www.academicjournals.org/JMPR>.
- Hussein, H. M., I. H. Hameed and O.A. Ibraheem. 2016. Antimicrobial Activity and Spectral Chemical Analysis of Methanolic Leaves Extract of *Adiantum Capillus-Veneris* Using GC-MS and FT-IR Spectroscopy. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 8(3): 369-385.
- Irchhaiya, R., A. Kumar, A.Yadav, N Gupta, S. Kumar, N. Gupta, S Kumar, V. Yadav, A. Prakash, and H. Gurjar. 2015. Metabolites in Plants and Its Classification. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(1): 287-305.
- Jain, C., S. Khatana, and R. Vijayvergia. 2019. Bioactivity of Secondary Metabolites of Various Plants: a Review. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(2): 494-504.
- Kurniawan, J.A. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Rimpang Binahong (*Anredera cordifolia*(Tenore) Steen) Terhadap Jamur *Candida albicans* serta Skrining Fitokimianya. *Skripsi*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Fakultas Farmasi.
- Laily A.N, Suranto, Sugiyarto. 2012. Characteristics of *Carica pubescens* of Dieng Plateau, Central Java according to its morphology, antioxidant, and protein pattern. *Nusantara Bioscience* 4 No.1, halaman 16-21.
- Masyhud, 2010. *Lokakarya Nasional Tumbuhan Obat Indonesia*. Jakarta: Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Tanaman.
- Mujeeb, F., P. Bajpai, and N. Pathak. 2014. Phytochemical Evaluation, Antimicrobial Activity, and Determination of Bioactive Components from Leaves of *Aegle marmelos*. *BioMed Research International*, 2014: 1-11.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. ITB. Bandung.
- Parwanayoni, N.M.S., D.N. Suprpta, I. G. R. Maya Temaja, I. M. Dira Swantara and K. Khalimi. 2018. Synergistic Activity of Leaves Extracts of *Mansoa alliacea* L. and *Allamanda cathartica* L. to Inhibit *Athelia rolfsii*, the Cause of Stem Rot Disease in Peanut Plants. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* 8: 29-35.
- Parwanayoni, N.M.S dan S.K. Sudirga. 2020. Isolation And Identification Of Antifungal Compounds Of Jeringau Leaf (*Acorus calamus* Linn.) As A Control *Athelia rolfsii* Sacc. Fungus That Causes Stem Rot Disease Of Soybean Plants. *Journal of Biological Sciences* 7(2): 10-16
- Pelczar, M.J. dan E.C.S. Chan. 2002. *Dasardasar mikrobiologi*. Jakarta. UI Press.
- Prasetya, 2011. *Oral Thrust*. Yogyakarta: Stikes Bethesda Yakkum Yogyakarta.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi Ke enam*. Penerjemah: C. Herison. Penerbit ITB. Bandung.
- Rohimah, S. dan E.L.I.Kurniasih. 2015. Daya Hambat Infusum Daun Sembung (*Blumea Balsamifera*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Escherichia Coli* Dengan Metode Difusi Cakram, *Jurnal Kesehatan Bakti Tunas Husada*, 13, pp.213–227.
- Sales, M. D. C., H.B. Costa, P.M.B. Fernandes, J.A.Ventura and D.D. Meira. 2016. Antifungal Activity of Plant Extracts with Potential to Control Plant Pathogens in Pineapple. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1): 26-31.
- Sebayang, F. 2006. Imobilisasi Enzim Papain dari Getah Pepaya dengan Alginat.

Jurnal Komunikasi Penelitian, Vol 18,
No.2, hal: 34-38.

- Semangun, H. 2006. *Pengantar Ilmu Penyakit Tumbuhan*. Yogyakarta. Gadjah Mada University Press.
- Shahzad, M., L. Sherry, R. Rajendran, C.A. Edwards, E. Combet, and G. Ramage. 2014. Utilising polyphenols for the clinical management of *Candida albicans* biofilms. *International journal of antimicrobial agents*, 44(3), 269-273.
- Siddiq, M.B., L.Y. Budiarti, and E. Edyson. 2016. Perbandingan Efektivitas Antifungi antara Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi dengan Ketokonazol 2% terhadap *Candida albicans* In Vitro. *Jurnal. Berkala Kedokteran*, 12(2), 271-278.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. *Kimia Medisinal*. Airlangga Press.
- Suada, I. K. 2013. Keragaman Aktivitas Antifungi Biota Laut Terhadap *Fusarium oxysporum* f.sp. *vanillae*. Penyebab Busuk Batang Vanila. *Journal Bumi Lestari*, 12(1): 66-70.
- Sulistiyawati, Dewi dan S. Mulyati. 2009. Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Biomedika*. Vol 2 No. 1 Maret 2009- ISSN 1979-35X Surakarta: Fakultas Biologi Universitas Surakarta.
- Vidotto, V., M. Barbara, O. Agostino, P. Jose, Q. Guillermo, A. Shigeji, Ito-K Shoko. 2003. Adherence Of *Candida albicans* and *Candida Dubliniensis* to Buccal and Vaginal Cells., 20 *Rev Iberoam Mico*: 52-54.