# BAB III

# METODE PENELITIAN

## 3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian dilakukan dengan metode penelitian eksperimental, dimana variabel bebas pada penelitian ini yaitu simplisia daun pepaya (*Carica papaya* L.), ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), nanopartikel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), dan uji aktivitas antijamur difusi dan dilusi. Variabel terikat pada penelitian ini yaitu pemeriksaan karakterisasi simplisia, skrining fitokimia, karakteristik nanopartikel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dan analisis data. Rancangan meliputi pengumpulan dan pengolahan sampel, skrining fitokimia, pemeriksaan karakterisasi simplisia pembuatan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), pembuatan nanopartikel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya*L.) dan uji aktivitas antijamur,

### 3.1.1 Variabel Penelitian

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah pembuatan simplisia dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), pembuatan nanopartikel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.), dan aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, sedangkan variabel terikat dalam penelitian ini adalah uji karakteristik, skrining fitokimia, karakteristik nanopartikel daun pepaya (*Carica papaya* L.), dan uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans.*

47

### 3.1.2 Parameter Penelitian

Parameter pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Parameter karakteristik dari serbuk simplisia daun pepaya meliputi kadar air, kadar sari larut dalam air, kadar sari larut dalam etanol, kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam.
2. Parameter skrining fitokimia metabolit sekunder dari serbuk dan ekstrak etanol daun pepaya meliputi adanya senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, steroid/ triterpenoid, dan glikosida.
3. Parameter karakteristik nanopartikel ekstrak etanol daun pepaya dengan menggunakan uji Particle Size Analyzer (PSA) adalah ukuran partikel dalam satuan nanometer (nm).
4. Parameter aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun pepaya dan nanopartikel ekstrak etanol daun pepaya dengan menggunakan metode difusi adalah diameter zona hambat untuk mengetahui aktivitas antijamur dan metode dilusi terhadap *Candida albicans.*

## 3.2 Jadwal dan Lokasi Penelitian

### 3.2.1 Jadwal Penelitian

Penelitian dilaksanakan pada bulan Maret 2024

### 3.2.2 Lokasi Penelitian

Pembuatan simplisia, ekstrak, dan karakterisasi simplisia dilakukan di Laboratorium Botani Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah. Uji skrining fitokimia dan pembuatan nanopartikel dilakukan di Laboratorium Penelitian Universitas Muslim Nusantara Al-Washliyah. Uji antijamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muskhaf Nusantara Al-Washliyah. Pengujian Particle Size Analyzer (PSA) dilakukan di Laboratorium Nanomedisin

Universitas Sumatera Utara.

## 3.3 Bahan dan Alat

### 3.3.1 Bahan

Bahan yang digunakan dalam sebagai berikut: ekstrak daun pepaya (*Carica papaya*L*.*) etanol 96%, aquades, Media PDA, PDB, koloni jamur *Candida albicans* ATCC 10231*,* HCL 2N, FeCl3 1%, Kloralhidrat, Bouchardat, Dragendorff, Mayer,

DMSO (Dimetil Sulfoksida), anhidrat larutan standard Mcfarland 0,5, NaCl steril

0,9%, BaCl2.2H2O, H2SO4 1%, aquadest, Fluconazole.

### 3.3.2 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah rotary evaporator (DLAB), kertas saring, neraca analitik (Vibra), cawan porselin, kurs porselin, seperangkat alat penetapan kadar air, alat-alat gelas laboratorium, homogenizer (IKA RW 20 digital), jangka sorong digital, alumunium foil, jarum ose, inkubator, autoklaf, oven, pipet tetes, blender, ayakan, toples kedap udara, Particle Size

Analyzer (Fritsch), tabung reaksi, cawan petri, lampu spiritus.

## 3.4 Persiapan Bahan

### 3.4.1 Determinasi sampel

Determinasi tumbuhan dilakukan di Herbarium jurusan biologi FMIPA

Universitas Syiah Kuala Banda Aceh Jalan Syech Abdul Rauf, No. 3 Banda Aceh.

### 3.4.2 Pengambilan Sampel

Pengambilan sampel dilakukan di sekitar kota aceh dengan pengambilan secara acak.

### 3.4.3 Pengumpulan Sampel

Pengumpulan sampel dilakukan secara purposive yaitu mengambil tanaman dengan sengaja dari suatu tempat tanpa membandingkan dengan hasil dari daerah yang lain.

### 3.4.4 Pengolahan Sampel

Sampel daun pepaya dikumpulkan, lalu dilakukan sortasi basah dengan memisahkan bagian pada daun yang tidak diperlukan selanjutnya dicuci dengan air mengalir, daun pepaya yang yang telah dibersihkan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di udara terbuka yang terhindar dari sinar matahari langsung, kemudian dikeringkan dengan lemari pengering hingga kering. Daun pepaya (*Carica papaya* folium) yang sudah kering, disortasi kering dengan cara membuang batu atau benda lain yang masuk pada pengeringan, dan dibuat serbuk dengan cara diblender dan diayak. Serbuk simplisia disimpan dalam wadah bersih dan tertutup rapat (Depkes RI, 2008).

## 3.5 Pembuatan Ekstrak Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Sebanyak 500 gram serbuk daun pepaya dimaserasi dengan 5000 mL etanol 96%. Serbuk simplisia dimasukkan ke dalam wadah maserasi kemudian ditambahkan etanol 96% sebanyak 3.750 mL . Rendam selama 5 hari dan diletakkan ditempat yang terlindung dari sinar matahari. Selama proses maserasi, sesekali diaduk. Simplisia yang sudah larut disaring kemudian filtrate ditampung sebagai maserat I. Proses perendaman dilakukan kembali dengan etanol 96% sebanyak 1,250 mL selama 2 hari dengan sesekali diaduk, hingga diperoleh maserat II. Maserat I dan maserat II digabungkan, lalu diuapkan menggunakan rotary evaporator untuk memisahkan ekstrak dari pelarutnya maka diperoleh ekstrak pekat daun pepaya (Kemenkes RI, 2017).

## 3.6 Pembuatan Larutan

### 3.6.1 Asam Klorida 2N

Asam klorida pekat sebanyak 17 ml ditambahkan air suling sampai volume

100 ml (Depkes RI, 1995).

### 3.6.2 FeCI3 1%

Besi (III) klorida ditimbang 1 gram, kemudian dilarutkan dengan air suling di dalam labu tentukur 100 ml hingga tanda batas (Depkes RI, 1989).

Bouchardat Iodide ditimbang sebanyak 4 gram, dilarutkan dalam air suling secukupnya, lalu ditambahkan 2 gram iodium sedikit demi sedikit secukupnya dengan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

### 3.6.3 Pereaksi Dragendorff

Bismuth (III) nitrat sebanyak 0,8 gram dilarutkan dalam asam nitrat 20 ml kemudian dicampurkan dengan 50 ml kalium iodide sebanyak 27,2 gram dalam 50 ml air suling. Didiamkan sampai memisah sempurna, selanjutnya diambil lapisan jernih nya, diencerkan dengan air hingga diperoleh 100 ml (Depkes RI, 1995).

### 3.6.4 Pereaksi Mayer

Raksa (II) klorida sebanyak 1,569 gram dilarutkan dengan air suling hingga 60 ml. Pada wadah lain 5 gram kalium iodide dilarutkan dalam 10 ml air suling. Kedua larutan dicampur, ditambahkan air suling hingga 100 ml (Depkes RI, 1995). **3.6.5 Pereaksi Kloralhidrat**

Pereaksi kloralhidrat dibuat dengan cara melarutkan kloralhidrat sebanyak

50 gram dalam 20 ml air (Ditjen POM, 1995).

## 3.7 Karakteristik Simplisia

### 3.7.1 Pemeriksaan Makroskopik

Pemeriksaan makroskopik dilakukan terhadap daun pepaya (*Carica papaya* L*.*) dengan cara memperhatikan warna, bentuk, bau dan ukuran.

### 3.7.2 Pemeriksaan Mikroskopik

Serbuk simplisia daun pepaya (*Carica papaya* L.*)* diamati secara mikroskopis untuk melihat amilum, berkas pengangkut, endodermis, endokarp, endosperm, epidermis dan jaringan-jaringan yang ada pada daun pepaya (*Carica papaya* L.). Serbuk simplisia daun pepaya (*Carica papaya* L.) di simpan di kaca objek kemudian diteteskan pereaksi air, kloral hidrat dan diamati di bawah mikroskop (MMI, 1977).

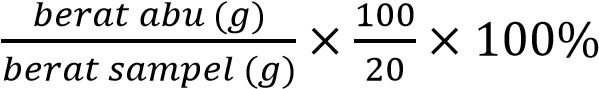
#### A. Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.*)* dilakukan dengan cara destilasi. Menimbang sejumlah serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.*)* yang diperkirakan mengandung 1 sampai 4 ml air dan masukkan ke dalam labu kering.Kemudian tambahkan 200 ml toluena ke dalam labu yang berisi serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.*)*, lalu dipanaskan selama 15 menit. Setelah toluena mendidih, penyulingan diatur dengan kecepatan kurang lebih 2 tetes per detik di awal penyulingan dan dinaikkan menjadi 4 tetes tiap detik.Penyulingan dihentikan saat seluruh air telah disuling.Untuk memastikan adanya air yang belum tersuling, maka dilakukan penyulingan kembali selama 5 menit. Setelah air dan toluen pada tabung penerima memisah, maka dilakukan perhitungan kadar air dengan cara menghitung

#### B. Penetapan kadar sari larut dalam air

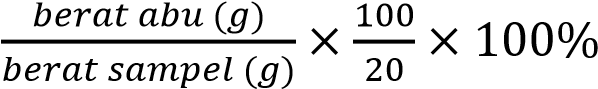
Sebanyak 5 Serbuk Simplisia Dimaserasi selama 24 jam dalam 100 mL airkloroform (2,5 mL kloroform dalam air suling sampai 1 liter) dalam labu bersumbat sambil dikocok sesekali selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam,lalu disaring.Sejumlah 20 mL filtrat pertama diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan ditara. Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap.Kadar sari yang larut dalam air hitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan dengan rumus sebagai berikut

(Anggraeni, 2019).

%kadar sari larut dalam air=

#### C. Penetapan kadar sari larut dalam etanol

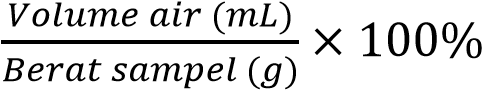
Sebanyak 5 gram serbuk simplisia dimaserasi selama 24 jam dengan 100 ml etanol 96% dalam labu bersumbat sambil sekali-sekali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian dibiarkan selama 18 jam. Kemudian disaring cepat untuk menghindari penguapan etanol.Sejumlah 20 ml filtrat diuapkan sampai kering dalam cawan penguap yang berdasar rata yang telah dipanaskan dan ditara.Sisa dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap.Kadar sari yang larut dalam etanol dihitung dalam persen terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara dengan rumus sebagai berikut (Anggraeni, 2019).

% Kadar sari larut dalam etanol =

#### D. Penetapan Kadar Abu Total

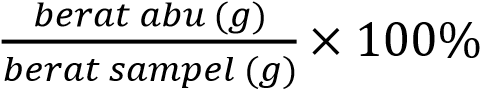
Simplisia serbuk daun pepaya (*Carica papaya* L.*)* di timbang sebanyak 2 sampai 3 gram, dimasukkan ke dalam cawan krus silika yang telah dipijarkan dan di tara, sampel dan cawan krus dipijarkan hingga arangnya habis, kemudian didinginkan dan timbang (FHI, 2008). Jika arang tidak habis atau hilang, ditambahkan air panas kemudian aduk dan dilakukan penyaringan dengan kertas saring bebas abu sisa yang dipijarkan pada cawan krus yang sama. Filtrat yang didapat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan dan dipijarkan sampai bobotnya tetap kemudian timbang. Kadar abu dihitung terhadap berat bahan uji dinyatakan dalam

% b/b (FHI, 2008).

%kadar air =

#### E. Penetapan Kadar Abu Tidak Larut Asam

Abu yang diperoleh dari kadar abu total serbuk daun pepaya dididihkan dengan menggunakan HCl sebanyak 25 ml selama 5 menit. Bagian yang tidak larut dalam asam disaring menggunakan kertas saring bebas abu, kemudian dicuci dengan air panas dan dipijarkan dalam krus sampai bobot yang di konstan.Kadar abu tidak larut asam dihitung terhadap berat bahan uji yang dinyatakan dalam (% b/b) (FHI, 2008).

% Kadar abu tidak larut dalam asam =

## 3.8 Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan pada serbuk simplisia dan ekstrak etanol daun pepaya untuk mengetahui golongan alkaloid, flavonoid, tanin, steroid/terpenoid.

### 1. Pemeriksaan Alkaloid

Serbuk simplisia dan ekstrak etanol ditimbang sebanyak 0.5 g dan ditambahkan 9 ml air suling lalu dipanaskan di penangas air selama 2 menit. Setelah itu didinginkan dan disaring, filtrat digunakan untuk pengujian alkaloid:

1. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi mayer maka terbentuk endapan menggumpal berwarna putih atau kuning
2. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi dragendorff akan terbentuk coklat atau jingga
3. Filtrat sebanyak 3 tetes ditambahkan dengan 2 tetes pereaksi bouchardat maka terbentuk endapan coklat sampai hitam.

Jika terjadi endapan atau kekeruhan paling banyak dua dari ketiga percobaan maka sampel positif alkaloid (Depkes RI, 1995).

### 2. Pemeriksaan Flavonoid

Serbuk simplisia 10 g dan ekstrak di timbang dan di tambahkan air suling panas 100 ml. didihkan selama 5 menit, setelah itu disaring dalam keadaan panas. Kedalam 5 ml filtrat ditambahkan serbuk magnesium dan 1 ml HCl pekat dan 2 ml amil alkohol, dikocok kuat dibiarkan larutan memisah. Dikatakan positif flavonoid dengan adanya warna merah, kuning, atau jingga pada lapisan amil alkohol (Depkes

RI, 1995).

### 3. Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam. Maserat di saring, filtrate diuapkan di dalam cawan penguap.Sisa ditambahkan larutan pereaksi Lieberman-Burchard. Apabila terbentuk warna ungu atau merah lalu berubah menjadi biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroid atau terpenoid (Harborne, 1987).

### 4. Terpenoid

Sebanyak 1 g serbuk simplisia dan ekstrak dimaserasi dengan 20 ml eter selama 2 jam. Maserat di saring, filtrate diuapkan di dalam cawan penguap. Sisa ditambahkan larutan pereaksi Lieberman-Burchard. Apabila terbentuk warna ungu atau merah lalu berubah menjadi biru atau biru hijau menunjukkan adanya terpenoid (Harborne, 1987).

### 5. Pemeriksaan Saponin

Sebanyak 0.5 g serbuk dan ekstrak ditambahkan 10 ml air suling panas, lalu dikocok kuat- kuat selama 10 menit. Jika terbentuk busa dengan tinggi 1 sampai 10 cm yang stabil tidak kurang 10 menit dan tidak hilang bila ditambahkan 1 tetes HCl

2N menunjukkan adanya saponin ( Depkes RI, 1995).

### 6. Pemeriksaan Tanin

1 g serbuk dan ekstrak di sari dengan 10 ml air suling lalu disaring filtrat diencerkan menggunakan air suling hingga bening. Larutan diambil sebanyak 2 ml lalu ditambahkan pereaksi besi (III) klorida 1% sebanyak 1 sampai 2 tetes jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menandakan adanya tanin

(Depkes RI, 1995).

### 7. Pemeriksaan Glikosida

Serbuk dan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) uji dilarutkan dalam pelarut etanol, diuapkan diatas tangas air, larutkan sisanya dengan 5 mL asam asetat anhidrat, ditambahkan 10 tetes asam sulfat. Terjadi endapan warna biru atau hijau menunjukkan adanya glikosida (Reaksi Liebermann-Burchard) (Depkes RI, 1989).

## 3.9 Pembuatan Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Pepaya (*Carica papaya* L.)

Реmbuatan nanopartikel ekstrak daun pepaya dibuat dengan metode top down dengan teknik homogenizer kecepatan tinggi yang dimodifikasi untuk operasi unit seperti penghancuran, pencampuran, dan stabilisasi padatan. Dengan menimbang 35g ekstrak kental daun pepaya, kemudian di homogenizer selama 2 jam. Setelah di homogenizer kemudian di ultrasonic cleaner selama 1 jam.

**3.9.1 Karakterisasi Nanopartikel Ekstrak Etanol Daun Pepaya**

### A. Distribusi Ukuran Partikel (PSA)

Nanopartikel ekstrak dikarakterisasi menggunakan Particle Size Analyzer (PSA) untuk mengetahui ukuran partikel yang dihasilkan (Natasya, 2018). Pada karakterisasi ukuran partikel dengan PSA, kemudian larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung dengan ketinggian larutan maksimum 15 mm. Kemudian distribusi diameter spesimen diukur menggunakan VASCO Nano Particle Analyzer. Pemeriksaan ini dilakukan berdasarkan metode *Dynamic Light Scattering* (DLS) menggunakan Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments).

## 3.10 Penyiapan Uji Aktivitas Antijamur

### 3.10.1 Sterilisasi

Alat-alat yang akan digunakan sebelumnya dicuci hingga bersih kemudian dikeringkan. Alat-alat yang tidak tahan panas dibungkus dengan kertas kemudian disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit. Sedangkan alatalat yang tahan pemanasan seperti pinset dan jarum ose disterilkan dalam oven pada suhu 1800C selama 2 jam (Sartini, 2016).

### 3.10.2 Sumber Isolat Jamur

Isolat jamur *Candida albicans* berasal dari biakan murni yang diperoleh dari

Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara.

### 3.10.3 Pembuatan Media PDA

Diitimbang sebanyak 3,9 gram dimasukkan dalam Erlenmeyer yang sesuai, kemudian dilarutkan dengan aquades hingga 100 ml, lalu dikocok homogen.

Dipanaskan dalam air hingga mendidih sambil dikocok sesekali selama 1 menit sampai larut sempurna. Disterilkan dalam autoklaf pada suhu 1210C selama 15 menit (Sartini, 2016).

### 3.10.4 Pembuatan Larutan Standar McFarland

Sebanyak 9,95 mL H2SO4 1% dan 0,05 mL BaCl2 1% dicampur dan dihomogenisasi hingga diperoleh larutan standar McFarland 0,5 (Ariani et al.,

2019).

### 3.10.5 Peremajaan Jamur

Penyiapan jamur uji dengan cara diambil 1 ose jamur menggunakan jarum ose dari kultur murni pada cawan petri, kemudian jamur tersebut digoreskan ke dalam tabung reaksi yang berisi media PDA miring. Kemudian diinkubasi pada suhu 370C selama 48 jam. Setelah diinkubasi amati pertumbuhan jamur kemudian dilakukan pembuatan suspensi jamur (Octaviani, 2018)

### 3.10.6 Pembuatan Suspensi *Candida albicans*

Pembuatan suspensi dengan cara diambil NaCl sebanyak 10 ml

menggunakan spuit steril dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Diambil biakan dengan menggunakan ose steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl (Octaviani, 2018).

## 3.11 Pengujian Aktivitas Antijamur

### 3.11.1 Metode Dilusi Cair

Metode yang digunakan ialah metode serial dilusi atau pengenceran bertingkat.Metode pengujian menggunakan turbidimetri.Sebanyak 10 tabung reaksi steril disiapkan. Setiap tabung dimasukkan media Potato Dextrose Broth (PDB) sebanyak 3,5 mL dan 0,5 mL jamur *Candida albicans* ATCC 10231 yang setara dengan standar Mc Farland 0,5. Setiap tabung uji diberi label 1- 8, kemudian tabung 9 diberi label K (+) yang merupakan kontrol positif, yaitu tabung yang berisi media dan ekstrak. Tabung 10 diberi label K (-) yang merupakan kontrol negatif, yaitu tabung berisi Media +. Tabung 1- 8 dimasukkan ekstrak daun pepaya (*Carica papaya*L.) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5% dan 6,25%, 3,125%,

1,56%, 0,78% dan nanopartikel ekstrak daun pepaya (*Carica papaya* L.) 10%, 5%, 2,5%, 1,25% dan 0,625%, 0,3125%, 0,156%, 0,078% masing masing sebanyak 1 mL dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometri uv-vis.

Selanjutnya media tabung perlakuan diinkubasi selama 48 jam dan kemudian dilakukan kembali pengukuran absorbansi kembali menggunakan spektrofotometri uv-vis, semua tabung tersebut dilihat kekeruhannya secara visual, bila kekeruhan masing-masing tabung masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) yang berisi media dan suspensi *Candida albicans* berarti jamur masih dapat bertumbuh, tetapi bila larutan dalam tabung terlihat mulai lebih jernih daripada tabung K(-) berarti pertumbuhan jamur mulai terhambat. Hal inilah yang menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM). Kadar hambat minimum ditentukan dengan konsentrasi ekstrak terkecil pada tabung perlakuan yang sudah mulai menghambat pertumbuhan jamur.

### 3.11.2 Metode Dilusi Padat

Sebanyak 25 mL PDA dituangkan ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan selama beberapa menit sehingga menjadi padat. Kemudian dipipet sejumLah 0,1 mL dari tiap -tiap pengenceran kemudian disebarkan di atas media PDA steril. Selanjutnya dilakukan inkubasi selama 48 jam pada suhu 37℃ KBM ditentukan dengan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan jamur dalam media agar setelah diinkubasi. Konsentrasi terendah yang memperlihatkan kematian jamur (tidak ada pertumbuhan) merupakan nilai KBM. Data yang diperoleh dianalisis secara deskriptif berupa konsentrasi terendah dari ekstrak yang mampu menghambat dan membunuh *Candida albicans*.

### 3.11.3 Metode Difusi Cakram

Uji aktivitas antijamur yang dilakukan menggunakan metode cakram. Suspensi jamur *Candida albicans* diambil menggunakan cotton bud steril. Cotton bud steril dimasukkan kedalam suspensi jamur dengan diperas di pinggir tabung. Kemudian cotton bud di goreskan ke media PDA. Lalu letakkan kertas cakram berisi larutan konsentrasi ekstrak dan nanopartikel ekstrak daun pepaya, letakkan juga kontrol positif (Fluconazole) menggunakan pinset. Kontrol negatif yang digunakan DMSO. Lalu masukkan cawan petri ke dalam inkubator dan inkubasi selama 48 jam dengan suhu 37℃. lalu amati zona beningnya dan diukur menggunakan jangka sorong (Sari, et al.,2019).

## 3.12 Pengukuran Diameter Zona Hambat

Pengukuran diameter zona hambat dilakukan setelah diinkubasi selama 48 jam. Zona hambat bening yang terbentuk diukur diameternya menggunakan penggaris dalam satuan milimeter (mm) dengan cara mengukur ujung tepi zona ke ujung tepi zona lainnya melintasi zona bening melewati di atas titik pusat kertas cakram (disk) (kertas cakram termasuk dalam perhitungan), hingga diperoleh nilai zone of inhibition (ZOI) atau nilai zona hambat (Hudzicki, 2009).

## 3.13 Analisis Data

Data yang diperoleh pada pengujian aktivitas antijamur diolah secara statistik dengan metode one way ANOVA pada taraf kepercayaan 95% dengan menggunakan program SPSS.