



ANTIFUNGAL ACTIVITY FROM ETHYLACETATE EXTRACT OF *Plumeria alba* AGAINST *Candida albicans*

¹Murniana, ¹Israhadi, ²Khairan and ¹Nurdin Saidi

¹Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh, 23111, Indonesia

²Program Studi Farmasi Universitas Syiah Kuala,
Banda Aceh, 23111, Indonesia

Abstract. An investigation on the chemical constituents of *plumeria alba* has been studied. The compound was extracted from the bark using n-hexane and ethyl acetate as solvent, respectively. The crude was subjected to chromatographic techniques. Isolation and purification of the compound afforded the indole alkaloid. The ethylacetate extract was test to antifungal activity against *Candida albicans*. The test result sowed inhibition zone of 10 mm on 20% extract concentration.

Keywords: *plumeria alba*, akaloid indol,, *Candida albicans*

I. PENDAHULUAN

Penelitian tentang senyawa antifungal telah banyak dilakukan, namun hanya ada beberapa saja yang terkait dengan senyawa yang berasal dari tumbuhan. Pada tahun 2008 [1] melakukan penelitian terhadap senyawa antifungal *Rubus ulmifolius*. Minyak dari tumbuhan *Biden pilosa* secara signifikan bersifat antibakteri dan jamur terhadap enam strain bakteri dan tiga strain jamur. Aktivitas daya hambat minyak bunga tumbuhan tersebut di dalam gram negatif bakteri secara signifikan lebih tinggi dari gram positif [2]. Aktivitas antifungal ekstrak air dan metanol dari tumbuhan *cucumber* Laut Mediterania, *Holothuria polii*, juga telah diteliti [3]. Mereka melaporkan ekstrak tersebut secara signifikan aktif antifungal terhadap strain *Aspergillus fumigatus* pada konsentrasi 150–300 µg/well.

Sesquiterpen lakton baru dari *Centaurea pullata* juga menunjukkan aktivitas antibakterial dan antifungal terhadap enam spesies bakteri dan delapan spesies jamur [4]. Enam spesies *Centaurea* telah diteliti memiliki aktivitas antifungal terhadap jamur *Cunninghamella echinulata*, yaitu senyawa dengan cincin, salonitenolide, costunolide, (–)-dehydrocostuslactone, (–)-lychnopholide dan (–)-eremantholide C. Senyawa (–)-lychnopholide dan (–)-eremantholide C. menunjukkan aktivitas yang baik pada nilai EC₅₀ [5].

Penelitian senyawa antifungal dari *P. alba* belum pernah dilaporkan, namun secara etnobotani masyarakat telah memanfaatkan tumbuhan ini sebagai obat penyakit kelamin dan diare [6]. Penyakit kelamin umumnya disebabkan oleh sejenis jamur, sehingga besar kemungkinan dalam tumbuhan *p. alba* mengandung senyawa yang bersifat antifungal. Pada artikel ini akan dilaporkan aktivitas antifungal ekstrak etilsetat kulit batang *P. alba* terhadap jamur *C. albican*.

II. METODOLOGI

Peralatan dan Bahan

Beberapa peralatan yang digunakan pada penelitian ini meliputi *rotary evaporator*, beberapa peralatan gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia organik dan peralatan untuk distilasi pelarut. kawat ose, autoklaf, *blank disc*, kapas, dan inkubator. Data GC-MS diukur dengan alat Shimadzu GC-MS QP2000A spektrometer 70 eV.

Bahan yang digunakan untuk penelitian ini meliputi berbagai pelarut yang biasa digunakan untuk ekstraksi dan isolasi. Reagen untuk uji fitokimia dan untuk *sprayer*, silika gel G 60 F (70-200 mesh), dan plat TLC. Bahan yang digunakan untuk uji antifungal adalah barium klorida dihidrat, asam sulfat, etanol, *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), dan cakram nistatin.

Material Tumbuhan dan Bioindikator

Sampel kulit batang tumbuhan *P. alba* diambil di daerah Kecamatan Lhoknga, Kab Aceh Besar. Sampel dideterminasi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Jamur *C. albicans* diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), Banda Aceh.

Ekstraksi dan Isolasi

Sebelum dikeringanginkan, sampel segar dilakukan uji fitokimia. Pengujian tersebut meliputi uji alkaloid, terpenoid, steroid, saponin dan flavonoid. Sampel (500 g) yang sudah dikeringanginkan dan dihaluskan, kemudian dimaserasi dengan n-heksana selama 3x24 jam. Ekstrak n-heksana disaring dan dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan disimpan. Residu dibasakan dengan amonia 10 % dan dibiarkan selama satu malam. Sampel tersebut kemudian dimaserasi dalam etil asetat selama 3 x 24 jam sampai diperkirakan senyawa terekstrak sempurna dalam etil asetat. Jika dalam residu masih terkandung senyawa, maka maserasi dilanjutkan beberapa kali lagi. Filtrat disaring, dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* dan ditimbang. Sebagian ekstrak digunakan untuk proses isolasi dan sebagian lagi untuk uji hayati.

Ekstrak pekat etil asetat (23 g) ditambahkan etil asetat 200 mL kemudian dipartisi dengan 100 mL HCl 5%. Partisi dilakukan berulang-ulang sampai uji Meyer negatif. Fasa HCl dikumpulkan, kemudian ditambahkan amonia 25% sampai pH indikator 11-12. Larutan tersebut selanjutnya dipartisi kembali dengan etil asetat 100 ml. Partisi menggunakan etilasetat ini dilakukan berulang-ulang sampai menunjukkan uji Meyer negatif. Fasa etil asetatnya dikumpulkan dan ditambahkan 2 sendok kecil Na_2SO_4 anhidrat kemudian dipekatkan.

Fraksi Etilasetat pekat atau fraksi alkaloid (1,3 g) dilakukan isolasi senyawa dengan kromatografi kolom gravitasi menggunakan fasa diam silika gel 60 (0,063-0,200 mm) dan fasa gerak n-heksana : etil asetat secara gradien elusi. Fraksi dikumpulkan setiap 10 mL dan setiap fraksi dilakukan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (6:4). Noda senyawa dilihat di bawah lampu UV (254 dan 366 nm) dan disemprot dengan reagen *Dragendorf*. Fraksi yang mempunyai pola noda yang sama digabung. Jika kelompok noda belum menunjukkan satu noda, maka dilakukan rekromatografi kolom atau kromatografi lapis tipis preparatif. Senyawa murni diidentifikasi menggunakan GC-MS.

Uji Hayati

Pengujian dilakukan dengan metoda difusi agar menggunakan cakram. Media yang digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Sebanyak 6,5 gram SDA, dilarutkan dalam 100 mL aquadest dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Tiap cawan petri diisi dengan media sebanyak 20 mL, dan ditunggu media sampai mengeras. Kemudian masukkan suspensi jamur *C. albicans* dengan metoda sprider yang telah bandingkan dengan standar Mc Farland 0,5. Dimasukkan cakram yang telah diberi larutan uji beserta cakram kontrol dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Untuk satu set percobaan diletakkan cakram berisi larutan uji, kontrol positif (nistatin 100 µg) dan kontrol negatif pelarut pada daerah yang berbeda dalam media tumbuh jamur. Diamati pertumbuhan jamur untuk setiap area setelah 24 jam. Bila zona hambat belum tampak, dibiarkan selama 24 jam lagi, kemudian diamati kembali apakah ada zona hambatan atau tidak, daerah hambatan yang terjadi diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter (mm).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia

Uji fitokimia tumbuhan *P. alba* menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder yang terkandung adalah golongan alkaloid. Golongan senyawa ini diketahui secara kemitaksonomi terdapat pada famili Anonaceae, lauraceae, apocynaceae dan beberapa famili lain, walaupun tidak terdapat dalam semua sepsiesnya. Secara fisik suatu tumbuhan yang mengandung senyawa golongan alkaloid adalah bergetah, bersifat basa dan terasa pahit [7].

Keberadaan senyawa metabolit lain tidak teridentifikasi dalam pengujian fitokimia. Banyak faktor yang menyebabkan hal ini terjadi dan diantaranya adalah mungkin memang tidak mengandung senyawa tersebut atau kandungannya terlalu sedikit, sehingga keberadaanya sukar diamati secara visual.

Ekstraksi dan isolasi

Isolasi ekstrak etil asetat (1,3 g) secara kromatografi kolom gravitasi diperoleh 50 fraksi. Proses isolasi dilakukan dengan menggunakan fasa diam silika gel G60 (0,063-0,200 mm) dan n-heksana:etil asetat dengan sistem gradien elusi 6:4; 5:5; 3:7; 2,5:7,5; 2:8; 1,5:8,5; 1:9; 10:0. Fraksi 1-50 dilakukan KLT dan setelah dianalisis

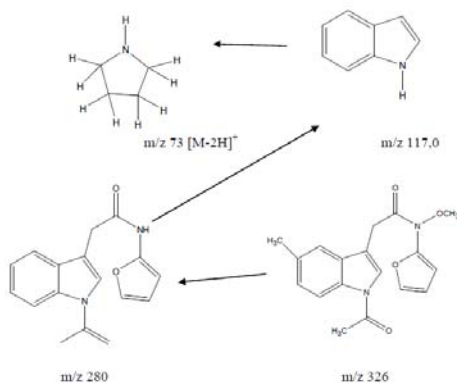
berdasarkan pola noda yang sama, maka dikelompokkan menjadi 7 subfraksi yaitu F1-5 (A; 0,2 g), F6-10 (B; 0,01 g), F11-12 (C; 0,01 g), F13-19 (D; 0,04 g), F20-23 (E; 0,01 g), F24-39 (F; 0,03 g) dan F40-50 (G; 0,05 g).

Berdasarkan noda TLC, fraksi D merupakan sub fraksi yang relatif murni, sehingga dilakukan uji karakterisasi menggunakan GC-MS.

Analisis GC-MS

Analisis GC-MS subfraksi D menunjukkan ada 8 senyawa golongan alkaloid dengan komponen utamanya adalah senyawa golongan alkaloid indol. Berdasarkan *database* GC-MS senyawa pada waktu retensi 9,94 menit dengan persentase kemiripan sebesar 93 % adalah senyawa alkaloid golongan indol. Fragmentasi pada m/z 73,1 dan 117,0 merupakan ciri cincin alkaloid indol.

Pola fragmentasi yang diusulkan untuk senyawa tersebut tertera pada gambar 1.



Gambar 1. Pola fragmentasi ion molekul senyawa alkaloid golongan indol

Senyawa alkaloid golongan indol juga telah diisolasi dari famili apocynaceae, yaitu *Alstonia scholaris* [8].

Uji Antifungal

Hasil uji antifungal ekstrak etilasetat dengan variasi konsentrasi 1; 10 dan 20% dapat dilihat pada Tabel 1. Kontrol positifnya yang digunakan adalah nistatin pada konsentrasi 100 ppm. Nistatin merupakan salah satu antibiotik turunan poliena yang dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan menyerang ergosterol suatu komponen membran jamur *C. albicans*, tetapi tidak menghambat pertumbuhan bakteri karena membran bakteri tidak mengandung ergosterol.

Tabel 1. Uji antifungal ekstrak etilasetat terhadap *Candida albicans*

| Bahan uji | Rata-rata zona hambat (mm) | |
|--------------------|----------------------------|----|
| Nistatin 100 ppm | 18 | |
| Pelarut etilasetat | 0 | |
| Ekstrak etilasetat | 1% | 0 |
| | 10% | 8 |
| | 20% | 10 |

Tabel 1 menunjukkan rata-rata zona hambat bahan uji ekstrak etilasetat terhadap bioindikator *C. albican* dengan konsentrasi 1; 10 dan 20%, kontrol positif dan negatif. Nistatin (kontrol positif) menunjukkan aktivitas dengan rata-rata zona hambat sebesar 18 mm, sementara etilasetat sebagai kontrol negatif tidak menunjukkan aktivitas. Ekstrak etilasetat pada konsentrasi 1% tidak menunjukkan aktivitas. Pada konsentrasi 10 dan 20% aktivitasnya adalah 8 dan 10 mm. Aktivitas ekstrak etilasetat lebih kecil pada semua tingkat konsentrasi dibandingkan dengan kontrol positif, hal ini diduga senyawa aktifnya bekerja secara antagonis dan bukan secara sinergis.

KESIMPULAN

Ekstrak etilasetat pada konsentrasi 10 dan 20% menunjukkan aktivitas antifungal terhadap *C. albican* sebesar 8 dan 10 mm. Ekstrak etilasetat mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid jenis indol.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Departemen Pendidikan dan Kebudayaan yang telah membiayai penelitian ini sesuai dengan surat perjanjian pelaksanaan penelitian Pengembangan Karya Ilmiah Nomor 1448/H-11/TU /2008. Terimakasih juga diucapkan kepada semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Sisti, M, M. De Santi, D. Fraternali, P. Ninfali, V. Scoccianti dan G. Brandi. 2008, Antifungal activity of *Rubus ulmifolius* Schott standardized in vitro culture. *LWT - Food Science and Technology*. 41 (5), 946-950.
- [2]. Deba, F., Dang Xuan, M. Yasuda dan S. Tawata. 2008. Chemical composition and antioxidant, antibacterial and antifungal activities of the essential oils from *Bidens pilosa* Linn. *Food Control*, 19 (4) 346-352.

- [3]. Ismail, H., S. Lemriss, Z. Ben Aoun, L. Mhadhebi, A. Dellai, Y. Kacem, P. Boiron dan A. Bouraoui. 2008, Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean sea cucumber, *Holothuria polii* *Journal de Mycologie Médicale/Journal of Medical Mycology*, **18**, (1), 23-26.
- [4] Djeddi, S., A. Karioti, M. Sokovic, C. Koukoulitsa, H. Skaltsa, 2008, A novel sesquiterpene lactone from *Centaurea pullata*: Structure elucidation, antimicrobial activity, and prediction of pharmacokinetic properties. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **16**, (7), 3725-3731.
- [5] Barrero AF, Oltra JE, Alvarez M, Raslan DS, Saúde DA, Akssira M, 2000, New sources and antifungal activity of sesquiterpene lactones. *Fitoterapia*. **71**, (1), 60-64.
- [6] Ogata, Y., Y. Kasahara, Mulyadi, A. Rachmat, Jamaluddin, B. Royadi, N. Simanullang and A. Fauzi, *Medicinal Herb Index In Indonesia*, PT. Eisai Indonesia, Jakarta.
- [7] Cordell, G. A., 1988, *Introduction to Alkaloid A Biogenetic Approach*, Jhon Willey and Sons, Inc.