

DAYA ANTIFUNGAL EKSTRAK ETANOL DAUN (*Piper aduncum*) DAN (*Piperomia pellucida*) TERHADAP PERTUMBUHAN (*C. albicans*) SECARA INVITRO

Antifungal Power Leaf Extract (Piper aduncum) Ethanol and Growth of (Piperomia pellucida) of (C. albicans) in vitro

Utami Sri Hastuti, Yunita Putri Irsadul Ummah, Henny Nurul Khasanah
Jurusan Biologi FMIPA Universitas Negeri Malang
E-mail: tuti_bio_um@yahoo.com

Abstract - Sesuruhan plants (*Piper aduncum*) and messengers (*Piperomia pellucida*) is a species of Piperaceae familia members. Both of these plant species containing antifungal compounds include: tannins, flavonoids, and saponins. *Candida albicans* is a yeast causing vaginal discharge disease. Antifungal potential of ethanol extract of the plant, particularly against *C. albicans* in vitro testing needs. The purpose of this study is to: 1) examine the effect of ethanol extract of leaves sesuruhan in some sort of concentration on the inhibition of growth of *C. albicans* in vitro; 2) examine the effect of ethanol extract of leaves of messengers in some sort of concentration on the inhibition of growth of *C. albicans* in vitro; 3) determine the most effective concentration of the ethanol extract of leaves and leaf sesuruhan messengers in some kind of concentration to inhibit the growth of *C. albicans* in vitro. Extracts of both species was obtained by maceration method with 95% ethanol, followed by sterile filtration and evaporation of the filtrate thus obtained. Filtrate was diluted in 10 concentration levels, namely: 0%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, and 90%. Testing the two kinds of power antifungal leaf species was conducted using agar diffusion technique of pitting on Sabouraud Dextrose Agar medium that has been inoculated with *C. albicans*. Measurement of *C. albicans* growth inhibitory zone performed after an incubation period of 1x24 hours. The results of this study are: 1) There is no effect of ethanol extract of leaves sesuruhan in some sort of concentration on the inhibition of growth of *C. albicans* in vitro. The higher the concentration of the ethanol extract of the leaves sesuruhan increasing inhibition of growth of *C. albicans*; 2) There is no effect of ethanol extract of leaves of messengers in some sort of concentration on the inhibition of growth of *C. albicans* in vitro. The higher the concentration of the ethanol extract of the leaves of messengers increasing inhibition of growth of *C. albicans*; 3) Ethanol extract of leaves and leaf sesuruhan errand at a concentration of 80% was the most effective concentration to inhibit the growth of *C. albicans* in vitro.

Keywords: *antifungal power, Piper aduncum leaves, leaf Piperomia pellucida, Candida albicans*

PENDAHULUAN

Daun famili Piperaceae merupakan salah satu famili yang mempunyai banyak spesies daun yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat alam, salah satu daun sesuruhan (*Piper aduncum* L.) dan daun suruhan (*Piperomia pellucida* L.). *Piper aduncum* merupakan tanaman berbatang kayu dan berperawakan perdu. Daun *Piper aduncum* L. berkhasiat sebagai obat sakit bisul dan obat luka baru. Senyawa-senyawa aktif antibakteri dalam daun ini adalah dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus subtilis*, *Micricoccus luteus* dan *Escherichia coli* (Orjala et al, 1993). Daun ini mengandung senyawa kimia diantaranya saponin, flavonoid, polifenol, tanin dan

minyak atsiri. *Piperomia pellucida* merupakan daun yang banyak ditemukan tumbuh liar di alam. *Piperomia pellucida* berkhasiat sebagai obat sakit kepala, demam, sakit pencernaan. Daun ini mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Mishra, 2010).

Keputihan merupakan penyakit yang sering diderita wanita. Keputihan dapat disebabkan oleh pertumbuhan abnormal dari beberapa spesies khamir, salah satunya adalah *Candida albicans*. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa *Candida albicans* telah resisten terhadap beberapa macam antifungal yaitu flukonazol, ketonazol, nistatin, dan amfoterisin B (Prasmana



dkk, 2006). Berdasarkan kenyataan tersebut masyarakat beralih menggunakan daun untuk mengobati penyakit keputihan. Efektivitas bahan antifungal dalam menghambat pertumbuhan fungi dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satu diantaranya ialah konsentrasi ekstrak.

Tujuan Penelitian

1. meneliti pengaruh ekstrak etanol daun sesuruhan dalam beberapa macam konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans* secara invitro.
2. meneliti pengaruh ekstrak etanol daun suruhan dalam beberapa macam konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans* secara invitro;
3. menentukan konsentrasi yang paling efektif antara ekstrak etanol daun sesuruhan dan suruhan dalam beberapa macam konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* secara invitro.

Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini dapat dilanjutkan dengan penelitian secara in vivo untuk menambah referensi bagi dunia farmasi mengenai pemanfaatan tumbuhan obat alami yang berasal dari daun sesuruhan dan daun suruhan sebagai bahan antifungal.

METODE PENELITIAN

Rancangan penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rancangan Acak Lengkap.

Alat-Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini ialah: *beaker glass*, cawan petri, batang pengaduk, tabung reaksi, kertas sampul, benang kasur, labu erlenmeyer, autoklaf, makropipet ukuran 5 ml dan 10 ml, neraca, rak tabung reaksi, neraca *triple beam*, pisau, oven kering, *vacum pump*,

vacum flask, *rotary evaporator*, *water bath*, labu sampel dan labu pelarut, *Laminar Air flow* (LAF), lampu spiritus, tabung reaksi, jarum inokulasi ujung lurus dan ujung berkolong, serta inkubator dengan suhu 37°C.

Bahan-Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini ialah, daun sesuruhan, daun suruhan, biakan murni *Candida albicans*, medium SDA instan, etanol 96%, kertas saring, *cotton bud*, vaselin, alumunium voil, aquades, kertas label, kapas, kertas sampul, *Celulose Nitrat Membrane Filter* dengan diameter 47 mm dan diameter pori 0,45µm, alumunium voil, BaCl₂, H₂SO₄.

Prosedur Kerja

1. Penyiapan Ekstrak Daun Sesuruhan dan Daun suruhan

Bahan segar dari dua macam bahan berupa daun sesuruhan dan daun suruhan sebanyak 300 gr dicuci, dikering anginkan lalu dihaluskan dengan blender laboratorium hingga menjadi bubuk. Kemudian dimasukkan dalam botol dan ditambahkan dengan 200 ml etanol 95% lalu diaduk dan dimaserasi selama 3x24 jam. Selanjutnya dilakukan penyaringan dengan kasa berlapis kapas steril. Kemudian dilakukan penyaringan steril menggunakan *Celulose Nitrat Membrane Filter* yang dipasang pada *vacum flask* yang dihubungkan dengan *vacum pupm*. Lalu maserat diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* hingga ekstrak bebas dari etanol 95%. Ekstrak diencerkan pada beberapa macam konsentrasi yaitu 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90% dengan pelarut *solutio petit*.

2. Perlakuan Ekstrak Daun Sesuruhan dan Daun Suruhan pada *Candida albicans*

Biakan *Candida albicans* dalam medium SDC yang telah distandarisasi larutan 0,5 Mc Farland, diinokulasikan



dalam permukaan media SDA menggunakan *cotton bud* steril. Pada medium lempeng SDA tersebut dibuat lubang sumuran secara aseptik menggunakan bor gabus steril dengan diameter 5 mm. Semua lubang sumuran pada medium SDA tersebut ditetesi dengan ekstrak daun sesuruhan dan daun suruhan sebanyak $\pm 0,1$ ml pada berbagai konsentrasi yaitu, 10%, 20%, 30, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 90%. Kontrol negatif menggunakan solutio petit dan kontrol positif menggunakan Nystatin.

Semua cawan petri yang telah diperlakukan dengan ekstrak kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 1x24 jam.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

Data hasil pengukuran diameter zona hambat pertumbuhan *Candida albicans* yang diperlakukan dengan ekstrak etanol daun sesuruhan dan suruhan dianalisis dengan ANAVA ganda dan dilanjutkan dengan uji BNT 1%.

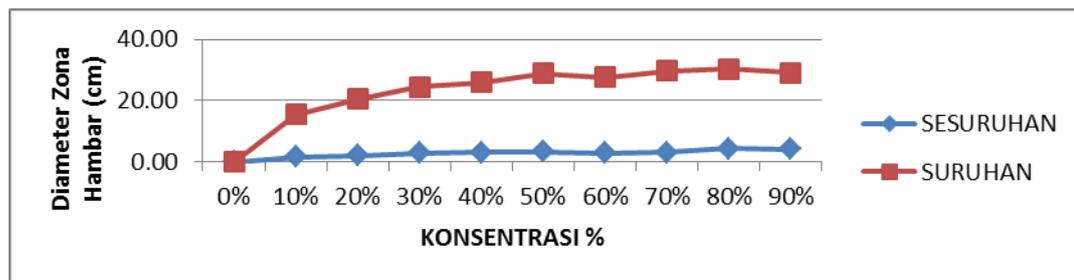
Tabel 1. Ringkasan ANAVA pada pengaruh Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Sesuruhan dan Suruhan terhadap Penghambatan Pertumbuhan Koloni *Candida albicans*.

Sumber Keragaman	db	JK	KT	Fhitung	Ftabel 1%
Perlakuan	19	189,2236			
A (varietas)	1	125,6367	125,6367	9482,5	7,31
B (konsentrasi)	9	48,4099	5,3878	407,5	2,88
AB	9	15,1769	1,6863	127,5	2,88
Galat	40	0,5288	0,0132		
Total	59	189,7524			

Hasil analisis data pengaruh ekstrak etanol daun sesuruhan dan daun suruhan terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans* menunjukkan hasil bahwa terdapat pengaruh yang signifikan. Terbukti ada pengaruh signifikan dua spesies famili Pipireceae yaitu daun sesuruhan dan daun suruhan terhadap pengambatan pertumbuhan *C.albicans* yaitu $F_{hitung} A > F_{tabel} A$. Konsentrasi ekstrak etanol daun sesuruhan dan daun suruhan terbukti berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans*.

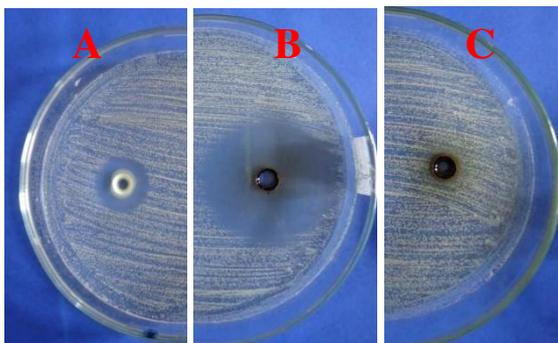
Hasil uji BNT 1% membuktikan bahwa ada pengaruh yang signifikan perbedaan ekstrak etanol daun sesuruhan dan daun suruhan dalam berbagai macam konsentrasi dalam menghambat

pertumbuhan *C.albicans*. Konentration ekstrak etanol daun sesuruhan dan daun suruhan yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans* adalah 80% (Lihat Gambar 2). Konsentrasi efektif kedua spesies daun tersebut sama, namun besarnya zona hambat yang terbentuk pada konsentrasi tersebut jauh berbeda. Menurut Davis Stout dalam Ardiansyah (2005) kriteria kekuatan daya hambat daun sesuruhan pada konsentrasi efektif yaitu 80% adalah lemah dengan diameter < 5 mm. Kriteria kekuatan daya hambat daun suruhan pada konsentrasi efektif yaitu 80% adalah sangat kuat dengan diameter >20 mm.



Gambar 1 menunjukkan grafik pengaruh ekstrak etanol daun sesuruhan dan daun suruhan dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans*.

Berdasarkan Gambar 1 diketahui bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak daun sesuruhan terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans* dengan konsentrasi 10% sampai 90% yang ditunjukkan dengan grafik yang cenderung semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun sesuruhan. Gambar 1 juga menunjukkan bahwa ada pengaruh pemberian ekstrak daun suruhan terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans* dengan konsentrasi 10% sampai 90% yang ditunjukkan dengan grafik yang cenderung semakin meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak daun suruhan.



Gambar 2. Daya Hambat Pertumbuhan *Candida albicans* oleh Ekstrak Etanol Daun Suruhan dan Sesuruhan

Keterangan:

A = Zona Hambat Pertumbuhan oleh Nystatin 100.000 UI

B.= Zona Hambat Pertumbuhan oleh ekstrak daun suruhan konsentrasi 80%;

C = Zona Hambat Pertumbuhan oleh ekstrak daun sesuruhan konsentrasi 80%

Kontrol positif dalam penelitian ini menggunakan antifungal Nystatin. Zona

hambat Nystatin yang dihasilkan yaitu 11,5 mm (Lihat Gambar 2). Berdasarkan ketentuan kekuatan antimikroba menurut

Davis Stout, Nystatin masuk dalam kategori kuat. Daya antifugal Nystatin dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans* dalam penelitian ini lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak etanol daun suruhan.

Candida sp. dikenal sebagai jamur dimorfik yang merupakan flora normal dari saluran pencernaan, saluran pernafasan bagian atas dan mukosa genital pada mamalia salah satu spesies terkenalnya adalah *Candida albicans*. *C.albicans* dapat menyebabkan penyakit, diantaranya sariawan, vulvovaginitis, kandidiasis vagina, kandiduria atau bahkan dapat menjadi komplikasi kanker (Suprihatin, 1982). Penyakit yang sering dikeluarkan oleh para wanita adalah kandidiasis vagina atau keputihan. Kandidiasis vagina disebabkan oleh beberapa spesies khamir, diantaranya *Candida albicans*, *Torulopsis glabrata* dan *Candida stellatoidea*. Di antara spesies *Candida* yang menjadi penyebab kandidiasis, hanya *Candida albicans* yang mempunyai presentase terbesar penyebab kandidiasis yaitu sekitar 85 %-90 % (Sobel, 1999).

Pengobatan terhadap penyakit keputihan ini dilakukan dengan pemberian obat antifugal, baik sintetis maupun alami. Obat antifungal sintetis salah satu diantaranya yaitu Nystatin. Nystatin merupakan agen antifungal golongan polyene dan antifungal sintetis pertama yang



ditemukan (Suprihatin, 1982). Mekanisme penghambatan Nystatin dalam menghambat pertumbuhan sel jamur yaitu dengan berikatan dengan sterol dan dapat membentuk pori. Pori tersebut akan mengganggu integritas membran sel dan dapat menyebabkan kebocoran elektrolit seperti ion K^+ (Hogg, 2005). Hal ini dapat mempengaruhi aktivitas metabolisme, sehingga terjadi penurunan ATP dan kematian sel.

Selain menggunakan obat sintetik banyak masyarakat yang juga menggunakan bahan alam seperti tumbuhan sebagai obat antifungal. Penelitian ini menggunakan daun yang berasal dari famili Piperaceae yaitu daun sesuruhan (*Piper aduncum* L.) dan daun suruhan (*Piperomia pellucida* L.). Berdasarkan hasil penelitian terbukti bahwa kedua daun tersebut mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, yang ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening disekitar lubang sumuran yang telah ditetesi masing-masing ekstrak etanol kedua daun tersebut. Hasil analisis menggunakan ANAVA menjelaskan bahwa ada pengaruh signifikan spesies Piperaceae yaitu daun sesuruhan dan daun suruhan terhadap penghambatan pertumbuhan *C.albicans*. Kemampuan tersebut berhubungan dengan kandungan senyawa antifungal dari kedua daun tersebut dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans*. Kedua daun ini mengandung senyawa antifungal seperti alkaloid, flavonoid, tanin dan saponin (Mishra, 2010).

Dinding sel *C.albicans* tersusun oleh *fibrillar layer*, *mannoprotein*, β *lactan*, β *glucan kitin*, *mannoprotein* dan membran plasma (Kusumaningtyas, 2009). Membran sel *Candida* tersusun dari ergosterol. Beberapa kemungkinan senyawa kimia yang berada pada kedua ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans* adalah mempengaruhi struktur sel yang sangat penting, yaitu dinding sel dan membran sel. Senyawa tanin yang terdapat dalam ekstrak

mampu menghambat sintesis khitin yang berguna dalam pembentukan dinding sel, selain itu tanin juga mempengaruhi kinerja enzim yang berfungsi dalam sintesis ergosterol dalam membran sel jamur (Prayogo dan Sutaryadi, 1991). Saponin yang terdapat dalam ekstrak juga mampu membentuk ikatan dengan sterol pada membran sehingga terbentuk pori dan menyebabkan membran sel menjadi bocor dan berakibat pada kerusakan membran (Rosida,2002). Apabila terjadi kerusakan struktur dinding sel maka membran sel *C. albicans* tidak mempunyai pelindung. Selanjutnya membran sel yang mengalami kerusakan akan kehilangan semi permeabilitasnya, sehingga keluar-masuknya zat-zat nutrisi maupun zat-zat racun tidak terkendali. Hal ini dapat mengakibatkan kematian sel *C.albicans*

KESIMPULAN

Kesimpulan penelitian ini adalah,

1. ada pengaruh ekstrak etanol daun sesuruhan dalam beberapa macam konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan *C. albicans* secara invitro. Makin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun sesuruhan maka makin meningkat daya hambat pertumbuhan *C. albicans*
2. ada pengaruh ekstrak etanol daun suruhan dalam beberapa macam konsentrasi terhadap penghambatan pertumbuhan *C. albicans* secara invitro. Makin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun suruhan maka makin meningkat daya hambat pertumbuhan *C. albicans*
3. ekstrak etanol daun sesuruhan dan daun suruhan pada konsentrasi 80% merupakan konsentrasi yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans* secara invitro.



DAFTAR PUSTAKA

- Aziba PI, Adedeji A, Ekor M et al. Analgesic activity of *Peperomia pellucida* aerial parts in mice. *Fitoterapia* 72: 57-58, 2001
- Hogg, S. 2005. *Essential Microbiology*. John Wiley&Sons Ltd, West Sussex
- Kusumaningtyas, E. 2009. Mekanisme Infeksi *Candida albicans* pada permukaan sel. *Jurnal. Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*. Balai Penelitian Veteriner. Bogor.
- Mishra MP. *Peperomia pellucida*, an Amazing Wild Medicinal Herb. *Ecosensorium*. Org.
<http://www.ecosensorium.org/2010/1/1/peperomia-pellucida-amazing-wild.html>
- Orjala, J., Erdelmeier. CAJ., Wright, AD., Rali T., and Sticher O., 1993. Five new prenylated-hydroxybenzoic acid derivatives with antimicrobial and moluscicidal activity from *Piper aduncum* leaves. *Planta Med.*, 59(6), 546-551
- Prayogo, E.W. dan Sutaryadi. 1991. *Pemanfaatan Sirih Untuk Pelayanan Kesehatan*. *Warta Tumbuhan Indonesia, The Journal on Indonesian Medicinal Plants*. 21-30
- Rosida, J. 2002. Uji Saponin dalam Lidah Buaya, Limbah Buah Mengkudu dan Daun Mimba. *Jurnal Temu Teknis Fungsional Non Peneliti*. 70-76
- Sobel J.D. 1999. *Vulvovaginal Candidiasis*. In : *Sexually Transmitted Diseases*. 3rd., The Mc. Graw – Hill Company : United States of America.
- Suprihatin, S.D. 1982. *Candida dan Kandidiasis pada Manusia*. Jakarta: Gaya Baru

TANYA JAWAB

Penanya : Sisunandar

Pertanyaan:

- a. Setelah diekstraksi memakai etanol, apakah sudah dicoba pelarut lain?

Jawab:

- a. Yang paling sering dipakai yaitu etanol. Mengapa memakai etanol 95 % sebagai pelarut karena etanol merupakan senyawa yang dapat melarutkan senyawa-senyawa aktif yang berada pada daun suruhan dan suuhan hanya larut dalam pelarut non polar yang salah satunya adalah etanol 95 %

Penanya : Yudi Rinanto

Saran:

Sebaiknya penelitian ini dipakai sebagai dasar penelitian lebih lanjut, dengan menganalisis senyawa-senyawa aktif dalam ekstrak daun *Piperomia pellucida* L. untuk mengetahui kadarnya.

