

NASKAH PUBLIKASI

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL
DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP
Candida albicans SECARA *IN VITRO***



DWI KURNIAWAN

I11111076

PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS TANJUNGPURA

PONTIANAK

2015

**HALAMAN PENGESAHAN
NASKAH PUBLIKASI**

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL
DAUN KELOR (*Moringa oleifera*) TERHADAP
Candida albicans SECARA IN VITRO**

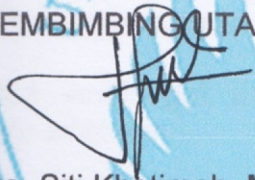
TANGGUNG JAWAB YURIDIS MATERIAL PADA

Dwi Kurniawan

I11111076

DISETUJUI OLEH

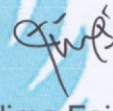
PEMBIMBING UTAMA



Dra. Siti Khotimah, M.Si

NIP. 19670202 199702 2 001

PEMBIMBING KEDUA



dr. Delima Fajar Liana

NIP. 19861205 201212 2 001

PENGUJI PERTAMA



dr. Heru Fajar Trianto, M. Biomed

NIP. 19841013 200912 1 005

PENGUJI KEDUA



dr. Virhan Novianry, M. Biomed

NIP. 19821129 200801 1 002

MENGETAHUI,
DEKAN FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS TANJUNGPURA



dr. Arif Wicaksono, M. Biomed.

NIP. 19831030 200812 1 002

**IN VITRO ANTIFUNGAL ACTIVITY ETHANOL EXTRACT OF MORINGA
(*Moringa oleifera* Lamk.) LEAVES TOWARD *Candida albicans***

Dwi Kurniawan¹, Siti Khotimah², Delima Fajar Liana³

Abstract

Background: Candidiasis is a fungal infection that most often occur. Resistance in case of candidiasis has been widely reported. Moringa leaves (*Moringa oleifera* Lamk.) are used for treating fungal infections.

Objective : The aim of this study was to know antifungal activity, to cognize minimal inhibitory concentration , and to find efective extract concentration of moringa leaves to reduce *Candida albicans* growth.

Methods: Antifungal activity assesment using *Kirby-Bauer* disc difusion method with 100%, 80%, 60%, 40% and 20% concentration. Moringa leaves were extracted with maceration method using ethanol 70% solvent. The positive control in this study was ketoconazole 15 µg/disk, while the negative control was DMSO 10%. **Results:** Ethanol extract of moringa leaves did not perform inhibition zone against *Candida albicans* growth.

Conclusion: Ethanol extract of moringa leaves did not have antifungal activity toward *Candida albicans* growth. Minimum inhibitory concentration and effective concentration of moringa leaves ethanol extract against *Candida albicans* could not be determined.

Keyword: Antifungal, Ethanol Extract of *Moringa oleifera* Lamk. Leaves, *Candida albicans*

Notes

- 1) *Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.*
- 2) *Department of Biology, Faculty of Mathematics and Science, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.*
- 3) *Department of Microbiology, Medical School, Faculty of Medicine, Tanjungpura University, Pontianak, West Kalimantan.*

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL
DAUN KELOR (*Moringa oleifera* Lamk.) TERHADAP PERTUMBUHAN
Candida albicans SECARA *IN VITRO***

Dwi Kurniawan¹, Siti Khotimah², Delima Fajar Liana³

Intisari

Latar Belakang: Kandidiasis merupakan infeksi jamur yang paling sering terjadi. Pengobatan pada kandidiasis sudah banyak ditemukan kasus resistensi. Daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) digunakan masyarakat untuk mengobati infeksi jamur. Penelitian menunjukkan bahwa senyawa metabolit sekunder daun kelor yang memiliki aktivitas antijamur. **Tujuan:** Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur, konsentrasi zona hambat dan menentukan konsentrasi efektif ekstrak etanol daun kelor dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. **Metodologi:** Uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40% dan 20%. Daun kelor diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70%. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazol 15 µg/disk sedangkan kontrol negatif yang digunakan DMSO 10%. **Hasil:** Ekstrak etanol daun kelor tidak membentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. **Kesimpulan:** Ekstrak etanol daun kelor tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi efektif ekstrak etanol daun kelor terhadap *Candida albicans* tidak dapat ditentukan.

Kata Kunci: Antijamur, Ekstrak Etanol Daun *Moringa oleifera* Lamk., *Candida albicans*

-
- 1) Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
 - 2) Program Studi Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat
 - 3) Dapertemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura Pontianak, Kalimantan Barat

PENDAHULUAN

Infeksi adalah invasi dan pembiakan mikroorganisme di jaringan tubuh yang dapat menimbulkan reaksi pertahanan tubuh penjamu.¹ Salah satu infeksi yang sering terjadi adalah infeksi jamur, seperti *Candida albicans* yang merupakan flora normal dalam tubuh manusia. Infeksi *C. albicans* dapat bersifat primer maupun sekunder, tergantung faktor predisposisi dari penjamu itu sendiri. Infeksi *C. albicans* pada manusia biasanya disebut kandidiasis.² Kandidiasis terjadi di seluruh dunia dan menyerang segala usia, baik laki-laki maupun wanita, tetapi data menunjukkan bahwa 70% penderitanya adalah wanita. Data tahun 2013 di RSCM dilaporkan 26,4% penderita AIDS menderita kandidiasis.³ Kasus kematian yang disebabkan kandidiasis berada dikisaran 30-40% per tahun.⁴

Terapi pada kandidiasis adalah nistatin, amfoterisin B dan golongan azol. Kasus resistensi terhadap nistatin sebesar 2,95% untuk *C. albicans* dan 7,14% untuk *C. non albicans*.⁵ Kasus resistensi *C. albicans* terhadap flukonazol sebesar 34,07%, 10,99% resisten terhadap vorikonazol, 7,69% resisten terhadap ketokonazol, 6,59% resisten terhadap itrakonazol, 2,19% resisten terhadap klotrimazol dan 1,09% resisten terhadap amfoterisin B.⁶ Pemberian terapi ketokonazol pada kandidiasis juga menimbulkan efek samping seperti mual dan muntah sehingga perlu dipikirkan alternatif terapi pada kandidiasis.⁷

Sebagian besar tanaman di Indonesia dapat digunakan sebagai tanaman obat. Salah satu contoh tanaman obat Indonesia yang sudah lama digunakan adalah kelor (*Moringa oleifera* Lamk.).⁸ Kelor adalah spesies famili *moringaceae* yang paling banyak ditanam. Bagian-bagian tanaman kelor yang telah terbukti sebagai bahan antimikroba diantaranya daun, biji, minyak, bunga, akar, dan kulit kayu.⁹ Daun kelor merupakan salah satu obat yang secara tradisional digunakan oleh masyarakat sebagai obat kulit akibat infeksi jamur dengan cara digosokkan.¹⁰

Kelor mengandung asam amino, kalsium, antioksidan, antibakteri, seperti 4 *a-Lrhamnosyloxy benzyl isothiocyante* serta zat-zat yang lain.¹¹

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kiptiyah (2008) menemukan bahwa ekstrak daun kelor mengandung saponin, triterpenoid, dan tanin dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans*.¹² Selain itu, menurut Raharjo *et al.* (2012) kandungan flavonoid dan saponin pada ekstrak etanol daun kelor dapat memberikan efek antijamur terhadap *Malassezia furfur*.¹³

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol daun kelor dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*, untuk mengetahui konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak etanol daun kelor terhadap *C. albicans* dan untuk mengetahui konsentrasi efektif ekstrak daun kelor dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain pisau, wadah plastik, lemari pendingin, *blender*, sendok tanduk, *soxhlet* 500 mL *round bottom flask*, *extraction thimble for soxhlet glassware system* 25 mL, *vacuum rotary evaporator*, *water bath*, timbangan analitik, sendok *stainless*, *oven*, *hot plate*, inkubator, krusibel porselen, desikator, corong kaca, pinset, *Biological Safety Cabinet* (BSC), *Laminar Air Flow* (LAF) *cabinet*, autoklaf, labu ukur 25 mL dan 10 mL, gelas ukur 50 mL dan 10 mL, vial, erlenmeyer, *beaker glass*, cawan penguap, tabung reaksi, toples kaca, batang pengaduk, *object glass*, *cover glass*, cawan petri, pipet tetes, penggaris, prevorator, pecandang, pipet pasteur, batang L/drugal, jarum ose, mikroskop, sendok *stainless*, tip dan mikropipet, pembakar bunsen.

Bahan

Daun kelor diambil di Desa Rasau Jaya, Kecamatan Rasau Jaya, Kabupaten Kubu Raya. Jamur uji yang digunakan pada penelitian ini adalah kultur murni *Candida albicans* yang merupakan koleksi dari Unit Laboraturium Kesehatan (ULK) Pontianak.

Bahan non kimia berupa akuades, *aluminium foil*, kertas saring Whatman no. 1, kertas sampul coklat, kain kasa, kapas, plastik tahan panas. Bahan kimia berupa ketokonazol 15µg/disk, *dymethyl sulfoxide* (DMSO) 10%, etanol 70%, spiritus, pereaksi Mayer, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendorff, kalium iodida, magnesium (Mg), asam klorida (HCL) pekat, besi (III) klorida (FeCl₃) 5%, besi (III) klorida (FeCl₃) 1%, pereaksi Molisch, asam asetat (CH₃COOH) glasial, H₂SO₄ pekat, kloroform (CH₃Cl), *sabouraud dextrose agar* (SDA), Standar McFarland 0,5, larutan *lactophenol cotton blue* (LPCB), larutan karbol gentian violet, larutan lugol, larutan alkohol 96%, larutan safranin, larutan fuchsin, larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%.

Pembuatan Ekstrak

Sebanyak 181 g serbuk daun kelor dimaserasi dalam etanol 70% hingga simplisia terendam seluruhnya. Selanjutnya disaring dengan saringan kasar hingga diperoleh filtrat I dan ampas I. Ampas I, dimaserasi kembali dalam etanol 70% dengan perbandingan 1:2. Setelah itu, disaring lagi untuk mendapatkan filtrat II dan ampas II. Hal yang sama dilakukan untuk memperoleh ampas III. Filtrat I, II, dan III digabungkan kemudian diuapkan menggunakan *rotary vacuum evaporator*.

Skrining Fitokimia

Pemeriksaan Fenol

Ekstrak sampel sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa tetes air panas dan beberapa tetes pereaksi FeCl₃ 1%. Jika warna larutan berubah menjadi warna hijau, biru, atau ungu menunjukkan adanya senyawa fenol.¹⁴ Pemeriksaan dilakukan triplo.

Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak senyawa sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan beberapa mg serbuk Mg dan larutan HCl pekat. Perubahan warna larutan menjadi warna merah tomat menandakan adanya flavonoid.¹⁵ Pemeriksaan dilakukan triplo.

Pemeriksaan Tanin

Ekstrak sampel dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi masing-masing sebanyak 1 ml, lalu ditambahkan 2 ml FeCl_3 pada tabung reaksi. Pada tabung reaksi terbentuknya warna biru kehitaman menandakan adanya tanin.¹⁵ Pemeriksaan dilakukan triplo.

Pemeriksaan Saponin

Ekstrak sampel sebanyak 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 5 ml air panas, setelah itu didinginkan dan dikocok secara kuat selama 10 menit sehingga terbentuk buih yang menunjukkan adanya saponin.¹⁵ Pemeriksaan dilakukan triplo.

Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak sebanyak 1 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan 1 ml HCl 2N. Masing-masing 1 ml filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi 1, 2, dan 3. Kemudian ditambahkan dua tetes pereaksi Mayer pada tabung 1, dua tetes pereaksi Wagner pada tabung reaksi 2, dan dua tetes pereaksi Dragendorff pada tabung reaksi 3. Hasil positif ditandai dengan terbentuk endapan putih pada tabung reaksi 1, endapan coklat pada tabung reaksi 2, dan endapan *orange* pada tabung reaksi 3.¹⁴ Pemeriksaan dilakukan triplo.

Pemeriksaan Steroid dan Terpenoid

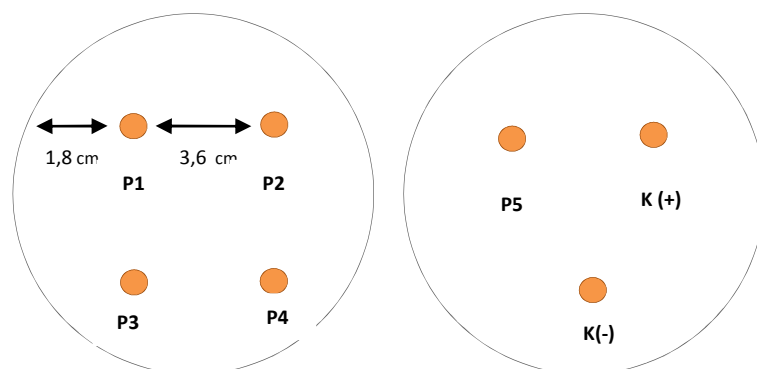
Ekstrak sampel sebanyak 2 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan 2 ml asam asetat glasial dan 2 ml larutan asam sulfat pekat. Jika warna larutan berubah menjadi biru atau ungu menandakan adanya kelompok steroid, jika warna larutan berubah menjadi merah menunjukkan adanya kelompok senyawa terpenoid.¹⁵ Pemeriksaan ini dilakukan triplo.

Pengujian Aktivitas Antijamur

Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun kelor terhadap pertumbuhan jamur *C.albicans* dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Tahapan awal yang dilakukan yakni kapas steril dicelupkan ke dalam suspensi jamur uji,

kemudian diputar beberapa kali dan ditekan ke dinding tabung di atas cairan untuk menghilangkan inokulum yang berlebihan pada kapas. Permukaan media SDA diinokulasikan jamur uji dengan mengulaskan kapas berisi suspensi jamur di seluruh permukaan media dengan melakukan *streaking* di seluruh permukaan agar bolak-balik dalam gerakan zig-zag sampai kira-kira 30% dari media agar telah tertutup. Kapas kembali disterilkan, kemudian dilanjutkan kembali mengulaskan kapas pada bagian media agar yang belum diulas, kapas di-*streaking* dua sampai tiga kali dengan melanjutkan pola zig-zag. Diputar sekitar 60° untuk memastikan pemerataan inokulum.¹⁶

Tahapan berikutnya yakni kertas cakram yang telah direndam dalam larutan sampel ekstrak etanol daun kelor, kontrol positif dan kontrol negatif selama 15 menit ditempatkan pada permukaan media SDA yang telah diinokulasi jamur uji menggunakan pinset steril. Setelah itu, baru masing-masing kertas cakram berukuran 6 mm sebanyak 4 buah diletakan di atas media SDA tersebut dengan jarak tiap cakram sebesar 3 cm dan dari tepi lempeng sebesar 2 cm.^{16,17}



Gambar 1. Tata Letak Cakram pada Media Uji Antijamur

Media yang telah berisi jamur uji kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2x24 jam.¹ Biakan jamur dalam media SDA tersebut diamati ada atau tidak zona hambat yang terbentuk kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong untuk mengetahui aktivitas dan sifat antijamur ekstrak etanol daun kelor.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Seluruh perlakuan pada subjek penelitian telah lolos etik oleh kaji etik FK Untan (531/UN22.9/DT/2015).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan di Laboratorium Non-Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Skrining tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun kelor mengandung metabolit sekunder berupa fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan triterpenoid. Hasil skrining fitokimia dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia

No	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Hasil	Keterangan
1.	Fenol	Aquades+FeCl ₃ 1%	+	Warna hijau
2.	Flavonoid	Mg+HCl pekat	+	Warna merah tomat
3.	Tanin	FeCl ₃ 5%	+	Warna hijau kehitaman
4.	Saponin	Aquades	+	Adanya busa
5.	Alkaloid	Mayer	+	Adanya endapan putih
		Wagner	+	Adanya endapan coklat
		Dragendroff	+	Adanya endapan orange
6.	Steroid	CH ₃ COOH+H ₂ SO ₄	-	Warna merah
7.	Triterpenoid	CH ₃ COOH+H ₂ SO ₄	+	Warna merah

Keterangan:

Tanda (+) : Positif, ada kandungan senyawa

Tanda (-) : Negatif, tidak ada kandungan senyawa

Uji Aktivitas Antijamur

Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun kelor terhadap pertumbuhan *C. albicans* setelah diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C menunjukkan tidak adanya zona hambat yang terbentuk. Data hasil uji tidak dapat dilakukan uji statistik. Hasil uji dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil aktivitas antijamur ekstrak daun kelor dengan beberapa konsentrasi

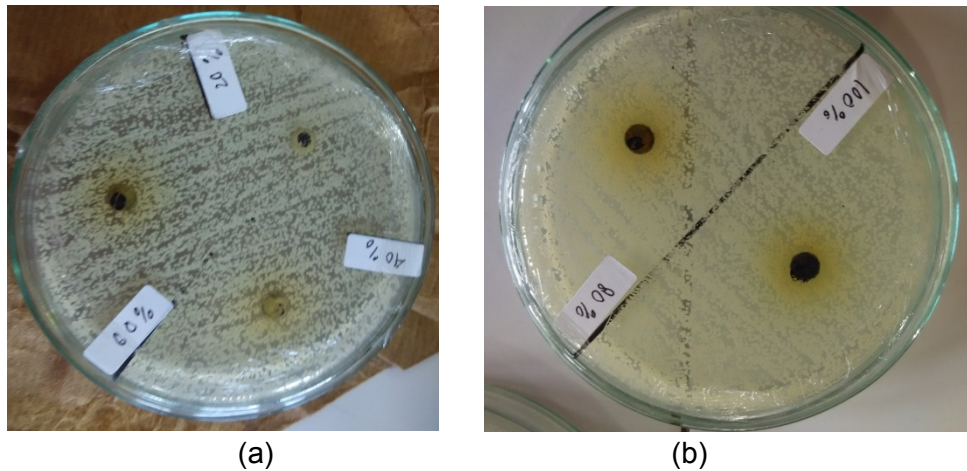
No	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan Ke-				
		I	II	III	IV	
1.	20%	0	0	0	0	0
2.	40%	0	0	0	0	0
3.	60%	0	0	0	0	0
4.	80%	0	0	0	0	0
5.	100%	0	0	0	0	0

Hasil uji aktivitas antijamur ketokonazol 15µl/disk sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif terhadap pertumbuhan *C. albicans* setelah diinkubasi selama 2x24 jam pada suhu 37°C dapat dilihat pada tabel 3.

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antijamur kontrol positif dan kontrol negatif

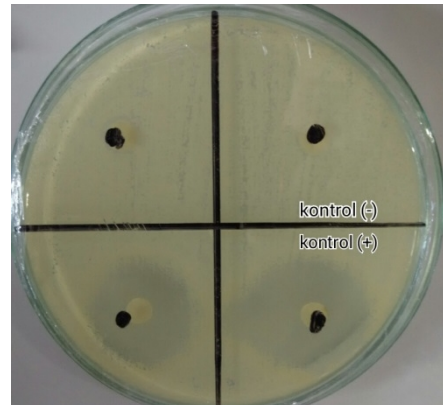
No	Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)
		Pengulangan Ke-				
		I	II	III	IV	
1.	Kontrol (+)	28,2	27,9	29,1	28,7	28,475
2.	Kontrol (-)	0	0	0	0	0

Uji aktivitas antijamur pada penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi ekstrak etanol daun kelor, yaitu 100%, 80%, 60%, 40% dan 20%. Pengenceran untuk membuat variasi konsentrasi menggunakan DMSO 10%. Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun kelor terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% tidak menunjukkan adanya zona hambat yang terbentuk (Gambar 2).



Gambar 2. Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kelor. (a) Konsentrasi 20%, 40% dan 60%. (b) Konsentrasi 80% dan 100%. (Data Primer, 2015)

Selain itu juga dilakukan perlakuan kontrol, yaitu ketokonazol 15 μ l/disk sebagai kontrol positif dan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Ketokonazol dipilih karena merupakan golongan azol yang paling baik dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.¹⁸ Hamdanah (2012) juga mengatakan bahwa ketokonazol lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* dibandingkan golongan antijamur yang lain.¹⁹ DMSO merupakan pelarut polar aprotik yang dapat melarutkan baik senyawa polar dan non polar serta larut dalam berbagai pelarut organik maupun air. DMSO 10% digunakan karena pada konsentrasi ini diharapkan dapat melarutkan dengan baik senyawa yang ada pada ekstrak serta tidak memberikan efek antijamur terhadap *C. albicans*.^{20,21} Kontrol positif ketokonazol menunjukkan adanya zona hambat dengan diameter rata-rata 28,475 (Gambar 3). Menurut Rosco (2011) diameter zona hambat yang diujikan pada jamur *C. albicans* dengan menggunakan ketokonazol 15 μ l/disk dinyatakan sensitif.²² Sedangkan kontrol negatif DMSO 10% tidak menunjukkan adanya zona hambat (Gambar 3).



Gambar 3. Uji Aktivitas Kontrol Positif dan Kontrol Negatif (Data Primer, 2015)

Ekstrak etanol daun kelor tidak dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Sedangkan, pada perlakuan kontrol positif menggunakan ketokonazol dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini kemungkinan dikarenakan senyawa yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun kelor tidak dapat menghambat sintesis ergosterol pada membran sel *C. albicans* seperti pada kontrol positif.

Faktor teknis dapat mempengaruhi hasil penelitian sehingga perlu dikontrol oleh peneliti. Pengolahan sampel uji telah mengikuti prosedur yang sesuai. Simplisia diekstraksi menggunakan pelarut etanol 70% untuk menarik senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun kelor. Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Maserasi merupakan proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada suhu ruangan. Keuntungan metode ini adalah prosedur dan peralatan yang digunakan sederhana, metode ekstraksi tidak dipanaskan sehingga bahan alam tidak menjadi terurai. Ekstraksi dingin seperti maserasi memungkinkan banyak senyawa terekstraksi, meskipun ada beberapa senyawa memiliki kelarutan terbatas pada pelarut ekstraksi pada suhu ruang.²³

Faktor teknis lain yang dikontrol yaitu kertas cakram, besar inokulum, lama inkubasi, medium, pH dan suhu lingkungan. Kertas cakram yang digunakan adalah kertas Whatman no. 1 yang sesuai standard.²⁴ Besar inokulum *C. albicans* sesuai dengan standard McFarland 0,5 atau setara

dengan 10^8 fungi/ml yang dikonfirmasi dengan spektrofotometri. Lama inkubasi *C. albicans* yaitu 24-48 jam. Medium yang digunakan adalah SDA yang merupakan media standard untuk jamur. pH medium dalam rentang 4,5-6,5. Suhu yang digunakan yaitu 37 °C. Jamur *C. albicans* dapat tumbuh pada suhu ruangan atau suhu 37 °C.¹

Jenis pelarut yang digunakan dalam penelitian juga mempengaruhi kandungan senyawa yang ada dalam ekstrak. Pelarut yang digunakan harus memiliki sifat kepolaritasan yang sama dengan senyawa yang akan ditarik.²⁵ Etanol dapat menarik senyawa metabolit sekunder dalam daun dalam jumlah hampir sama jika dibandingkan pelarut lain, seperti metanol, etil asetat, n-heksana maupun air. Etanol juga dapat mengoptimalkan penarikan beberapa senyawa dengan berat molekul rendah seperti saponin dan flavonoid.^{25,26} Konsentrasi etanol yang digunakan adalah etanol 70% dengan komposisi 70% etanol dan 30% air. Etanol 70% merupakan pelarut yang sesuai untuk mengekstraksi suatu simplisia.^{27,28} Kemurnian pelarut etanol terendah yang dapat melarutkan suatu senyawa metabolit sekunder adalah 66%, sehingga etanol 70% diharapkan dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder sama baiknya dengan konsentrasi etanol yang lebih tinggi. Namun demikian etanol dengan konsentrasi yang lebih besar akan mempermudah pemisahan senyawa metabolit sekunder dari pelarut.²⁹

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam ekstrak etanol daun kelor adalah fenol, flavonoid, tanin, saponin, alkaloid dan triterpenoid, sedangkan senyawa steroid tidak ada. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa daun kelor memiliki senyawa-senyawa metabolit sekunder tersebut.^{12,13}

Fenol memiliki potensi antijamur karena dapat mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membran sel menjadi lisis dan dapat menembus ke dalam inti sel.³⁰ Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran dan dinding sel serta dapat mengganggu metabolisme sel

dengan cara menghambat transport nutrisi.³¹ Tanin dapat menghambat pembentukan enzim C-14 demetilase yang berperan dalam sintesis ergosterol dan menghambat sintesis kitin pada dinding sel. Saponin dapat melisiskan membran sel mikroba dan menghambat DNA polimerase sehingga sintesis asam nukleat terganggu.^{32,33} Alkaloid dapat menghambat sintesis asam nukleat dan mempengaruhi ergosterol pada *C. albicans*.^{34,35} Triterpenoid dan steroid memiliki aktivitas antijamur dengan cara mempengaruhi permeabilitas membran sel yang akhirnya dapat menyebabkan membran sel lisis.³⁶

Meskipun mengandung fenol, flavonoid, tanin, saponin dan triterpenoid, ekstrak daun kelor tidak memiliki zona hambat sebagai antijamur pada pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini diduga karena jumlah dari kandungan senyawa metabolit sekunder yang telah disebutkan tidak adekuat untuk menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Skrining fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini hanya dapat membuktikan adanya suatu senyawa metabolit sekunder secara kualitatif, tidak secara kuantitatif. Kadar kandungan senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang tumbuh pada daerah dengan ketersediaan air yang tinggi dikatakan lebih sedikit dibandingkan dengan tanaman pada daerah yang lebih kering.^{37,38} Selain itu, belum ada penelitian yang menyebutkan jumlah minimal suatu senyawa metabolit sekunder untuk menghambat *C. albicans*. Sehingga tidak dapat ditentukan apakah jumlah senyawa metabolit sekunder yang didapat dari ekstrak etanol daun kelor tidak cukup untuk menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Padahal jika dibandingkan dengan pengujian pada mikroba yang lain, pengujian aktivitas suatu ekstrak sebagai antijamur, khususnya *C. albicans*, dibutuhkan senyawa metabolit sekunder yang lebih banyak dan lebih spesifik.³⁹ Selain itu, tidak adanya kandungan steroid pada ekstrak etanol daun kelor juga mempengaruhi hasil penelitian. Steroid dikatakan punya potensi sebagai antijamur karena dapat menghambat pembentukan ergosterol. Ergosterol merupakan komponen membran plasma dan

berperan dalam pembentukan kitin yang merupakan komponen polisakarida dinding sel dan mempunyai peran penting dalam pertunasan *C. albicans*.^{40,41,42,43} Mekanisme kerja steroid ini sebenarnya sama dengan kontrol positif ketokonazol yaitu menghambat sintesis ergosterol.⁴⁴

Senyawa metabolit sekunder yang didapat pada penelitian ini juga diduga bukan golongan senyawa yang memiliki potensi sebagai antijamur yang baik. Flavonoid yang memiliki aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* adalah flavonoid golongan flavanon dan flavan. Kemungkinan pada penelitian ini flavonoid yang tersari bukan dari dua golongan tersebut.⁴⁵ Tanin yang didapat merupakan tanin terkondensasi yang tidak memiliki aktivitas antimikroba yang baik jika dibandingkan dengan golongan tanin hidrolisis.⁴⁶ Saponin yang terdapat pada ekstrak etanol daun kelor pada penelitian ini diduga hanya dapat berinteraksi dengan membran sel jamur tanpa merusaknya dikarenakan jumlah gugus gulanya yang terlalu banyak.^{47,48} Golongan alkaloid yang memiliki aktivitas antimikroba adalah *cryptolepine*, diduga senyawa tersebut tidak terkandung dalam ekstrak etanol daun kelor pada penelitian ini.⁴⁹ Triterpenoid yang tersari kemungkinan merupakan golongan triterpenoid hidrokarbon dan asetat yang cenderung bersifat inaktif sehingga tidak memiliki aktivitas antimikroba.⁵⁰

Candida albicans merupakan organisme eukariotik dengan struktur fisik yang terdiri dari dinding sel, membran sel, sitoplasma dan nukleus. Membran selnya terdiri dari fosfolipid ganda (*lipid bilayer*), lapisan terluar kaya akan *phosphatidyl*, kolin, ergosterol dan *sphingolipids*. Ergosterol diduga dapat menahan lisis akibat peningkatan tekanan osmotik. *Sphingolipids* mengandung komponen negatif paling besar pada membran plasma dan memegang peranan penting sebagai target antijamur.^{51,52} Dinding sel *C. albicans* terdiri dari komponen utama berupa *glucans*, kitin, manoprotein dan komponen lainnya berupa lemak dan garam anorganik. Kitin memiliki peran penting dalam menjaga integritas dinding sel *C.*

albicans sehingga zat antijamur tidak dapat masuk ke sitoplasma maupun nukleus sel.⁵³

Faktor virulensi dari *C. albicans* juga dapat mempengaruhi hasil pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol daun kelor. Faktor virulensi ini merupakan faktor yang berperan penting dalam patogenesis *C. albicans*. Adapun faktor-faktor tersebut diantaranya perubahan morfologi, kemampuan adhesi jaringan, *secreted aspartyl proteases* (SAP), sekresi *phospholipase*, perubahan fenotipik dan pembentukan biofilm.⁵³

C. albicans membentuk klamidospora yaitu spora aseksual pada bagian ujung hifa yang membentuk dinding tebal dan tampak seperti gram positif sehingga sulit ditembus oleh senyawa antijamur.^{54,55} Protein pada permukaan dinding sel *Candida* juga berperan penting dalam interaksi sel dengan lingkungan, termasuk proses adhesi. Adhesi merupakan tahap awal kolonisasi dan infeksi. Struktur yang berperan adalah adhesin, fimbria, kitin dan molekul mirip integrin. Bentuk miselium bersifat lebih adhesif dan mensekresi enzim hidrolitik yang lebih banyak.⁵⁶ SAP meningkatkan kemampuan *Candida* untuk melakukan kolonisasi dan menghindari dari zat yang berpotensi membahayakan hidupnya.⁵⁷ *Candida* dapat bertransisi menjadi hifa atau miselial atau *filamentous*. Transisi ini dapat memudahkan *Candida* beradaptasi dengan lingkungannya.⁵⁸ Bentuk hifa *Candida* menghasilkan SAP dan fosfolipase yang dapat meningkatkan kemampuan invasi.⁵³ Peningkatan pembentukan biofilm juga dapat terjadi jika senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun kelor tidak adekuat dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini terjadi karena lingkungan yang kurang baik dan berpotensi toksik pada *C. albicans* seperti adanya *sub minimum biofilm inhibitory concentration* (sub-MBIC) dari senyawa antibiofilm akan menginduksi pembentukan biofilm. Sub-MBIC ini akan meningkatkan ekspresi operon *ica* yang terdiri dari *icaADBC* yang merupakan gen penyandi pembentukan *Polysaccharide Intercellular Adhesion* (PIA) yang berperan dalam adhesi intraseluler dan akumulasi pembentukan biofilm.^{59,60,61}

Ekstrak etanol daun kelor tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *C. albicans* seperti yang telah dijelaskan sebelumnya. Hal ini diduga karena pelarut etanol tidak dapat menyari senyawa metabolit sekunder spesifik yang dapat berperan sebagai antifungi sehingga senyawa metabolit sekunder yang didapat tidak adekuat dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

KESIMPULAN

Berdasarkan data dan pembahasan pada penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *C. albicans*. KHM dan konsentrasi efektif ekstrak etanol daun kelor terhadap *C. albicans* tidak dapat ditentukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kayser F, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel R M, Medical microbiology, New York: Thieme; 2005.
2. Sasongkowati. Identifikasi *Candida sp* menggunakan primer campuran spesifik dengan teknik PCR multiplex terhadap target DNA topoisomerase II. [Tesis]. Surabaya: Universitas Airlangga; 2007.
3. Amin Z, Uyainah A, Yuniastuti E, Djoerban Z. Profil pasien TB-HIV dan non TB-HIV di RSCM. Buletin Penelitian Kesehatan. 2013; 41(4): 195-9.
4. Colombo AL, Nucci M, Park BJ, Nouer AS, Arthington-Skaggs B, da Matta DA, *et al.* Epidemiology of candidemia in Brazil: a nationwide sentinel surveillance of candidemia in Eleven Medical Centers. J Clin Microbiology. 2004; 44(8): 2816-23.
5. Astuti NF. Perbandingan resistensi *Candida albicans* dan *Candida non albicans* terhadap flukonazol dan nistatin. [Tesis]. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada; 2013.
6. Sharma PC, More SR, Raut SS, Rathod VS. In vitro antifungal susceptibility pattern of oropharyngeal and oesophageal *Candida*

- species in HIV infected patients. *International Journal of Health Sciences and Research*. 2013; 3(5): 1-6.
7. Bahry B dan Setiabudy R. Obat jamur, dalam farmakologi dan terapi FKUI, Ed ke-5. Jakarta: Badan Penerbit FKUI; 2011.
 8. Agustini N dan Panjaitan T. Meningkatkan produksi biomas kelor pada lahan kering iklim kering. Nusa Tenggara Barat: Kementrian Pertanian; 2010.
 9. Fahey J W. *Moringa oleifera*: A Review of The Medical Evidence for Its Nutritional, Therapeutic, and Prophylactic Properties Part 1. [internet]. *Trees for Life Journal*. 2005. <http://www.tfljournal.org/article.php/20051201124931586>. Diakses pada 13 Juli 2014.
 10. Krisnadi AD. Kelor (*Moringa oleifera*).Kunduran Blora: Morindo; 2015.
 11. Goyal BR, Agrawal BB, Goyal RK, Mehta AA. Phyto-pharmacology of *Moringa oleifera* Lamk. an overview. *Natural Product Radiance*. 2007; 6(4): 347-53.
 12. Kiptiyah M. Antibacterial activity of *Moringa oleifera* leaves extract to the growth of *Streptococcus mutans*. [internet]. 2008. <http://digilib.its.ac.id/uji-aktivitas-antibakteri-ekstrak-daun-kelor-moringa-oleifera-terhadap-pertumbuhan-bakteristreptococcus-mutans-2600.html>. Diakses pada 21 Mei 2013.
 13. Raharjo B, Erwiyani AR, Susana MASD. Uji aktivitas antijamur dan bioautografi ekstrak etanol daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) terhadap *Malassezia furfur*. [Skripsi]. Semarang: Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ngudi Waluyo Ungaran; 2012.
 14. Atmoko T dan Ma'ruf A. Uji toksisitas dan skrining fitokimia ekstrak tumbuhan sumber pakan orangutan terhadap larva *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian dan Konservasi Alam*. 2009; 6(1): 37-45.
 15. Gupta C, Garg AP. Gupta S. Antimicrobial and phytochemical studies of fresh ripe pulp and dried unripe pulp of *Mangifera indica* (AMCHUR). *Middle-East Journal of Scientific Research*. 2010; 5(2): 75-80.
 16. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance standards for antimicrobial testing: twenty-second informational supplement. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2012; 32(3): 100-22.

17. Waluyo. Mikrobiologi umum. Malang: UMM Press; 2008.
18. Brunton LL, Parker KL, Blumenthal DK, Buxton ILO. Goodman and Gilman's manual of pharmacology and theurapeutics. Jakarta: EGC. 2010.
19. Hamdanah. Keragaman kepekaan *Candida albicans* yang diisolasi dari lokasi peternakan sapi perah terhadap beberapa anticendawan. [Skripsi]. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012.
20. Badan Pengawas Obat dan Makanan (BPOM). Acuan sediaan herbal volume ke-5. Jakarta: Direktorat Obat Asli Indonesia; 2010.
21. Effendy L. Potensi antijamur kombinasi ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) dan kelopak bunga rosella (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) terhadap *Candida albicans*. Calyptra: Jurnal Ilmiah Mahasiswa Universitas Surabaya. 2013; 2(1): 1-10.
22. Rosco. Susceptibility Testing of Yeast. Denmark: Rosco Diasnotica; 2011.
23. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamso EM. Fundamental of pharmacognosy and phytotherapy. Hungaria: Elsevier; 2004.
24. National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). Reference method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS document M44-A. Wayne: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2004
25. Sudarmadji S, Haryono B, Suhardi. Analisis untuk bahan makanan dan pertanian. Yogyakarta: Liberty; 1989.
26. Septiana AT dan Asnani A. Kajian sifat fisikokimia ekstrak rumput laut coklat (*Sargassum duplicatum*) menggunakan berbagai pelarut dan metode ekstraksi. Agrountek. 2012; 6(1): 22-8.
27. Wijesekera ROB. The medicinal plant industry. Washington DC: CRC Press; 1991.
28. Arifianti L, Oktarina RD, Kusumawati I. Pengaruh jenis pelarut pengestraksi terhadap kadar sinensetin dalam ekstrak daun *Orthosiphon stamineus* Benth. E-Journal Planta Husada. 2014; 2(1): 1-4.
29. Marnoto T, Haryono G, Gustinah D, Putra FA. Ekstraksi tannin sebagai bahan pewarna alami dari tanaman putrimalu (*Mimosa pudica*) menggunakan pelarut organik. Reaktor. 2012; 14(1). 39-45.

30. Sulistyawati D dan Mulyati S. Uji aktivitas infusa daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.) terhadap *Candida albicans*. Biomedika. 2009; 2(1): 47-51.
31. Nurhafani F. Perbandingan potensi antimikroba ekstrak n-heksana daun kelor (*Moringa oleifera*) dengan kulit biji (pericarp) jambu mete (*Anacardium occidentale*) terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. [Skripsi]. Malang: Universitas Brawijaya; 2012.
32. Davidson MW. Saponin. [internet] 2004. <http://micro.magnet.fsu.edu/phytochemicals/pages/saponin.html>,. Diakses pada 30 Maret 2015.
33. Lingga ME dan Rustama MM. Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak air dan etanol bawang putih (*Allium sativum* L.) terhadap bakteri Gram negatif dan Gram positif yang diisolasi dari udang dogol (*Metapenaeus monoceros*), udang lobster (*Panulirus sp.*) dan udang rebon (*Mysis dan Acetes*). [internet]. Jurnal Biotika. 2005. <http://jurnal.unpad.ac.id/biotika/article/view/337>. Diakses pada 2 April 2015.
34. Aniszewski T. Alkaloid-secrets of life. Belanda: Elsevier. 2007.
35. Freiesleben S dan Jäger A. Correlation between plant secondary metabolites and their antifungal mechanisms-a review. Medicinal and Aromatic Plants. 2014; 3(2): 1.
36. Liu J dan Nes W D. Steroidal triterpenes: design of substrate-based inhibitors of ergosterol and sitosterol synthesis. Molecules. 2009; 14(11): 4690-706.
37. Hopkins WG. Introduction to plant physiology. Toronto: John Wiley and Sons Inc; 1999.
38. Solichatun, Anggarwulan E, Mudyantini W. Pengaruh ketersediaan air terhadap pertumbuhan dan kandungan bahan aktif saponin tanaman ginseng jawa (*Talinum paniculatum* Gaertn.). Biofarmasi. 2005; 3(2): 47-51.
39. Permatasari KI, Periadnadi, Nasir N. Uji antimikroba ekstrak segar jahe-jahean (*Zingiberaceae*) terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* dan *Candida albicans*. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 2013; 2(1): 20-4.
40. Deacon T. The symbolic species. London: Penguin Books; 1997.

41. Segal B. Pathogenic yeast and yeast infections. Tokyo: CRC Press Inc; 1994.
42. Agnol RD, Ferraz A, Bernardi AP, Albring D, Nor C, Sarmiento L, *et al.* Antimicrobial activity of some *Hypericum* species. Brazil: TANAC SA; 2003.
43. Ajizah A. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap ekstrak daun *Psidium guajava* L. *Bioscientiae*. 2004; 1(1): 31-8.
44. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Flower RJ, Rang & Dale's pharmacology, ed ke-7. Philadelphia: Churchill Livingstone, Elsevier Ltd; 2011.
45. Cushnie TP dan Lamb AJ. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2005; 26(5): 343-56.
46. Lim SH, Darah I, Jain K. Antimicrobial activities of tannins extracted from *Rhizophora apiculata* Barks. *Journal of Tropical Forest Science*. 2006; 18(1): 59-65.
47. Armah CN, Mackie AR, Roy CRK, Osboun AE, Bowyer P, Ladha, S. The membrane permeabilizing effect of avenacin A-1 involves the reorganization of bilayer cholesterol. *Biophys Journal*. 1999; 76(1): 281-90.
48. Hassan SM. Antimicrobial activities of saponin-rich Guar meal extract. [Disertasi]. Texas: Texas A&M University; 2008.
49. Karou D, Savadogo A, Canini A, Yameogo S, Montesano C, Simporé J, *et al.* Antibacterial activity of alkaloids from *Sida acuta*. *African Journal of Biotechnology*. 2005; 4(12): 1452-7.
50. Griffin SG. Aspects of antimicrobial activity of terpenoid and the relationship to their molecular structure. [Tesis]. Hawkesbury: University of Western Sydney; 2000.
51. Zakrzewska, Boorsma AA, Brul S, Hellingwerf KJ, Klis FM. Transcriptional response of *Saccharomyces cerevisiae* to the plasma membrane-perturbing compound chitosan. *Eukaryot Cell*. 2005; 4(4): 703-15.
52. Tortora GJ, Funke BR, Case CL. *Microbiology: an introduction* 10th ed. Pearson; 2010.

53. Tyasrini E, Winata T, Susantina. Hubungan antara sifat dan metabolit *Candida sp.* dengan patogenesis kandidiasis. JKM. 2006; 6(1): 52-67.
54. Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA. Jawetz, Melnick and Adelberg's medical microbiology, Ed ke-26. New York: McGraw Hill; 2007.
55. Adila R, Nurmiati, Agustien A. Uji antimikroba *Curcuma sp.* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Jurnal Biologi Universitas Andalas. 2013; 2(1): 1-7.
56. Senet JM. *Candida* adherence phenomena from commensalism to pathogenicity. [internet]. 1998. www.im.microbios.org/02june98/06%20Senet.pdf, Diakses pada 13 Desember 2014.
57. Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. *Candida albicans* secreted aspartyl proteinases in virulence and pathogenesis. [internet]. 2003. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?holding=npg&cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=12966142&dopt. Diakses pada 10 Agustus 2014.
58. Ryan KJ dan Ray CG. Sherris medical microbiology: an introduction to infectious disease, ed- ke4. New York: McGraw Hill; 2004.
59. Nuryastuti T. Environmental signal affecting ica-expression in *Staphylococcus epidermidis* biofilm. Groningen: University Medical Center Groningen; 2010.
60. Rachid S, Ohlsen K, Witte W, Hacker J, Ziebuhr W. Effect of subinhibitory antibiotic concentration on polysaccharide intercellular adhesin expression in biofilm-forming *Staphylococcus epidermidis*. Antimicrob Agents Chemother. 2000; 44: 3357-63.
61. Gotz, F. *Staphylococcus* and biofilms. Mol. Microbiology. 2002; 43:1367-78.