

**AKTIVITAS ANTI FUNGI EKSTRAK ETANOL DAUN SEMBUKAN (*Paederia foetida* L)
TERHADAP *Candida albicans***

Adityas Elvian Abriyanto, Sabikis, Sudarso

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto,
Jl. Raya Dukuhwaluh, PO BOX 202, Purwokerto 53182

Email:

ABSTRAK

Sembukan (*Paederia foetida* L) mengandung flavonoid dan terpenoid yang mempunyai khasiat sebagai antifungi dari ekstrak etanol daun sembukan. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* dan profil kromatografi lapis tipisnya. Dalam penelitian ini ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak etanol diencerkan dengan pelarut *Dimetilsulfoksida* (DMSO) 10% hingga konsentrasi 1%, 10%, 100%. Uji aktivitas antifungi menggunakan metode difusi dan untuk identifikasi senyawa flavonoid, dan senyawa terpenoid menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Hasil uji aktivitas antifungi didapat bahwa ekstrak etanol daun sembukan tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*. Hasil KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sembukan mengandung senyawa flavonoid dan senyawa terpenoid.

Kata kunci: ekstrak etanol daun sembukan (*Paederia foetida* L), antifungi, *Candida albicans*, flavonoid, terpenoid.

ABSTRACT

Sembukan (Paederia foetida L) contain flavonoid and terpenoid which property as antifungal. The aim of this research was to prove the activity of antifungal against Candida albicans and its Thin Layer Chromatography profile. In this research the extraction was done by maseration method with 96% ethanol solvent. The ethanol extract was diluted using 10% Dimethylsulfoxide (DMSO) solvent until 1%, 10% and 100% concentrations. Antifungal activity test was done by diffusion method and Thin Layer Chromatography (TLC) method was done to identify the flavonoid, and terpenoid compounds. The result of antifungal activity test exhibited that the ethanol extract of sembukan leaves have no antifungal activity toward Candida albicans. The result of TLC showed that the ethanol extract of sembukan leafs contain of flavonoid and terpenoid compounds.

Key words: the ethanol extract of sembukan leafs (*Paederia foetida* L), antifungal, *Candida albicans*, flavonoid, terpenoid.

Pendahuluan

Tanaman sembukan (*Paederia foetida* L) atau (*Paederia tomentosa* Bl) termasuk ke dalam famili Rubiaceae. Kandungan kimia yang terdapat pada batang dan daun sembukan adalah asperuloside, deacetylasperuloside, scandoside, flavonoid, paedorosidic acid, gamasitosterol, arbutin, oleanolic acid, dan minyak menguap (anonim, 1985).

Tumbuhan sembukan (*Paederia foetida* L) digunakan sebagai tanaman obat yang di antaranya berkhasiat sebagai anti rematik, penghilang rasa sakit (analgesik), peluruh kentut (karminatif), peluruh kencing, peluruh dahak (mucolitik), penambah nafsu makan (stomakik), antibiotik, anti fungi, anti radang, obat batuk (anti tusif), menghilangkan racun (detoksifikasi), obat cacing, pereda kejang (anonim, 1985).

Candida albicans adalah khamir yang termasuk kelas Ascomycetes. Khamir ini dapat menimbulkan suatu keadaan kandidiasis yaitu penyakit pada selaput lendir mulut, vagina dan saluran pencernaan serta dapat menimbulkan serangkaian penyakit pada beberapa tempat, antara lain pada kulit terutama pada bagian-bagian tubuh yang basah, hangat, seperti ketiak, lipatan paha,

skrotum atau lipatan-lipatan di bawah payudara. Infeksi yang lebih gawat dapat menyerang jantung (endokarditis), darah (septisemia), dan otak (meningitis) (Pelczar dan Chan, 1986).

Tanaman ini termasuk ke dalam suku Rubiaceae, di Sumatera tumbuhan ini dikenal sebagai daun kentut, orang Banda menyebutnya kelatatan. Jawa Barat kasembukan, Maluku mengenalnya dengan gumi siki. Batangnya yang lunak dan dipakai memanjat, hanya berdiameter setengah sentimeter, namun panjangnya dapat mencapai 10 m. Biasanya ia dirambatkan pada pagar kebun, pekarangan.

Kandungan kimia yang terdapat pada batang dan daun sembukan adalah flavonoid, asperuloside, deacetylasperuloside, scandoside, paedorosidic acid, gamasitosterol, arbutin, oleanolic acid, dan minyak menguap (Anonim, 1985).

Klasifikasi *Candida albicans*

Divisi : Eucomycophyta
Kelas : Ascomycetes
Bangsa : Saccharomycetales
Suku : Criptococcaceae
Marga : Criptoccus
Spesies : *Candida albicans*
(Wolf & Wolf. 1996)

Candida albicans merupakan suatu khamir yang termasuk kelas Ascomycetes dan merupakan anggota

flora normal selaput lendir saluran pernafasan, pencernaan dan genitalia wanita (Jawetz. 1986).

Metode Penelitian

Variabel Operasional

1. Variabel bebas

Variasi konsentrasi ekstrak etanol daun sembukan yang digunakan dalam uji antifungi.

2. Variabel tergantung

Zona hambat ekstrak etanol daun sembukan terhadap *Candida albicans* pada masing-masing konsentrasi.

3. Variabel terkendali

Kondisi lingkungan, metode ekstraksi, suhu inkubasi pertumbuhan *C. albicans*, uji aktivitas antifungi dengan menggunakan metode difusi agar dengan kertas saring *whatman*.

Alat dan bahan

1. Alat: Maserator, pengaduk, penangas air, cawan porselen, cawan petri, autoklaf (All American 25 lt), LAF (*Laminar Air Flow*), inkubator (Mammert), jangka sorong, rak tabung, lampu spiritus, jarum ose, pinset, pipet tetes, alat-alat gelas (iwaki-pyrex), cakram kertas, seperangkat alat KLT, lampu UV, seperangkat pereaksi semprot, oven.

2. Bahan: Etanol 96% (Bratachem), simplisia daun sembukan, medium PDA (*Potato Dextrose Agar*), NB (*Nutrien Broth*), isolat *Candida albicans*, akuades, ketokonazol, NaCl 0,9%, DMSO 10%.

Jalannya Penelitian

a) Pengambilan Dan Pemanenan Daun sembukan

Pengambilan daun sembukan dilakukan pada bulan Maret 2011 di Desa Jatinegara Kecamatan Sempor Kabupaten Kebumen, dan pemanenan diambil pada tumbuhan yang telah menjalar 1-2 meter, waktu pemanenan pada sore hari, diambil mulai daun yang tua.

b) Penanganan Pasca Panen Daun Sembukan

Setelah dipetik daun disortir dan dibersihkan dengan air yang mengalir untuk membersihkan debu serta kotoran lain yang menempel, kemudian dibilas hingga bersih dan ditiriskan. Selanjutnya daun didiamkan 1 malam.

c). Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk memastikan jenis tanaman yang digunakan untuk penelitian, yaitu daun sembukan (*Paederia foetida* L). Determinasi dilakukan di Laboratorium Botani dan Genetika Progam Studi

Pendidikan Biologi FKIP Universitas Muhammadiyah Purwokerto.

d). Simplisia

Simplisia dibuat dengan cara pengeringan 60°C, pembuatan simplisia dengan cara ini dilakukan dengan cepat, tetapi pada suhu yang tidak terlalu tinggi. Pengeringan yang terlalu lama akan mengakibatkan simplisia dapat ditumbuhi kapang dan suhu yang terlalu tinggi akan mengakibatkan perubahan kimia pada kandungan senyawa aktifnya. Pada saat pembuatan simplisia, bahan dipanen sore hari kemudian dicuci dan ditiriskan serta diangin-anginkan semalam, ditimbang 1630 gram daun, dipotong (pisau atau alat pemotong), setelah itu daun yang telah dipotong diletakan pada nampan kayu dan disamaratakan, kemudian masukan ke dalam alat pengering di tandai sampai terjadinya perubahan warna, baru kemudian nampan di keluarkan dari alat pengering, dan didapat daun kering.

e). Pembuatan Ekstrak Sembukan

Metode ekstraksi yang digunakan dalam maserasi langkah pembuatannya adalah sebagai berikut: maserat diuapkan dalam cawan porselin dengan pemanasan di atas penangas air

disertai pengurangan tekanan hingga diperoleh ekstrak kental.

f). Uji Organoleptis

Uji organoleptis terhadap ekstrak sembukan yang dihasilkan adalah dengan mengamati bentuk, warna, rasa, bau dari ekstrak daun sembukan.

g). Profil Kromatografi Lapis Tipis dan Identifikasi Kandungan Senyawa

Identifikasi golongan senyawa kimia dari profil kromatogram hasil KLT dilakukan dengan cara memberikan pereaksi penampak bercak untuk masing-masing golongan senyawa. Hasilnya diidentifikasi dengan melihat warna penampakkan bercak baik dengan sinar tampak ataupun dengan sinar UV 366 nm.

a. Flavonoid

Deteksi senyawa flavonoid dilakukan sebagai berikut:

Fase diam : Silika gel F254

Fase gerak: Butanol;Asam asetat;Air

Pereaksi warna: Amoniak dan sitroborat

b). Terpenoid

Deteksi senyawa terpenoid dilakukan sebagai berikut:

Fase diam : Silika gel F254

Fase gerak : Toluene,etil asetat

Pereaksi warna: FeCl₃

h). Uji Anti Fungi

1. Sterilisasi alat dan bahan

Pada uji anti fungi perlakuan harus dalam keadaan steril. Tujuan dari sterilisasi yaitu untuk membunuh mikroorganisme yang ada pada alat dan bahan, karena dikhawatirkan akan mengganggu jalannya penelitian. Sterilisasi dilakukan di dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Hadioetomo, 1993).

2. Pembuatan medium

a) *Nutrient broth* (NB)

NB sebanyak 0,8 gram dalam 100 mL air suling dipanaskan di atas *hotplate* selama 5 menit sampai menjadi larutan yang homogen. air suling ditambahkan untuk mengganti volume yang hilang selama pemanasan sampai tepat 100 mL. Selanjutnya sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 5 menit.

b) *Potato Dextrose Agar* (PDA)

PDA 19,5 gram dalam 500 mL air suling dipanaskan di atas *hotplate* sambil terus diaduk. selanjutnya medium disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 5 menit.

c) Kultur *Candida albicans*

Metode yang digunakan adalah metode agar miring. Semua alat yang digunakan telah disterilkan terlebih dahulu dengan menggunakan autoklaf. Satu ose khamir berumur 2 hari digoreskan pada medium agar PDA didekat api Bunsen, setelah itu ditutup dengan kapas steril dan diinkubasi selama 48 jam di dalam inkubator dengan suhu 37°C untuk kemudian digunakan pada uji anti fungi.

d) Perhitungan jumlah koloni *Candida albicans*

Jumlah koloni jamur dalam satu cawan petri harus memenuhi standar uji yaitu 30-300 koloni (Lay. 1994), dimana kekeruhannya memenuhi standard Mc Farlan (10^8 CFU/mL).

e) Uji aktivitas antifungi

Uji ini dilakukan dengan menggunakan inokulum jamur yang mempunyai kekeruhan sama dengan standard Mc Farlan. Pada cawan petri diletakan 5 kertas whatman yang telah diberi perlakuan sebagai berikut: dua kertas whatman untuk kontrol positif (krim ketokonazol 2%), kontrol negatif akuades steril dan 3

kertas whatman yang lain untuk ekstrak daun sembukan. Uji aktivitas anti fungi dari daun sembukan dilakukan dengan metode difusi agar.

Hasil dan Pembahasan

A. Determinasi Tanaman

Determinasi dilakukan dengan panduan buku Flora of Java volume I dan volume II karangan Backer dan Van Den Brink (1965).

B. Penyiapan Simplisia

Daun sembukan diperoleh di desa Jatinegara Kecamatan Sempor Kabupaten Kebumen. Daun diambil pada sore hari yaitu pada jam 16.00-17.00 WIB. Daun basah, kemudian dikeringkan dalam almari pengering pada suhu 60°C sampai ditandai dengan terjadinya perubahan warna.

C. Pembuatan Ekstrak Daun Sembukan

Digunakan metode maserasi karena metode ini merupakan metode yang efektif dan efisien untuk menyari senyawa-senyawa yang terkandung dalam daun sembukan yang dapat berfungsi sebagai antifungi, sehingga dapat menyari senyawa-senyawa yang dibutuhkan seperti flavonoid dan terpenoid secara maksimal.

Uji organoleptis ekstrak etanol daun sembukan yang diperoleh sebagai berikut:

- Bau : khas
- Rasa : pahit
- Warna : hijau

D. Identifikasi Kandungan Flavonoid dan Terpenoid menggunakan KLT

Untuk mendeteksi adanya flavonoid ditunjukkan dengan warna bercak kuning terang pada UV 366 nm (Markham, 1988).

Tabel 1. Hasil kromatogram senyawa flavonoid

hRf	Sebelum disemprot dan diamati disinari UV 254 nm	Setelah diuapi amoniak dan disemprot sitroborat		Senyawa positif
		Diamati disinari UV 366 nm	diamati disinari UV 366 nm	
8,75	Pemadaman	Kuning	Kuning terang	Positif flavonoid
20,0	Pemadaman	Kuning	Kuning terang	Positif flavonoid
41,25	Pemadaman	Kuning	Kuning terang	Positif flavonoid

Harbone (1987) menyatakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid ditunjukkan dengan warna berupa bercak hijau, coklat, kuning, merah, atau biru. Hasil dari identifikasi terpenoid terhadap

ekstrak, menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun sembukan kemungkinan mengandung senyawa terpenoid yaitu pada bercak dengan hRf 11,25; 21,25; 31,25; 45,00 dan 57,50

Tabel 2. Hasil Kromatogram senyawa terpenoid

hRf	Sinar UV 366 nm	Sinar UV 254 nm	Setelah disemprot penampak bercak FeCl ₃ Diamati pada UV 366 nm	Keterangan
11,25	Merah	Pemadaman	Coklat	Positif terpenoid
21,25	Ungu	Pemadaman	Coklat keunguan	Positif terpenoid
31,25	Merah muda	Pemadaman	Coklat keunguan	Positif terpenoid
45,0	Jingga	Pemadaman	Coklat keunguan	Positif terpenoid
57,5	Merah muda	Pemadaman	Coklat keunguan	Positif terpenoid

E. Daya Antifungi

Perhitungan koloni *Candida albicans*

Perhitungan mikroba dilakukan dengan menggunakan metode pengenceran sampai didapat pengenceran yang memenuhi syarat McFarland (10⁸ CFU/mL). Hasil pengenceran

dari 10⁻¹-10⁻¹² tersebut diambil masing-masing 1 mL dan kemudian ditambahkan pada masing-masing medium PDA sebanyak 12 mL, selanjutnya diinkubasikan selama 24 jam, maka diperoleh hasil yang memenuhi syarat adalah pada pengenceran 10⁻¹⁰

Tabel 3. Perhitungan jumlah koloni *Candida albicans*

Pengenceran	Jumlah koloni Replikasi		Jumlah koloni <i>C. albicans</i>
	I	II	
10 ⁻⁶	581	496	-
10 ⁻⁸	421	394	-
10 ⁻¹⁰	296	314	0,03.10 ⁸
10 ⁻¹²	176	205	0,19.10 ⁸

Hasil Uji Aktivitas Antifungi

Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan tujuan untuk membuktikan apakah ekstrak etanol daun sembukan dapat mempunyai aktivitas antifungi

yaitu terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Media yang digunakan untuk uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun sembukan adalah PDA (*Potato Dextrose*

Agar) karena medium tersebut merupakan medium yang umum digunakan sebagai media tumbuh dari *Candida albicans* pada uji aktivitas antifungi. Kultur isolat jamur pengenceran 10-10 untuk jamur *Candida albicans*.

Uji daya hambat ekstrak etanol daun sembukam terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dilakukan menggunakan metode difusi dengan

kertas *whatman* yang telah disterilkan. Parameter yang diamati dari difusi padat ini adalah adanya hambatan yang akan terlihat sebagai daerah bening atau daerah yang tidak memperlihatkan adanya pertumbuhan jamur di sekitar kertas *whatman*. Dari hasil penelitian uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun sembukam terhadap *Candida albicans* diperoleh data berdasarkan diameter zona hambat.

Tabel 4. Diameter zona hambat *Candida albicans*

Replikasi	Zona hambat (mm)				
	Kons 1%	Kons 10%	Kons 100%	Ketokonazol 2%	Akuades Steril
1	0	0	0	29	0
2	0	0	0	31	0
3	0	0	0	34	0
Rata-rata	0	0	0	31,3	0

Dari hasil tabel dan gambar di atas dapat dilihat, ekstrak etanol daun sembukam tidak memberikan zona hambat pada jamur *Candida albicans*. Dan yang memberikan zona hambat hanya kontrol positif yaitu ketokonazol 2%. Dari hasil KLT terbukti ekstrak mengandung senyawa flavonoid dan terpenoid, tetapi pada uji yang telah dilakukan ekstrak tidak terbukti memberikan aktivitas pada jamur *Candida albicans*, hal ini kemungkinan disebabkan senyawa flavonoid dan terpenoid tidak bisa masuk dan menembus dinding sel *Candida albicans*

karena dinding sel yang begitu kompleks dan rapat yang tersusun dari dinding selulosa, khitin, glukukan dan manan, dimana dinding sel *Candida albicans* tersebut berfungsi sebagai pelindung dari bahaya di daerah sekitar lingkungan jamur tersebut tumbuh atau antigenik (Pelczar & Chan 1986). Ketokonazol 2% dapat memberikan aktivitas terhadap jamur *Candida albicans* karena mekanisme kerja dari antimikrobia diantaranya yakni dapat menghambat terhadap pembentukan struktur dinding sel, penghambatan fungsi membran sel, menghambat sintesis protein, dan juga

menghambat sintesis asam nukleat (Jawetz, 2005). Dinding sel sebagai penutup lindung dari sel selain juga berperan dalam proses-proses fisiologis tertentu, struktur dinding sel dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukannya atau merusaknya setelah terbentuk. Kelangsungan hidup suatu sel tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiahnya, suatu kondisi atau substansi yang mengubah keadaan ini yaitu mendenaturasikan protein dan asam nukleat yang dapat merusak sel dan sulit untuk bisa diperbaiki kembali (Pelczar&Chan, 1986). Ketokonazol 2% sebagai obat anti jamur dari golongan imidazol yang biasa digunakan untuk terapi kandidiasis (Depkes RI. 2000).

Kesimpulan

Ekstrak etanol daun sembukan tidak terbukti memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*. Untuk lebih lanjut perlu dilakukan pengujian yang lain seperti uji aktivitas antibakteri karena pada uji aktivitas antifungi tidak terbukti karena pada fungi memiliki dinding sel yang terlalu kompleks dan rapat yang tersusun dari dinding selulosa, khitin, glukukan dan manan, dimana dinding sel tersebut sehingga

senyawa aktif ekstrak etanol daun sembukan tidak bisa masuk dan menembus dinding selulosa *C. Albicans*.

Daftar Pustaka

- Anonim. 1979. *Materia Medika Indonesia jilid I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Anonim. 1985. *Tanaman Berkhasiat Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Backer, C. A and Van den Brink, R.C. 1965. *Flora of Java Vol II*. Noordhoff NV, Groningen, Netherlands.
- Depkes RI. 1986. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Depkes RI. 2000. *Parameter Standar Ekstrak*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*. PT Gramedia, Jakarta.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Harborn, J.B. 2006. *Metode Fitokimia Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, edisi III*. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Jawetz, E. Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 1986. *Mirobiologi Untuk Profesi Kesehatan, Edisi XVI*,

- diterjemahkan oleh dr. Bonang, G., EGC Press, Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J.L., Adelberg, E.A. 2005. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Terjemahan Huriati dan Hartanto. EGC Press. Jakarta.
- Lay, B.W. 1994. *Analisis Mikroba di Laboratorium*. Raja Grafindo Persada, Jakarta.
- Markham, K.R. 1982. *Techniques of Flavonoid Identifications*. edisi I. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Markham, K.R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Kosasih Padmawinata penerjemah. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi 1* (terjemahan) Hadi Oetomo, S. UI Press, Jakarta.
- Pratiwi, S.T. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. Erlangga, Jakarta.
- Stahl, E. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudira. Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Voight, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Edisi IV*. Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- Wolf, F.A., Wolf, F.T. 1996. *The Fungi*. Hafner Publishing, London.