

Perbandingan antara Pemberian Fraksi Daun Beluntas (*Pluchea Indica* Lees) dan Ketokonazol Secara Invitro Terhadap *Candida Albicans*

Bina Marsasi¹, Yuwono², Salni³

¹Program Studi Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

²Departemen Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya

³Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya

ABSTRAK

Daun beluntas bermanfaat sebagai pengobatan flour albus dan *discharge* yang disebabkan oleh jamur. Penelitian ini bertujuan untuk menemukan aktivitas anti-jamur fraksi pada ekstrak daun beluntas (*Pluchea indica* Lees) terhadap *Candida albicans*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimental in vitro menggunakan desain studi Posttest-only Control Group Design. Ekstrak metanol diperoleh melalui proses maserasi sedangkan fraksinya melalui fraksinasi cair-cair. Fraksi paling aktif ditentukan oleh uji aktivitas anti jamur. Fraksi paling aktif dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625% dan diameter zona hambat 0,3125% diukur dengan metode pengenceran cairan padat. Kesetaraan dengan obat dinilai melalui analisis regresi, kemudian golongan senyawa aktif ditentukan melalui uji bioautografi menggunakan kromatografi lapis tipis. Hasil penelitian diperoleh metanol-fraksi-air dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sedangkan ekstrak metanol, n-heksana dan etil asetat tidak menghambat. Fraksi metanol air yang memiliki diameter zona hambat mulai pada konsentrasi 0,3125% dengan diameter rata-rata 7,34 mm dan pada konsentrasi 10% diperoleh diameter terbesar sebesar 17,10 mm. Melalui cairan pengencer dan fraksi padat KHM dari fraksi metanol-air dihambat pada konsentrasi 0,3125%. Uji kesetaraan menunjukkan bahwa 1 mg / ml ketokonazol setara dengan 39.561 mg / ml fraksi metanol-air daun beluntas. Senyawa yang menghambat jamur diduga adalah golongan aktif senyawa flavonoid dan alkaloid. Fraksi metanol-air daun beluntas (*Pluchea indica* Lees) memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* secara in vitro.

Kata Kunci: fraksi metanol-air, daun beluntas, *Pluchea indica* Lees., antijamur, *Candida albicans*.

ABSTRACT

Beluntas leaves are useful as a treatment of flour albus and cheesy discharge that is caused by fungus therefore beluntas leaves have an anti-fungal therapy. This study aims to find anti-fungal activities of fractions on the (Pluchea indica Lees) beluntas leaf extract against Candida albicans. This study is an experimental research laboratory in vitro using a study design of Posttest-only Control Group Design. The methanol extract is obtained by maceration proses while the fraction through liquid-liquid fractionation. The most active fraction was determined by test anti fungal activity. The most active fraction with a concentration of 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625% and 0,3125% inhibitory zone diameters were measured with a solid liquid dilution method. Equality with drugs assessed through regression analysis, then the class of active compounds are determined through bioautography test using thin layer chromatography. The results of the study were obtained methanol- fraction- water can inhibit the growth of Candida albicans while the methanol extract, n-hexane and ethyl acetate did not inhibit. Water methanol fraction having a diameter of inhibitory zone began at a concentration of 0,3125% with an average diameter of 7,34 mm and in a concentration of 10% obtained the largest diameter of 17,10 mm. Through dilution liquid and solid fractions KHM of fraction methanol-water is obtained at a concentration of 0,3125%. Equality test showed that 1 mg/ml of ketokonazol equivalent to 39,561 mg/ml of fraction methanol-water beluntas leaf. Compounds that inhibit the fungus was allegedly active classes of compounds flavonoids and alkaloids. Fraction methanol-water of beluntas leaves (Pluchea indica Lees) have antifungal activity against Candida albicans in vitro.

Keywords: fraction methanol-water, beluntas leaves, *Pluchea indica* Lees, antifungal, *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Infeksi jamur merupakan salah satu pembunuh terbesar didunia yang tidak kita sadari. Infeksi jamur merupakan penyakit yang kurang diperhatikan, yang menyebabkan kematian lebih dari 1,3 juta jiwa didunia setiap tahunnya. Angka ini hampir sama banyaknya dengan infeksi tuberkulosis yang menyebabkan kematian sebesar 1,4 juta jiwa.¹ Sekitar 75% wanita akan mengalami candidiasis pada vagina selama hidup mereka, dan 90% orang-orang dengan HIV/AIDS mengalami infeksi candida. Terjadinya infeksi *Candida albicans* pada vagina, sekitar 5-10% terjadi pada wanita yang tidak hamil dan pada kehamilan akan meningkat sekitar 40%.² Sedangkan di Amerika 75% wanita pada masa reproduksi pernah mengalami *Candidiasis Vaginalis*. Antara 40-50% mengalami infeksi berulang dan 5-8% terkena infeksi *Candida* kronis.³ Sedangkan di Spanyol, dari 345 kasus candidemia yang diteliti di sebuah rumah sakit setempat, mortalitas mencapai 44% dengan perincian dari angka tersebut 51% disebabkan oleh infeksi *Candida albicans*.⁴

Pengobatan yang digunakan dalam penanganan infeksi *Candida* sangat beragam, tergantung dari lokasi anatomi, penyakit yang mendasari, status imun, faktor resiko perbedaan spesies *Candida* dan pola kepekaannya terhadap antijamur tertentu.⁵ Ada beberapa golongan yang digunakan dalam pengobatan *Candida*, baik yang topikal maupun oral, namun sering digunakan adalah golongan *azole*, *polyene* dan *echinocondin*.⁶

Pemakaian obat antifungi dapat menimbulkan efek yang merugikan.⁷ Dalam dunia kesehatan dewasa ini mulai berlaku slogan “kembali ke alam” (*back to nature*) sebagai pengobatan alternatif yang lebih aman. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat herbal adalah beluntas (*Pluchea indica* Lees). Tanaman *Pluchea indica* Lees. merupakan tanaman

yang telah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia, biasanya digunakan sebagai tanaman pagar. Selain itu beberapa daerah di Indonesia mengenal tanaman ini sebagai salah satu tanaman obat yang berkhasiat untuk anti bau badan, penambah nafsu makan, penurun panas, peluruh keringat, obat demam, obat urat syaraf yang lemah, koreng, darah kotor, mencret darah dan haid tidak teratur dan keputihan.⁸ Dapat diketahui bahwa daun beluntas bermanfaat sebagai pengobatan anti keputihan yang disebabkan oleh jamur maka dari itu daun beluntas mempunyai terapi sebagai antijamur. Tanaman beluntas mengandung senyawa pluchine, saponin, polifenol, tannin, sterol, natrium, asam amino, Vitamin C, flavonoida dan lain-lain. Senyawa yang berperan sebagai antijamur yang terdapat pada daun beluntas diantaranya alkaloid, minyak atsiri, flavonoid. Pada daun beluntas telah terbukti secara ilmiah dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.⁹

Menurut penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Antifungi Minyak Atsiri Daun Beluntas Terhadap *Candida albicans* dan Pembuatan Sediaan Yang Sesuai” Hasil uji aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*, minyak atsiri daun beluntas memiliki KBM pada konsentrasi 12,5%. Minyak atsiri kemudian dibuat sediaan dengan komposisi 2 bagian minyak atsiri daun beluntas, 1 bagian pewangi dan 7 bagian etanol tehnik 95%. Sediaan ini digunakan dengan cara menyemprotkannya pada daerah kewanitaan. Hasil uji aktivitas anti *Candida albicans* terhadap sediaan yang dibuat dengan metode difusi padat menunjukkan potensi sediaan yang dibuat lebih besar daripada povidon iodium (kontrol positif). Hasil analisis kromatografi gas-spektroskopi menunjukkan bahwa minyak atsiri daun beluntas mengandung caryophyllene dan isocaryophyllene serta senyawa derivat azulene, dan naphthalene.¹⁰

Berdasarkan uraian tersebut di atas maka perlu dilakukan pemisahan bahan bioaktif (Fraksi aktif) anti jamur *Candida albicans* dari ekstrak daun beluntas serta perlu diteliti lebih lanjut aktivitas bahan bioaktif dalam berbagai konsentrasi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan perbedaan aktivitas antara fraksi aktif daun beluntas (*Pluchea indica* Lees) dengan antijamur ketokonazol terhadap jamur *Candida albicans*.

Bahan bioaktif ini nantinya diharapkan dapat digunakan sebagai bahan obat baru serta dapat dijadikan sebagai salah satu obat alternatif untuk mengobati berbagai macam penyakit yang berhubungan dengan infeksi jamur *Candida albicans*.

METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan menggunakan rancangan penelitian *Posttest-only Control Group Design*. Penelitian dilakukan di laboratorium dan subjek penelitian diberi perlakuan atau intervensi. Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Genetika dan Bioteknologi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Inderalaya.

Penelitian ini menggunakan jamur *Candida albicans* dari strain ATCC 01231 diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Kesehatan Palembang. Daun beluntas yang diperoleh dari halaman rumah daerah Seberang Ulu 1 Palembang. Ekstrak metanol didapat dengan proses maserasi, sedangkan fraksi melalui fraksinasi cair-cair. Fraksi paling aktif ditentukan melalui uji aktivitas antijamur. Fraksi paling aktif dengan konsentrasi 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125% diukur diameter zona hambatnya dengan metode difusi agar, kemudian KHM dengan metode dilusi cair dan padat. Kesetaraan dengan obat dinilai melalui

analisis regresi, lalu golongan senyawa aktif ditentukan melalui uji bioautografi menggunakan kromatografi lapis tipis. Data kemudian diolah secara statistik dengan menggunakan SPSS versi 16.

HASIL

Ekstraksi Simplisia Daun Beluntas

Hasil ekstraksi didapatkan berat ekstrak sebanyak 30 gram (12%) dari 250 gram serbuk simplisia daun beluntas. Sebesar 11,8 gram ekstrak diambil untuk dilakukan uji aktivitas antijamur, sedangkan sisanya sebesar 18,2 gram dilanjutkan untuk proses fraksinasi.

Fraksinasi Ekstrak Daun Beluntas

Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan metode fraksinasi cair-cair (FCC) dengan cara ekstrak dipartisi dalam corong pemisah dengan menggunakan pelarut n-heksan, etilasetat dan metanol air masing-masing sebanyak 1 L secara bertahap, kemudian masing-masing fraksi cair yang didapat diuapkan dalam lemari asam sehingga didapatkan masing-masing fraksi dalam bentuk pasta. Dari proses fraksinasi didapatkan hasil seperti pada Tabel 4.1 berikut ini:

Tabel 4.1. Hasil Fraksinasi Ekstrak Daun Beluntas (*Pluchea indica* Lees)

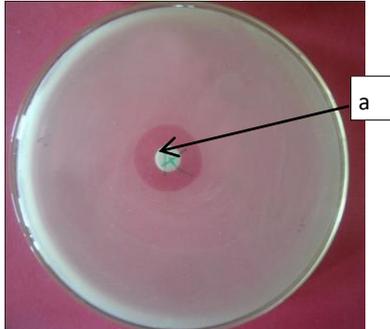
No	Pelarut	Berat Fraksi (g)	Persen Berat (%)
1	N-heksan	4,8	26,37
2	Etil asetat	6,6	36,26
3	Metanol-Air	6,8	37,36
Total		18,2	100

banyaknya fraksi belum tentu berhubungan dengan banyaknya senyawa yang aktif terhadap *Candida albicans*.

Uji Sensitifitas Jamur *Candida albicans*

Pada Gambar 4.1 dapat dilihat bahwa ketokonazol menghasilkan diameter hambat terhadap jamur *Candida albicans* sebesar 14 mm. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya zona bening pada sekitar kertas cakram.

Hasil uji sensitifitas terhadap masing-masing jamur dapat dilihat pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Hasil Uji Sensitifitas dengan Ketokonazol pada Konsentrasi 1% terhadap Jamur *Candida albicans*

Keterangan a: Diameter Hambat (Zona Bening) 14 mm

Uji Aktivitas Antijamur Fraksi Daun Beluntas (*Pluchea indica* Lees)

Uji aktivitas antijamur dari fraksi n-heksan, etil asetat dan metanol air dilakukan dengan metode difusi agar untuk mengetahui dalam fraksi mana senyawa aktif berada. Konsentrasi fraksi yang digunakan adalah 20% dengan pelarut *dimetilsulfoksida*. Hasil uji aktivitas antijamur dari masing-masing fraksi dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil Uji Daun Beluntas Fraksi Metanol-Air, N-Heksan, Etil Asetat terhadap *Candida albicans*.

Keterangan: 1. Ekstrak metanol 20%, 2. Fraksi N-Heksan 20%, 3. Fraksi Etil Asetat, 4. Fraksi Metanol-Air 20%, 5 = Kontrol -

Tabel 4.2 Hasil Uji Aktivitas Antijamur Fraksi N-Heksan, Etilasetat dan Metanol dan Ekstrak

Daun Beluntas (*Pluchea indica* Lees) pada Konsentrasi 20% Terhadap Jamur *Candida albicans*

No	Jenis Ekstrak dan Fraksi	Diameter Hambat (mm)
1	Ekstrak	0,00 ± 0,00
2	N-heksana	0,00 ± 0,00
3	Etil asetat	0,00 ± 0,00
4	Metanol Air	14,25 ± 0,37

Berdasarkan Gambar 4.2 dan Tabel 4.2 di atas fraksi metanol-air mempunyai diameter zona hambatan terbesar terhadap *Candida albicans* yaitu sebesar 14 mm, daerah hambatan ini berarti kuat karena berada pada 11-20 mm sesuai dengan pernyataan¹¹ yang mengemukakan bahwa ketentuan kekuatan daya antimikroba yaitu bila diameter hambat 21 mm atau lebih termasuk katagori sangat kuat, diameter hambat 11-20 mm termasuk dalam katagori kuat, 6-10 mm termasuk katagori sedang dan diameter hambatan 5 mm atau kurang termasuk dalam katagori lemah.

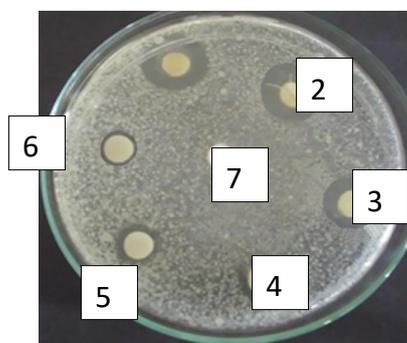
Penentuan Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air

Dengan Metode Difusi Agar

Hasil uji aktifitas antijamur menunjukkan bahwa fraksi metanol-air aktif terhadap jamur *Candida albicans*, selanjutnya ditentukan nilai KHM dari fraksi metanol-air. Dalam penelitian ini penentuan konsentrasi hambat minimum berdasarkan penurunan konsentrasi yang dimulai dari 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125%, dengan 4 kali pengulangan. Tujuannya untuk mengetahui jumlah terkecil zat aktif antijamur yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan organisme yang diuji.

Untuk mengetahui pengaruh konsentrasi terhadap diameter hambat dilakukan uji statistik. Berdasarkan uji statistik *One-Way ANOVA* didapatkan *p value* = 0,000

dengan nilai $\alpha = 0,05$ ($p < \alpha$) yang artinya konsentrasi berpengaruh terhadap rerata diameter hambat dari tiap konsentrasi, untuk mengetahui perbedaan masing-masing konsentrasi dilakukan uji lanjut *Duncan* dilihat pada Gambar 4.5



Gambar 4.3 Penentuan Kadar hambat Minimum Daun Beluntas terhadap Jamur *Candida albicans*

Keterangan: 1 = Konsentrasi 10%, 2 = Konsentrasi 5%, 3 = Konsentrasi 2,5%, 4 = Konsentrasi 1,25%, 5 = Konsentrasi 0,3125%, 6 = Konsentrasi 0,625%, 7 = Kontrol –

Tabel 4.3 Rerata Diameter Hambat (mm) Fraksi Metanol-Air terhadap Jamur *Candida albicans* pada Berbagai Konsentrasi.

No	Konsentrasi Fraksi (%)	Rata-Rata \pm SEM Diameter Hambat (mm)	Zona Hambat (mm)
1	10	17,10 \pm 0,39 ^a	
2	5	16,48 \pm 0,60 ^b	
3	2,5	14,68 \pm 0,34 ^c	
4	1,25	12,27 \pm 0,34 ^d	
5	0,625	9,23 \pm 0,51 ^e	
6	0,3125	7,34 \pm 0,19 ^e	

Keterangan: Angka-angka yang diikuti oleh huruf kecil yang berbeda dan berbeda nyata pada uji lanjut *Duncan* $p < 0,05$

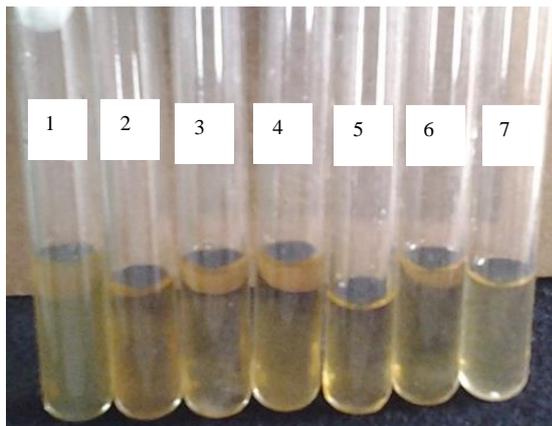
Dari Gambar 4.5 dan Tabel 4.5 dapat dilihat bahwa fraksi metanol-air dengan konsentrasi 10% mempunyai diameter hambat terbesar yaitu 17,10 mm terhadap jamur *Candida albicans*. Zona bening menunjukkan adanya diameter hambat pada masing-masing konsentrasi dimana diameter

hambat dari masing-masing konsentrasi mengalami penurunan sesuai dengan penurunan nilai konsentrasi sehingga dapat diketahui bahwa besarnya konsentrasi dan diameter hambat memiliki hubungan yang berbanding lurus satu sama lain. Semakin besar diameter hambat maka semakin aktif zat uji tersebut sebagai antijamur yang menunjukkan bahwa semakin banyak jamur yang dapat dihambat pada pertumbuhannya oleh zat uji. Sehingga dapat dikatakan bahwa konsentrasi fraksi metanol-air mempunyai diameter hambat, semakin besar konsentrasi metanol-air maka semakin besar diameter hambat yang dihasilkan.

Konsentrasi fraksi metanol-air yang masih menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* adalah 0,3125% dengan diameter hambat 7,34 mm. Konsentrasi 0,3125% dinyatakan dan dikategorikan memiliki zona hambat yang kuat, konsentrasi ini dinyatakan sebagai nilai KHM dan sesuai dengan pendapat¹¹ bahwa semakin kecil konsentrasi fraksi maka semakin kecil diameter zona hambat.

Dengan Metode Dilusi Cair

Pada pengukuran diameter zona hambat, penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM) belum dapat dilakukan dengan pasti karena penentuan KHM dengan metode difusi agar kurang sensitif jika dibandingkan metode dilusi. Oleh karena itu, maka dilakukan uji KHM dengan metode dilusi berdasarkan penurunan konsentrasi yang dimulai dari 10%, 5%, 2,5%, 1,25%, 0,625%, 0,3125%. Penentuan KHM bertujuan untuk mengetahui konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan jamur. Hasil penentuan KHM fraksi metanol-air daun beluntas dapat dilihat pada Gambar 4.4 dan Tabel 4.4.



Gambar 4.4 Hasil Uji KHM Daun Beluntas terhadap *Candida albicans* dengan Metode Dilusi Cair

Tabel 4.4 Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air pada Uji Dilusi Cair

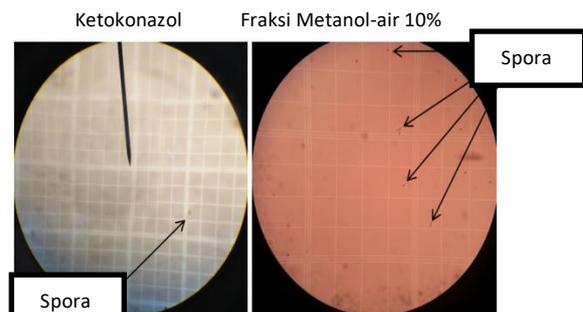
No	Konsentrasi Fraksi (%)	Tingkat Kekeuhan
1	10	-
2	5	-
3	2,5	-
4	1,25	-
5	0,625	+
6	0,3125	+
7	K (+)	-

Keterangan:

- ++ : keruh
- + : agak keruh
- : jernih

Berdasarkan Tabel 4.4 dapat dilihat konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan jamur yaitu 0,625% dengan sedikit pertumbuhan jamur pada suspensi, sedangkan pada konsentrasi 0,3125 terlihat pertumbuhan jamur yang banyak pada suspensi. Pada konsentrasi 0,625% sudah ada hambatan terhadap pertumbuhan jamur tetapi tidak sempurna.

Prosedur uji dilusi cair dilanjutkan dengan menghitung jumlah spora jamur pada dilusi cair yang terdapat dalam berbagai konsentrasi dan dilihat dibawah mikroskop dapat dilihat pada Gambar 4.5 dan Tabel 4.5



Gambar 4.5 Perbandingan Jumlah Spora yang Terlihat pada Ketokonazol 1% dan Fraksi Aktif Metanol-Air 10%

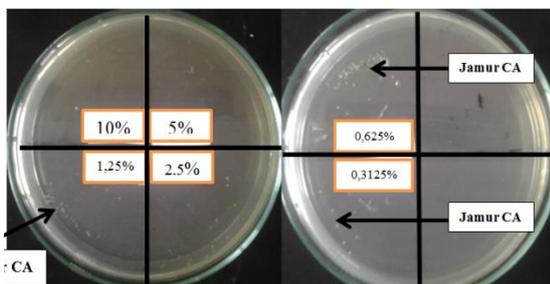
Tabel 4.5 Data hasil Perhitungan Jumlah Spora

No	Konsentrasi (%)	Σ	Hasil Hitung (CLSI)
1	Ketokonazol 1%	8	$4,0 \times 10^6$
2	10	17	$8,5 \times 10^6$
3	5	24	$12,0 \times 10^6$
4	2,5	35	$17,5 \times 10^6$
5	1,25	44	$22,0 \times 10^6$
6	0,625	100	$50,0 \times 10^6$
7	0,3125	112	$56,0 \times 10^6$

Berdasarkan Tabel 4.5 terlihat bahwa pada fraksi dengan konsentrasi 10% jumlah spora yang terlihat dibawah mikroskop 17 spora ($8,5 \times 10^6$) dan pada fraksi yang konsentrasi paling rendah 0,3125 % terlihat jumlah spora 112 spora (56×10^6), berarti semakin besar konsentrasi fraksi metanol-air semakin kecil jumlah spora yang terlihat. Jumlah spora yang terlihat pada ketokonazol lebih sedikit dari jumlah spora pada konsentrasi 10% yaitu hanya terlihat 8 ($4,0 \times 10^6$) spora.

Dari Gambar 4.5 dan Tabel 4.5 dapat disimpulkan bahwa ketokonazol masih lebih efektif bila dibandingkan dengan fraksi metanol-air terhadap *Candida albicans* dengan *p value* < 0,05. Hal ini membuktikan bahwa ketokonazol lebih sensitif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Hal ini dikarenakan ketokonazol bekerja berdasarkan pada pengikatan enzim sitokrom P450, sehingga sintesa ergosterol dirintangi dan terjadi kerusakan membran sel jamur.⁷ Untuk memastikan konsentrasi hambat minimum dengan lebih jelas, prosedur uji dilusi cair dilanjutkan pada uji dilusi padat dengan cara menginokulasikan suspensi enam tabung yang berisi berbagai konsentrasi fraksi pada medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Kemudian setelah 2x24 jam, dilihat pertumbuhan jamur dan ditentukan nilai KHMnya. Hasil penentuan KHM dari fraksi metanol-air daun beluntas dapat dilihat pada Gambar berikut.



Gambar 4.6 Hasil Uji KHM Daun Beluntas dengan Metode Dilusi Padat Terhadap *Candida albicans*

Tabel 4.6 Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Fraksi Metanol-Air Daun Beluntas (*Pluchea indika* Lees) pada Uji Dilusi Padat

No	Konsentrasi Fraksi (%)	Pertumbuhan Jamur
1	10	-
2	5	-
3	2,5	-
4	1,25	-
5	0,625	+
6	0,3125	+

Keterangan:

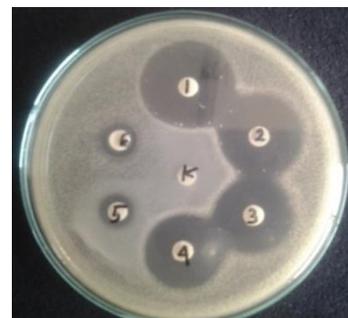
- ++ : Pertumbuhan banyak
- + : Pertumbuhan sedikit
- : Tidak ada pertumbuhan

Berdasarkan Tabel 4.6 dapat dilihat konsentrasi terendah yang menghambat pertumbuhan jamur yaitu 0,625% dengan sedikit pertumbuhan jamur pada suspensi, sedangkan pada konsentrasi 0,3125 terlihat pertumbuhan jamur yang banyak pada suspensi. Pada konsentrasi 0,625% sudah ada

hambatan terhadap pertumbuhan jamur tetapi tidak sempurna. Hasil uji dilusi cair tidak berbeda dengan uji dilusi padat, yang menunjukkan bahwa pada fraksi metanol-air daun beluntas dengan konsentrasi 0,625% dan 0,3125% masih terdapat pertumbuhan jamur, namun pertumbuhan pada konsentrasi 0,625% lebih sedikit jika dibandingkan 0,3125%. Sedangkan konsentrasi 1,25% keatas tidak lagi memperlihatkan pertumbuhan jamur.

Uji Kesetaraan Fraksi Metanol-Air dengan Ketokonazol

Nilai diameter zona hambat KHM fraksi metanol-air daun beluntas dimasukkan kedalam persamaan garis sehingga diperoleh nilai kesetaraan. Hasil diameter zona hambat antijamur ketokonazol pada konsentrasi 1000 µg/ml, 500 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml, 10 µg/ml dan 1 µg/ml dapat dilihat pada Gambar 4.8 dan Tabel 4.7.



Gambar 4.8. Hasil Uji Aktivitas Ketokonazol dengan Berbagai Konsentrasi

Keterangan: 1. Ketokonazol 1000 µg/ml, 2. Ketokonazol 500 µg/ml, 3. Ketokonazol 100 µg/ml, 4. Ketokonazol 50 µg/ml, 5. Ketokonazol 10 µg/ml, 6. Ketokonazol 1 µg/ml. K.= Kontrol

Tabel 4.7. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Ketokonazol

N	Konsentrasi Ketokonazol (µg/ml)	Konsentrasi Ketokonazol (µg/cakram)	Log	Rata-Rata ± SEM Diameter Zona Hambat (mm)
1	1000	10	1	26,27 ± 0,23
2	500	5	0,699	24,54 ± 0,50
3	100	1	0	23,52 ± 0,29

4	50	0,5	-0,301	22,27 ± 0,54
5	10	0,1	-1	8,58 ± 0,43
6	1	0,01	-2	6,49 ± 0,25

Dari Gambar 4.8 dan Tabel 4.7 dapat dilihat bahwa ketokonazol dengan konsentrasi 1000 µg/ml mempunyai diameter zona hambat terbesar yaitu 26,27 mm terhadap jamur *Candida albicans*.

Kesetaraan fraksi metanol-air daun beluntas (*Pluchea indica* Lees) dengan ketokonazol didapatkan dengan memasukkan diameter zona hambat KHM fraksi metanol-air 0,3125% (3,125 mg/ml) yaitu 7,34 mm pada persamaan regresi berikut:

$$\begin{aligned}
 Y &= a + bX \\
 7,34 &= 33,416 + 4,229X \\
 -4,229X &= 33,416 - 7,34 \\
 -4,229X &= 26,076 \\
 \text{Antilog } X &= -6,1659 \\
 X &= 0,7899 \text{ µg/cakram, } X \\
 &= 78,99 \text{ µg/ml}
 \end{aligned}$$

Tabel 4.8 Hasil Uji Kesetaraan Fraksi Metanol-Air dengan Ketokonazol terhadap Jamur *Candida albicans*

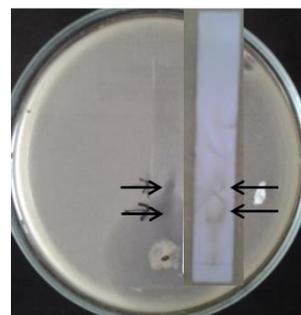
No	Konsentrasi Metanol-Air	Fraksi (3125 µg/ml)	Konsentrasi Ketokonazol
1	0,3125%	(3125 µg/ml)	78,99 µg/ml
2	3,125 mg/ml		0,07899 mg/ml
3	39,561 mg/ml		1 mg/ml

Dari Tabel 4.8 dapat dilihat bahwa fraksi metanol-air 0,3125% (3,125 mg/ml) setara dengan ketokonazol 78,99 µg/ml bila diujikan dengan jamur *Candida albicans*. Sehingga 1 mg/ml ketokonazol setara dengan 39,561 mg/ml fraksi metanol-air daun beluntas. Hal ini menunjukkan bahwa untuk mendapatkan dosis yang sesuai dengan ketokonazol dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dibutuhkan jumlah fraksi yang lebih besar. Keadaan ini bisa disebabkan zat antijamur yang diisolasi masih berupa fraksi meskipun masih dalam bentuk fraksi namun sudah

menunjukkan aktivitas antijamur yang positif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Uji Bioautografi dan Penentuan Golongan Senyawa Antijamur *Candida albicans*

Uji bioautografi dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa dan harga Retordansi factor (Rf) senyawa aktif antijamur dengan menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) plat silika gel GF₂₅₄ dengan menggunakan perbandingan eluen yang sesuai sebagai fase gerak dan H₂SO₄ 10% untuk penampak bercak yang memiliki aktivitas antijamur.¹²



Gambar 4.9 Hasil Uji Bioautografi dan KLT

Tabel 4.9 Hasil Uji Bioautografi dan Penentuan Golongan Senyawa Aktif Metanol-Air Daun Beluntas (*Pluchea indica* Lees)

Jenis fraksi	Eluen	Rf	Warna	Senyawa aktif
Metanol-Air	Metanol	0,58	Orange	Flavonoid
	: Etil Asetat (2 : 8)	0,38	Kuning	Alkaloid

Berdasarkan hasil uji KLT, pada Tabel 4.9 dan Gambar 4.9 pada fraksi aktif metanol-air terdapat golongan senyawa flavonoid yang ditandai dengan bercak berwarna orange dan kuning. Senyawa flavonoid apabila disemprot menggunakan pereaksi anisaldehyd-asam sulfat akan membentuk warna.

Hasil uji aktifitas antijamur menunjukkan bahwa fraksi yang aktif dari

daun beluntas adalah fraksi metanol-air, selanjutnya dilakukan uji bioautografi untuk mengetahui nilai Rf senyawa aktif antijamur dengan KLT. Pada cawan petri yang telah berisi biakan jamur, bercak-bercak bahan bioaktif yang terbentuk setelah ada pemisahan diletakkan ke dalam cawan petri, dibiarkan menempel pada medium agar selama 1 jam supaya bahan bioaktif dari fraksi berdifusi ke dalam agar. Setelah itu kromatogram diangkat dari cawan petri yang berisi biakan jamur tersebut diinkubasi selama 24 jam. Setelah 24 jam dapat terlihat zona bening yang merupakan daerah aktif berada.

Berdasarkan Gambar 4.9 dan Tabel 4.9 menunjukkan bahwa fraksi metanol-air terlihat adanya bercak orange pada kromatogram, bercak ini menunjukkan bahwa di dalam metanol-air terdapat senyawa aktif flavonoid dengan Rf 0,58 dan terlihat juga adanya bercak kuning pada kromatogram yang menandakan terdapat juga senyawa alkaloid dengan Rf 0,38.

Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dua cincin benzena yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari 3 atom karbon dengan struktur kimia C₆-C₃-C₆. Flavonoid tersebar luas sebagai zat warna pada bunga-bunga, kayu pohon tropis, bermacam-macam kapang dan lumut. Berperan sebagai antioksidan dengan cara mendonasikan atom hidrogennya atau melalui kemampuannya mengkelat logam, berada dalam bentuk glukosida (mengandung rantai samping glukosa) atau dalam bentuk bebas yang disebut aglikon.¹³ Flavonoid berperan sebagai antijamur dengan mekanisme kerja merusak dinding sel jamur *Candida albicans* dengan cara mendenaturasi protein yang berperan pada pembentukan dinding sel dan proses metabolisme jamur.¹⁴

Alkaloid adalah suatu senyawa organik yang mempunyai ini N heterosiklis yang bersifat basa yang tidak larut dalam pelarut

organik dan merupakan salah satu golongan metabolit sekunder terbesar kimia tumbuhan. Hampir sebagian besar alkaloid berasal dari tumbuhan yang tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan pada bagian biji, daun ranting, kulit kayu serta bagian lainnya. Mekanisme kerja alkaloid dengan mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel jamur *Candida albicans* sehingga pada lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan sel fungi tidak dapat melakukan aktivitas hidup maka menyebabkan pertumbuhan terhambat dan bahkan menyebabkan kematian.¹⁵

KESIMPULAN

Fraksi aktif daun beluntas (*Pluchea indica* Less) yang memiliki aktivitas antijamur *Candida albicans* adalah fraksi metanol-air. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari fraksi aktif metanol-air daun beluntas adalah pada konsentrasi 0,3125%. Ada perbedaan aktivitas antara fraksi aktif metanol-air daun beluntas dan ketokonazol terhadap jamur *Candida albicans*. Dimana ketokonazol masih lebih baik dibandingkan dengan fraksi aktif metanol-air daun beluntas. Golongan senyawa yang mempunyai aktivitas sebagai antijamur *Candida albicans* adalah flavonoid dan alkaloid.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kothari, A dan V. Sagar. Epidemiology of *Candida* bloodstream infections in a tertiary care institute in india. *Indian Journal of Medical Microbiology*. 2009; 27 (2): 171-172.
2. Arulkumaran,S, 2011. Malpresentation, malposition, cephalopelvic disproportion and obstetric procedure In: Edmond, D. K., ed. Dewhurst's Textbook of Obstetrics & Gynaecology. USA: Blackwell Publishing, Inc, 213-226.

3. Wilson C. Recurrent vulvovaginitiscandidiasis; an overview of tradisional and alternative therapies. *Ads Nurse Pract.* 2006. Halm 9-24.
4. Almirante, B. Epidemiology and predictorsof mortality in cases of candida bloodstream infection: results from population-based surveillance, Barcelona, Spain, rom 2002-2003. *J Clin microbial.* 2006;43(4):1829-35.
5. Pappas P.G., C.A.Kauffman, D. Andes, D.K. Benjamin, T.F. Calandra, J.E.Edwards, S.G. Filler, J.F.Fisher, B.J.Kullberg, L. Ostrosky-Zeichner, A.C. Reboli, J.H.Rex, T.J.Walsh dan J.D. Clinical Practice Guidelines for the Management Candidiasis: 2009 Update by the infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases.* 2009;48 (5):503-535.
6. Cummings, E.D., C.F. Hoehamer D.J.Diekema, G.M. Hilliard dan P.D Rogers. Changes in the Proteome of *Candida albicans* in Response to Azole, Polyene. Antimicrobial Agents and Chemotherapy.2010;54(5).
7. Tjay dan Rahardja. *Obat-obat penting, Khasiat, Penggunaan dan Efek. Sampingnya (edisi ke-VII).* PT Elex Media Komputindo Kelompok: Jakarta, Indonesia; 2015.
8. Lodise, N. M., dan Shimp, L. A. Vaginal dan Vulvovaginal Disorder: *Handbook of Nonprescription Drugs: An Interactive Approach to Self-Care,* American Pharmacist Association, Washington DC., pp. 2009;117 – 136.
9. Malik, A. *Perbandingan Aktivitas Antijamur dan Fitokimia Minyak Atsiri dan Ekstrak Daun Beluntas* [skripsi]. Jakarta: Jurusan Farmasi FMIPA UI; 2014.
10. Arista, I. Analisa Silsenafi Sitrat pada Obat Tradisional Gali-Gali dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis. Karya Ilmiah pada Program Studi D-3 Kimia Analisis Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara yang di Publikasikan [Online Journal] 2010 [diunduh 14 September 2015]. Tersedia dari: <http://repository.usu.ac.id/handle/123456789/19236>.
11. Susanto, D. Sudrajat dan R.Ruga. Studi Kandungan bahan aktif tumbuhan meranti merah (*Shore leprosula* Miq) sebagai sumber senyawa antibakteri. *Mulawarmnan Scientifie.* 2012;11(2):181-190.
12. P ratiwi, S. *Mikrobiologi Farmasi:* Erlangga, Jakarta; 2008.
13. Redha, A. Falvonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya Dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian.* [Online Journal] 2010 [diunduh 13 Januari 2016]. 9(2):196-202, <Http://repository.polnep.ac.id/xmlui/bitstream/handle/123456789/144/13-Abdi.pdf?sequence=1>.
14. Rohani. Efektivitas Antijamur Fraksi Biji Ketumbar (*Coriandrum sativum* Linn) terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro* [tesis]. Palembang. Program Studi Magister Ilmu Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya; 2014.
15. Djamal, R. *Kimia Bahan Alam Prinsip-Prinsip Dasar Isolasi dan Identifikasi* [tesis]. Univ. Baiturrahman: Padang; 2011.