

Uji Aktivitas Antijamur Fraksi *n*-Heksana, Kloroform dan Air dari Ekstrak Etanolik Daun Zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Antifungal Activity Test fraction of *n*-Hexane, Chloroform and Water from ethanolic leaf extract Zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) against *Candida albicans* ATCC 10 231

Ismi Rahmawati¹, Ratno Agung Samsumaharto², dan Patricius Prima Dimas Putranto³,
^{1,3}Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta
²Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Setia Budi Surakarta
Jl. Let.jen Sutoyo, Mojosongo, Surakarta 57127

ABSTRAK

Daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) adalah tanaman yang secara empiris berkhasiat sebagai antimikroba. Kandungan kimia daun zodia adalah minyak atsiri, flavonoid, alkaloid, saponin dan zodia. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas fraksi *n*-heksan, kloroform, air dari ekstrak etanolik daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi dengan pelarut etanol 96% dilanjutkan dengan pelarut *n*-heksan, kloroform dan air. Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan metode dilusi. Konsentrasi ekstrak etanolik dan fraksi yang digunakan 50%; 25%; 12,5%; 6,2%; 3,1%; 1,5%; 0,7%; 0,3%; 0,1%; 0,09%. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanolik dan fraksi air memiliki konsentrasi bunuh minimum sebesar 25% terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Fraksi air dari ekstrak etanolik dari daun zodia memiliki aktivitas antijamur paling aktif dibandingkan dengan fraksi *n*-heksan dan fraksi kloroform.

Kata kunci : daun zodia, *Candida albicans*, antijamur.

ABSTRACT

Leaves zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) is a plant that is empirically efficacious as antimicrobials. Zodia leaf chemical constituents are essential oils, flavonoids, alkaloids, saponins and tannins. This study was conducted to determine the activity of the fraction to *n*-hexane, chloroform, water from ethanolic extracts of leaves zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff) as antifungals against *Candida albicans* ATCC 10 231. The method used in this research is the method of maceration with 96% ethanol solvent followed by solvent *n*-hexane, chloroform and water. Antifungal activity test performed by dilution method. Concentration of ethanolic extracts and fractions are used 50%; 25%; 12.5%; 6.2%; 3.1%; 1.5%; 0.7%; 0.3%; 0.1%; 0.09%. The results showed that the ethanolic extract and water fraction has committed a minimum concentration of 25% against *Candida albicans* ATCC 10231. The fraction of water from ethanolic extracts of leaves zodia has the most active antifungal activity compared to the fraction of *n*-hexane and chloroform fractions.

Key words: leaves zodia, *Candida albicans*, antifungal.

PENDAHULUAN

Saat ini obat tradisional semakin populer dan lebih diminati oleh masyarakat Indonesia, dikarenakan obat tradisional selain harganya murah juga memiliki efek samping yang relatif ringan apabila dibandingkan dengan obat kimia sehingga hal ini diperkuat dengan ketersediaan sumber bahan obat alam yang banyak ditemukan di Indonesia, sehingga mempunyai potensi yang cukup besar untuk dikembangkan secara optimal sehingga obat tradisional juga menjadi pilihan pengganti atau pengobatan alternatif untuk

penyembuhan penyakit di dalam masyarakat Indonesia (Setiawan 2008).

Jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dianggap sebagai spesies patogen dan menjadi penyebab utama kandidiasis. *Candida albicans* ATCC 10231 merupakan jamur oportunistik penyebab sariawan, lesi pada kulit, vulvovaginitis, kandiduria, gastrointestinal kandidiasis yang dapat menyebabkan gastric ulcer atau bahkan dapat menjadi komplikasi kanker (Kurniawan 2009).

Tanaman yang berpotensi dikembangkan adalah zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.)

tanaman zodia memiliki kandungan kimia pada bagian daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) mengandung alkaloid, saponin, berberine dan furoquinoline (Depkes RI 2003). Komponen minyak atsiri dianalisis dengan metode GC-MS. Spektra GC-MS menampakkan 26 puncak yang menunjukkan adanya 26 komponen penyusun minyak atsiri. Total persentase komponen penyusun adalah 100% dengan komponen utama adalah evodone dengan kadar 72,32%, diikuti dengan menthofuran sebesar 7,52%, limonene 4,73%, curcumene 4,28% dan fonenol 1,66%, sedangkan sisanya merupakan komponen-komponen berkadar rendah (Maryuni 2008). Penelitian yang dilakukan oleh Rosmalina (2013) kandungan tanin pada zodia didapat 2,08% dari semua jenis suku Rutaceace. Hasil analisis fitokimia yang dilakukan oleh Anggreyni (2009) bahwa serbuk simplisia daun zodia (*Evodia hortensis* J.R. & G.Forst) menunjukkan adanya senyawa alkaloida, flavonoida, tanin dan glikosida.

Penyarian senyawa tanaman zodia dilakukan dengan menggunakan metode maserasi karena metode ini merupakan metode ekstraksi yang mudah dilakukan dan sederhana. Metode maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding seldan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dengan larutan di dalam sel. Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, sitrat dan lain-lain.

Penelitian ini menggunakan cairan penyari etanol karena lebih selektif, kapang maupun kuman sulit untuk tumbuh pada etanol dengan konsentrasi 20% keatas, tidak beracun, netral,

absorbsinya baik, dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, dan panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah. Etanol 96 % digunakan dalam penelitian karena sering menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, di mana bahan pengotornya hanya dalam skala kecil turut dalam cairan pengestrak.

Fraksinasi adalah suatu cara memisahkan golongan utama, kandungan yang satu dari golongan yang lain berdasarkan polaritas. Jumlah dan jenis senyawa yang telah dipisahkan akan menjadi fraksi yang berbeda. Senyawa yang bersifat nonpolar akan masuk ke pelarut nonpolar sedangkan yang bersifat polar akan masuk ke pelarut polar. Keuntungan fraksinasi adalah diperolehnya isolat atau senyawa yang lebih spesifik terhadap polaritas pelarut yang digunakan.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antijamur fraksi *n*-heksana, kloroform, dan air dari ekstrak etanolik daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari fraksi *n*-heksana, kloroform dan air ekstrak etanolik daun zodia (*Evodia sauveolens*, Scheff.) sebagai antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 serta aktivitas tertinggi terhadap jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dari ketiga fraksi dapat diketahui.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian adalah serbuk daun zodia, sedangkan jamur yang digunakan adalah *Candida albicans* ATCC 10231. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini meliputi media SGA (*Sabouraud Glucose Agar*), SGC (*Sabougraud Glucose Cair*), Bahan kimia yang digunakan adalah pelarut etanol 96%, *n*-heksana, kloroform, aquadest, HCl 2N, Mayer, Dragendrof, pereaksi besi (III) klorida 5%, amil alkohol.

Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah

timbangan analitik, tabung reaksi, cawan petri, jarum ose, kapas lidi steril, kotak septis inkas, pembakar spiritus, mikroskop, objek glass, dek glass, pipet ukur, gelas ukur, batang pengaduk ayakan nomor 40, waterbath, autoklaf, inkubator, erlenmeyer, *Moisture Balance* dan corong pisah.

Jalannya Penelitian

Tahap pertama dalam penelitian ini adalah menetapkan kebenaran daun zodia dengan mencocokkan ciri fisiologis yang ada pada daun zodia dengan acuan buku, serta dibuktikan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Bogor, Jawa Barat.

Penyiapan Bahan

Daun zodia diperoleh dari Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Bogor, Jawa Barat dalam Pembuatan serbuk daun zodia adalah dengan cara dicuci bersihkan dengan air mengalir agar bebas kotoran dan debu, lalu daun dikeringkan dengan oven pada suhu 40°C, pengeringan bertujuan untuk mengurangi bekerjanya enzim dan perubahan kimia yang dapat menurunkan mutu serta memudahkan dalam proses penyerbukan. setelah kering segera diserbuk dengan mesin penyerbuk atau blender kemudian diayak dengan ayakan nomor 40 sampai serbuk terayak habis sehingga didapatkan serbuk daun zodia yang mempunyai derajat kehalusan yang relatif homogen.

Penetapan susut pengeringan daun zodia menggunakan *Moisture Balance*. Suhu yang digunakan adalah 95 °C dan waktu pengeringan secara manual yaitu 15 menit, kemudian dimasukkan dalam neraca timbang dengan posisi 0,00 dan memasukkan sampel daun zodia 2 gram. Penandaan hasil analisa telah selesai yaitu sampai diperoleh bobot konstan yang dilakukan penimbangan sebanyak 3 kali. Susut pengeringan memenuhi syarat dimana suatu serbuk simplisia tidak boleh lebih dari 10%.

Pembuatan Ekstrak Etanolik dan Fraksinasi

Serbuk daun zodia ditimbang kemudian dimasukkan ke dalam bejana lalu ditambahkan etanol 96% dengan perbandingan 1:7,5. Campuran

tersebut didiamkan selama 5 hari dengan sesekali digojog, setelah itu dipisahkan antara filtrat dengan ampas dengan menggunakan corong Buchner. Filtrat yang diperoleh kemudian dipisahkan dengan *evaporator* pada suhu 40°C sehingga menjadi ekstrak etanol daun zodia.

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang 10 gram ekstrak daun zodia kemudian dilarutkan dengan pelarut air 75 mL, difraksi 3 kali dengan pelarut *n*-heksan masing-masing 75 ml. Proses fraksinasi dilakukan dengan corong pisah, fraksi *n*-heksan terletak diatas dan fase air terletak dibawah. Fraksi *n*-heksan yang didapat dipisahkan menggunakan *evaporator* pada suhu dibawah 40°C. Residu yang didapat dari fraksi *n*-heksan dilanjutkan fraksinasi 3 kali dengan pelarut kloroform 75 ml. Hasil yang didapat adalah fraksi kloroform yang terletak diatas dan fraksi air di bagian bawah. Fraksi kloroform dipisahkan menggunakan *evaporator* pada suhu dibawah 40 °C dan air dipisahkan dengan menggunakan waterbath.

Pembuatan Suspensi Jamur Uji

Candida albicans ATCC 10231 diambil dari biakan murni *Candida albicans* ATCC 10231 sebanyak beberapa ose, kemudian digoreskan pada media *Sabouroud Glukosa Agar* (SGA) miring pada suatu tabung yang kemudian diinkubasi selama 2-5 hari pada suhu 37°C. Hasil inkubasi digunakan sebagai stok jamur uji *Candida albicans* ATCC 10231. Beberapa Ose biakan *Candida albicans* ATCC 10231 dimasukkan ke dalam tabung reaksi, dicampur hingga homogen dan didapatkan kekeruhan yang sama dengan standart Mc Farland 0,5 suspensi yang didapat diencerkan dengan perbandingan 1: 1000.

Pengujian Aktivitas Antijamur Ekstrak dan Fraksi Daun Zodia

Larutan stok secara aseptis tersebut dibuat deret konsentrasi di bawahnya, di mana masing-masing konsentrasi dibuat sampai volume 1 ml ditambahkan 0,5ml suspensi jamur pada masing-masing tabung. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dengan mengamati adanya kekeruhan

pada seri pengenceran sejumlah tabung yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, dimana tabung dengan larutan jernih setelah tabung keruh terakhir merupakan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dengan mennggoreskan larutan dari sejumlah tabung yang hasilnya jernih pada medium selektif kemudian diinkubasi 37°C selama 24 jam dan diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur maka merupakan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ditentukan dari goresan terakhir yang masih terdapat pertumbuhan jamur, sedangkan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ditentukan dari goresan jamur yang sudah tidak terdapat pertumbuhan jamur.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Serbuk daun zodia dimaserasi dengan etanol 96 % kemudian disaring dan dipekatkan. Rendemen ekstrak etanol yang diperoleh dihitung terhadap bobot serbuk sebesar 19,75. Ekstrak lalu di fraksinasi dengan tujuan untuk memisahkan golongan senyawa berdasarkan polaritasnya menggunakan pelarut air sebagai pelarut polar, etil asetat sebagai pelarut semi polar, dan

n-heksan sebagai pelarut nonpolar.

Berdasarkan hasil analisis kualitatif pada Tabel 1 kandungan kimia serbuk daun zodia dapat disimpulkan bahwa serbuk tersebut mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, tanin dan minyak atsiri dari hasil penelitian zodia hal ini didukung oleh Anggreyni (2009)

Hasil fraksi air yang didapatkan lebih banyak dibandingkan fraksi yang lain (Tabel 2) karena mungkin sebagian besar senyawa dalam daun zodia bersifat polar. Rendemen setiap pelarut berbeda karena kemampuan dari masing-masing pelarut dalam menyari senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanolik daun zodia berbeda.

Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur secara Dilusi

Pengujian aktivitas antijamur *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan metode dilusi untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM), dengan membuat konsentrasi 50%; 25%; 12,5%; 6,5%; 3,125%; 1,56%; 0,78%; 0,39%; 0,19%; 0,09%; kontrol (+) dan kontrol negatif (-).

Aktivitas antijamur dapat diketahui dari kekeruhan pada tabung percobaan lalu kemudian di goreskan pada media agar. Hasil menunjukkan Konsentrasi

Tabel 1. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia ekstrak etanolik daun zodia

Senyawa	Hasil
	Keterangan
Saponin	+
Alkaloid	+
Tanin	+
Flavonoid	+
Minyak atsiri	+

Tabel 2. Rendemen fraksi daun zodia

rendemen (%)	
Ekstrak etanolik	19,75
<i>n</i> -heksana	9,06
Kloroform	7,42
Air	30,34

Tabel 3. Hasil identifikasi kandungan senyawa kimia fraksi *n*-heksan, kloroform dan air dari ekstrak etanolik daun zodia

Senyawa	Interpretasi hasil fraksi		
	<i>n</i> -heksan	kloroform	Air
Saponin	-	-	+
Alkaloid	+	-	-
Tanin	-	-	+
Flavonoid	+	+	-
Minyak atsiri	-	+	-

Keterangan :+ : memiliki senyawa
- : tidak memiliki senyawa

Hambat Minimum (KHM) sulit diamati karena warna sampel yang digunakan keruh, sehingga dilanjutkan dengan penggosokan pada media agar.

Penelitian ini menggunakan metode dilusi atau seri pengenceran. Metode ini bermanfaat untuk mengetahui dosis minimal dari obat yang bersifat fungistatik dan fungisid. Konsentrasi minimal fungistatik dapat diketahui dari tabung jernih pada konsentrasi pengenceran tinggi, jika digosokkan pada media SGA akan tumbuh koloni.

Fraksi air daun zodia terbukti memiliki daya hambat minimum terhadap aktivitas antijamur. Hal ini mungkin disebabkan interaksi antara senyawa yang terkandung dalam fraksi air memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans* ATCC10231 adalah saponin dan tanin.

Berdasarkan Tabel 4 di atas terlihat bahwa fraksi air mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terbaik adalah 25%. Fraksi air yang paling optimal dalam membunuh *Candida albicans* ATCC10231, hal ini terkait dengan golongan senyawa yang terdapat dalam fraksi air. Air dapat melarutkan senyawa saponin. Saponin adalah senyawa aktif permukaan yang kuat yang bekerja sebagai antimikroba, (Watson dan preedy 2010). Saponin mempunyai aktivitas antijamur dengan cara melisiskan sel sehingga dapat bersifat fungisida. Saponin dapat menurunkan tegangan permukaan membran sel jamur, sehingga permeabilitasnya terganggu yang meng-

akibatkan kebutuhan sel tidak tercukupi dengan baik. Pertumbuhan sel terhambat kemudian sel akan mati. Senyawa tanin adalah senyawa yang dapat mengikat dan mengendapkan atau menyusutkan protein. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Watson dan preedy 2010).

Hasil Tabel 4 menyatakan bahwa nistatin mempunyai aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu 0,2% ini sebagai pembanding pada fraksi air yang mempunyai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) 0,25%. Dengan demikian penggunaan antibiotik nistatin masih lebih efektif digunakan di masyarakat dibanding hasil ekstrak maupun fraksi daun zodia terhadap jamur.

KESIMPULAN

Ketiga fraksi daun zodia yaitu fraksi *n*-heksan, kloroform dan air yang memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 ialah fraksi air.

Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) fraksi air dari ekstrak etanolik daun zodia (*Evodiasauveolens*, Scheff.) adalah 25% ^b/_v, sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, sedangkan fraksi *n*-heksan dan kloroform dari ekstrak etanolik daun zodia (*Evodiasauveolens*, Scheff.) tidak memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM). Fraksi yang teraktif terhadap *Candida albicans* ATCC

Tabel 4. Perbandingan hasil inokulasi sediaan nistatin dengan uji aktivitas ekstrak, fraksi *n*-heksan, fraksi kloroform dan fraksi air terhadap Jamur *Candida albicans* ATCC 10231

Konsentrasi % ^b / _v	Hasil inokulum di media SGA												Konsentrasi % ^b / _v	Nistatin				
	Ekstrak etanolik			Fraksi heksan			Fraksi kloroform			Fraksi air				I	II	III		
	I	II	III	I	II	III	I	II	III	I	II	III						
Kontrol (-)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
50%	-	-	-	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
25%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
12,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
6,2%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
3,1%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
1,5%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,7%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,3%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,1%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
0,09%	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Kontrol (+)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Keterangan :
 (-): Tidak ada pertumbuhan jamur
 (+): Ada pertumbuhan jamur

10231 adalah fraksi air yang memiliki Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 25%^b/_v sampai konsentrasi 100% yang tidak sebanding dengan nistatin yang mempunyai Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) sebesar 0,2%^b/_v

DAFTAR PUSTAKA

- Anggreyni, M. Z. 2009. *Pembuatan dan Uji Aktivitas Anti nyamuk Bakar dari Ekstrak daun Tumbuhan Zodia (Euodia hortensis J.R. & G.Forst)*. Skripsi. Medan : Fakultas Farmasi Universitas Sumatera Utara
- Kurniawan, J.A. 2009. *Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Rimpang Binahong (Anredera cordifolia (Tenora) Steen) Terhadap Jamur Candida albicansserta Skrining Fitokimianya*. Skripsi. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Maryuni, A. E.. 2008. *Isolasi dan Identifikasi Antibakteri Minyak Atsiri Daun Zodia (Evodia sp.)*. Bogor : Institut Pertanian Bogor.
- Rosmalina S dan Nasution 2013. *Studi Kandungan Tannin pada Daun Famili Rutaceace*. Jurnal. Medan :Universitas Negeri Medan.
- Setiawan D. 2008. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Jakarta: Penerbit Dinamika Media. Halaman 23-25.
- Watson R. R. & Preedy V. R. 2010. *Bioactive Food and Extracts Cancer Treatment and Prevention*, CRC Press, ISBN 978-1-4398-1619-6. Hlm 432