



ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS SOME PLANTS IN ACEH PROVINCE AGAINST *Candida albicans*

Binawati Ginting

Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Syiah Kuala, Darussalam 23111
Banda Aceh, Indonesia

Abstract. It has been tested antifungal essential oils from the leaves of *Wedelia biflora*, leaves of *Citrus hystrix* Dc, leaves of *Ocimum basilicum* L., and flower *Caesalpinia pulcherrima* L. at concentrations of 10, 5 and 1% against *C. albicans*. using the Kirby-Bower. The antifungal activity of essential oils the leaves of *Citrus hystrix* Dc with a concentration of 10%, 5% and 1% respectively show the average of the inhibition zone by 24.5 mm, 23 mm and 10 mm. Essential oils leaves of *Ocimum basilicum* L at concentrations of 10%, 5% and 1% respectively had average inhibition zone of 11.5 mm, 10.5 mm and 6 mm. leaves of *Ocimum basilicum* L., and flower *Caesalpinia pulcherrima* L showed no inhibition of the *C. albicans*

Keywords: *Wedelia biflora.*, *Citrus hystrix* C.D., *Ocimum basilicum* L, *Caesalpinia pulcherrima* L., volatile oil, *Candida albicans*

I. PENDAHULUAN

Tumbuhan memiliki peranan penting dalam kehidupan manusia, selain sebagai sumber bahan makanan, sandang, bahan bakar juga bahan-bahan industri. Berbagai bahan kimia yang terdapat dalam tumbuhan juga dapat dimanfaatkan untuk obat-obatan, insektisida, dan kosmetika. Bahan-bahan kimia tersebut bagi tumbuhan itu sendiri berfungsi sebagai media interaksi antara sesama tumbuhan maupun dengan makhluk hidup lain di sekitarnya serta untuk mempertahankan diri dari berbagai pengaruh luar. Pengaruh lingkungan baik biotik maupun abiotik mendorong tumbuhan untuk memproduksi senyawa *alelokimia* (*alelopati*) untuk mempertahankan kehidupannya. Senyawa *alelokimia* tersebut merupakan senyawa metabolit sekunder yang banyak terdapat pada minyak atsiri [1].

Pengobatan berbagai jenis penyakit dengan menggunakan minyak atsiri disebabkan dalam minyak atsiri terkandung campuran bahan-bahan hayati yang terbentuk dari unsur karbon, oksigen dan hidrogen, seperti aldehid, alkohol, keton, ester, dan terpenoid. Secara umum terpenoid minyak atsiri dikelompokkan menjadi dua golongan, yaitu monoterpenoid dan sesquiterpenoid yang merupakan isoterpenoid C₁₀ dan C₁₅ yang memiliki titik didih berkisar antara 150° C sampai 300° C pada tekanan 760 mmHg [1].

Tumbuhan yang mengandung minyak atsiri umumnya memiliki aroma khas. Beberapa diantaranya telah dikenal luas sebagai obat-obatan

seperti minyak cendana, minyak kayu putih dan minyak cengkeh. Tumbuhan seruni laut, jeruk purut, selasih dan kembang merak juga telah sering digunakan oleh masyarakat untuk pengobatan penyakit tertentu secara tradisional. Tumbuh-tumbuhan tersebut juga diduga mengandung minyak atsiri karena memiliki aroma yang khas. Seruni laut (*Wedelia biflora*) sering digunakan sebagai obat untuk mengobati sakit gigi, keputihan, obat luka dan untuk meredakan demam. Jeruk purut (*Citrus hystrix*) berkhasiat sebagai penyegar, menghilangkan kulit bersisik dan di daerah pedesaan sering digunakan pada kulit kepala untuk menghilangkan ketombe. Selasih (*Ocimum basilicum*) berkhasiat melancarkan peredaran darah, mengobati sariawan dan TBC. Kembang merak (*Caesalpinia pulcherrima*) juga memiliki khasiat mengobati sariawan, menghilangkan rasa mual dan mengobati batuk serta penyakit asma [2]. Keputihan, sariawan dan ketombe merupakan beberapa penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur.

Salah satu jamur yang cukup dikenal dalam mikrobiologi adalah *Candida albicans* yang merupakan penyebab infeksi oleh jamur yang paling signifikan. *Candida albicans* adalah sejenis jamur yang normal berada dalam rongga mulut, saluran pencernaan dan vagina. Dalam kondisi menurunnya kekebalan tubuh atau faktor lainnya jamur ini dapat menyebabkan kandidiasis yang sering terjadi dirongga mulut dan menyumbang angka kematian diatas 25%. Oleh karena itu berbagai penelitian mencari senyawa bioaktif untuk melawan jamur *C. albicans* terus dilakukan dan dikembangkan.

II. METODOLOGI

Peralatan yang digunakan meliputi perangkat distilasi uap, erlenmeyer, gelas ukur, cawan petri, timbangan, corong pisah, neraca elektronik, autoklaf, inkubator, seperangkat peralatan spektrometer massa dan beberapa alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium kimia organik dan biokimia. Kawat ose, autoklaf, *blank disc*, kapas, dan inkubator. Data GC-MS diukur dengan alat Shimadzu GC-MS QP2000A spektrometer 70 eV.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: dietil eter, reagen Liberman-Bourchard (asam asetat glasial- $H_2SO_{4(P)}$), reagen Mayer (kalium tetra iodo merkurat), reagen Dragendorf ($Bi(NO_3)_3$) dan reagen Wagner (I_2 dalam KI), *n*-heksana, metanol. Bahan yang digunakan untuk uji antifungal adalah barium klorida dihidrat, asam sulfat, etanol, *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), dan cakram nistatin.

Material Tumbuhan dan Bioindikator

Sampel daun seruni laut, daun jeruk purut, daun selasih dan kembang merak diambil di daerah Kecamatan Lhoknga, Kab Aceh Besar. Sampel dideterminasi di Jurusan Biologi, FMIPA, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh. Jamur *C. albicans* diperoleh dari Badan Pengawasan Obat dan Makanan (BPOM), Banda Aceh.

Pemisahan minyak atsiri dari sampel tanaman

Sebelum dikeringanginkan, sampel segar dilakukan uji fitokimia. Pengujian tersebut meliputi uji terpenoid, steroid, fenol dan saponin.

Bagian sampel segar tanaman yang ingin dipisahkan minyak atsirinya, di kering anginkan selama 24 jam, kemudian dirajang halus dan ditimbang, kemudian didestilasi. Minyak yang masih bercampur dengan air yang diperoleh ditampung dalam corong pisah. Minyak yang diperoleh dibagi menjadi dua bagian untuk uji aktivitas antifungal dan GC-MS.

Uji Hayati

Pengujian dilakukan dengan metoda difusi agar menggunakan cakram. Media yang digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Sebanyak 6,5 g SDA, dilarutkan dalam 100 mL aquades dan disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Tiap cawan petri diisi dengan media sebanyak 20 mL, dan ditunggu

media sampai mengeras. Kemudian masukkan suspensi jamur *C. albicans* dengan metoda sprider yang telah bandingkan dengan standar Mc Farland 0,5. Dimasukkan cakram yang telah diberi larutan uji beserta cakram kontrol dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam.

Untuk satu set percobaan diletakkan cakram berisi larutan uji dengan konsentrasi 1%, 5% dan 10%, kontrol positif (nistatin 100 µg) dan kontrol negatif (air) pada daerah yang berbeda dalam media tumbuh jamur. Diamati pertumbuhan jamur untuk setiap area setelah 24 jam. Bila zona hambat belum tampak, dibiarkan selama 24 jam lagi, kemudian diamati kembali apakah ada zona hambatan atau tidak, daerah hambatan yang terjadi diukur dengan penggaris dalam satuan milimeter (mm).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia

Sampel tumbuhan dianalisis secara fitokimia untuk menentukan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam tumbuhan tersebut, adapun uji yang dilakukan adalah uji terpenoid, steroid, fenol dan saponin. Hasil uji fitokimia terhadap keempat sampel tersebut ditunjukkan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia

No	Tumbuhan	T	St	F	Sa
1.	Daun Seruni laut	+	-	+	+
2.	Daun Jeruk purut	+	+	-	+
3.	Daun Selasih	+	-	+	+
4.	Bunga Kembang Merak	+	-	+	-

Keterangan: T = terpenoid, St= steroid, F = fenol, Sa = saponin

Berdasarkan Tabel 1 di atas dapat dilihat bahwa semua sampel mengandung senyawa terpenoid, saponin (kecuali bunga Kembang Merak), fenol (kecuali daun jeruk purut) namun senyawa steroid hanya terdapat pada daun jeruk purut. Minyak atsiri biasanya merupakan golongan terpenoid, sebagian besar merupakan monoterpen atau sesquiterpen yang mempunyai titik didih 150° C sampai 300° C pada tekanan 760 mmHg.

Destilasi Minyak Atsiri

Destilasi minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metode penyulingan uap air. Tabel 2 berikut ini menunjukkan hasil destilasi minyak atsiri.

Tabel 2. Hasil Destilasi Minyak Atsiri

No	Sampel	Jumlah Sampel (g)	Jumlah Minyak Atsiri (g)	Hasil (%)
1	Daun Seruni Laut	1.100	1,7	0.10
2	Daun Jeruk Purut	700	2,0	0.28
3	Daun Selasih	525	1,7	0.31
4	Kembang Merak	2.120	1,5	0,07

Berdasarkan Tabel 2 minyak atsiri yang lebih banyak berturut-turut diperoleh dari sampel daun selasih, daun jeruk purut, daun seruni laut dan bunga kembang merak.

Minyak atsiri dari tumbuhan yang berbeda kuantitas juga berbeda, bahkan tumbuhan sama juga dapat menghasilkan minyak atsiri yang berbeda kualitas dan kuantitasnya. Selain cara pengolahan dan alat destilasi yang digunakan, lokasi pengambilan sampel dan lamanya proses destilasi juga sangat mempengaruhi rendemen hasil destilasi minyak atsiri yang diperoleh [4].

Karakterisasi Minyak Atsiri

Karakterisasi minyak atsiri dilakukan untuk menentukan sifat-sifat fisik berupa bau, warna dan indeks biasnya. Hasil penentuan sifat fisik minyak atsiri ini dapat dilihat pada Tabel 3 berikut ini.

Tabel 3. Sifat Fisik Minyak Atsiri

No	Minyak Atsiri	Warna	Bau	Indek Bias
1	Daun Seruni Laut	Bening Jernih	Bau khas tumbuhan aslinya	1,94
2	Daun Jeruk Purut	Kuning Jernih	Bau khas tumbuhan aslinya	1,50
3	Daun Selasih	Bening Jernih	Berbau pedas seperti mint	2,27
4	Kembang Merak	Kuning agak keruh	Bau menyengat seperti tanaman aslinya	1,45

Sifat fisik dan aroma minyak atsiri pada tumbuhan memiliki keanekaragaman, bahkan satu jenis tumbuhan yang sama bila ditanam di tempat yang berlainan bisa menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang berbeda [3], hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor iklim, keadaan tanah, sinar matahari dan cara pengolahannya [4]. Namun pada umumnya minyak atsiri memiliki ciri-ciri fisik berwarna kuning atau bening yang jernih, berbau khas tumbuhan aslinya dan indeks bias berkisar antara 1,3 sampai 1,7 [1].

Uji Antifungal

Uji antifungal minyak atsiri keempat tumbuhan sampel dilakukan dengan metode Kirby-Bower menggunakan cakram. Mikroorganisme yang digunakan adalah *C. albicans*. Suspensi jamur *C. albicans* dibuat dengan aquades, digunakan larutan standar Mc Farlan 0,5 sebagai pembanding agar diperoleh kekeruhan yang sama. Larutan Mc Farlan biasa digunakan dalam mikrobiologi sebagai acuan untuk menentukan kekeruhan atau jumlah jamur dalam suatu suspensi jamur.

Suspensi yang sudah dibuat diinokulasi dalam media SDA. Diameter daya hambat yang diperoleh digunakan sebagai parameter dalam mengukur besarnya aktivitas sampel dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* dibandingkan dengan kontrol positif yaitu nistatin.

Minyak atsiri yang akan diuji dibuat dalam tiga variasi konsentrasi yaitu konsentrasi 10%, 5% dan 1% menggunakan pelarut air dan masing-masing diuji dua kali pengulangan (duplo). Tabel 4 menunjukkan rata-rata diameter daya hambat masing-masing sampel.

Tabel 4. Rata-rata diameter daya hambat minyak atsiri terhadap *C. albicans* (mm)

No	Sampel	K(+)	K(-)	10%	5%	1%
1	Seruni Laut	21.5	-	-	-	-
2	Jeruk Purut	21.0	-	24,5	23,0	10,0
3	Selasih	15.5	-	11,5	10,5	6,0
4	Kembang Merak	23.0	-	-	-	-

Keterangan: K(+) = Kontrol positif; K(-) = Kontrol negatif

Berdasarkan Tabel 4 diatas dapat dilihat bahwa minyak atsiri daun jeruk purut menunjukkan rata-rata diameter daya hambat yang paling kuat pada konsentrasi 10%, 5% dan 1% berturut-turut 24,5 mm, 23 mm dan 10 mm. Hal ini menunjukkan bahwaminyak atsiri daun jeruk purut pada konsentrasi 10% dan 5% mempunyai aktivitas antifungal yang lebih kuat dibandingkan dengan kontrol positifnya.

Minyak atsiri daun selasih pada konsentrasi 10%, 5% dan 1% berturut-turut menunjukkan rata-rata daya hambat sebesar 11,5 mm, 10,5 mm dan 6 mm, sedangkan untuk seruni laut dan kembang merak tidak mempunyai daya hambat terhadap jamur *C. albicans*.

Suatu zat aktif dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme dengan cara merusak struktur dinding sel, menghambat kerja enzim, menghambat fungsi membran sel, dan atau menghambat sintesis protein dan asam nukleat.

Tumbuhan seruni laut banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat keputihan, batu karang, bisul dan untuk meredakan demam, Sedangkan kembang merak digunakan oleh masyarakat untuk mengobati gangguan pernafasan seperti asma, radang tenggorokan, sariawan dan batuk.

Ada beberapa alasan yang dapat menjelaskan tidak aktifnya suatu sampel minyak atsiri yang terbukti berkhasiat secara tradisional terhadap bioindikator yang di uji yaitu:

- Zat aktif yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme tidak terdapat dalam atsirinya tetapi terdapat dalam ekstrak atau kandungan alami tumbuhan tersebut.
- Kondisi penyulingan menyebabkan mutu minyak atsiri yang dihasilkan tidak sama baiknya dengan minyak alamiahnya [4].

Analisis GC-MS

Empat sampel yang dianalisis dengan *Gas Chromatography-Mass Spectra* (GC-MS) menunjukkan bahwa beberapa sampel mempunyai kemiripan senyawa dengan persentase kemiripan hingga 99% dengan *data bases*.

Daun Seruni Laut

Spektrum GC-MS minyak atsiri daun seruni laut menunjukkan 18 komponen senyawa dengan tujuh komponen utama (Tabel 5). Salah satu senyawa (Z)-1,2,4-trimetoksi-5-(1-propenil) dengan persentase kandungan adalah 16,78 dan kualitas kemiripan sebesar 99 persen dan kandungan ini adalah ciri-ciri minyak atsiri daun seruni laut.

Tabel 5. Kandungan utama minyak atsiri Daun Seruni Laut hasil analisis dengan GC-MS

No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	Kandungan senyawa (%)	Kualitas kemiripan (%)
1	5,61	1H-siklopenta [1,3]siklopropana [1,2] benzena	9,34	42
2	5,78	Naftalena-1,2,3,5,6,8a-heksahidro-4,7-dimetil-1,1-(1-metiletil)-	7,83	95
3	6,29	1H-sikloprop[el]azule	10,65	97

		n-7-ol		
4	6,33	Karyofilena oksida	5,18	90
5	6,40	1,2,4-trimetoksi-5-(1-propenil)-benzena	8,02	99
6	6,80	(Z)-1,2,4-trimetoksi-5-(1-propenil)	16,78	99

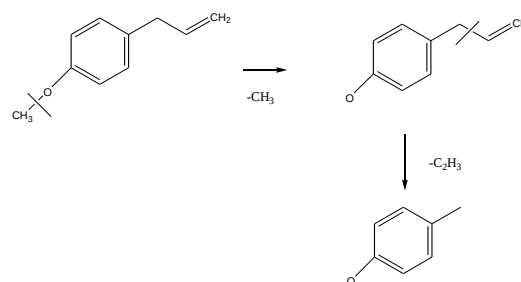
Daun Jeruk Purut

Berdasarkan spektrum GC-MS minyak atsiri daun jeruk purut terdapat 19 senyawa yang mirip dengan *database* dengan tiga komponen utama (Tabel 6)

Tabel 6. Kandungan utama minyak atsiri Daun Jeruk Purut hasil analisis dengan GC-MS

No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	Kandungan senyawa (%)	Kualitas kemiripan (%)
1	3,99	Estragol	13,03	98
2	5,19	2-(2-hidroksi-2-propil)-5-metilsikloheksanol	12,97	90
3	3,37	p-mentana-3,8-diol, cis-1,3, trans 1,4	13,05	35

Salah satu senyawa dengan persentase kemiripan terbesar dalam minyak atsiri jeruk purut adalah estragol. Bentuk pola fragmentasi estragol ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Pola Pragmentasi Estragol

Daun Selasih

Spektrum GC-MS daun selasih mengandung 25 senyawa dengan lima komponen utama (Tabel 7)

Tabel 7. Kandungan utama minyak atsiri Daun Selasih Laut hasil analisis dengan GC-MS

No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	Kandungan senyawa (%)	Kualitas kemiripan (%)
1	3,48	Estragol	18,50	98

2	4,19	4-metoksi benzaldehida	7,37	95
3	6,22	2,4,6-sikloheptatrien-1-on, 2-hidro-4-(1-metiletil)-	19,63	38
4	6,37	2-hidroksi-2-(4-metoksifenil)-N-metil asetamida	11,94	64
5	6,68	Bisiklo[4,4,0]dek-1-ene, 2-isopropil-5-metil-9-metilen	5,21	91

Berdasarkan Tabel 7 terdapat lima senyawa utama dengan persentase kandungan lebih 5%. Komponen senyawa utama dalam sampel tersebut adalah 2,4,6-sikloheptatrien-1-on, 2-hidro-4-(1-metiletil), namun mempunyai kualitas kemiripan dengan *data base* hanya 38%. Estragol juga menunjukkan komponen mayor dalam sampel dengan kualitas kemiripan dengan *data base* adalah 98%. Senyawa ini merupakan ciri-ciri kandungan senyawa dalam minyak atsiri disamping kandungan lainnya, misalnya kubena dan patchouli alkohol.

Kembang Merak

Analisis GC-MS minyak atsiri bunga merak memperlihatkan 42 komponen senyawa. Hanya tiga senyawa yang mempunyai persentase kandungan senyawa di atas 5% (Tabel 8), selain itu hampir semuanya dalam jumlah minor.

Tabel 8. Kandungan utama minyak atsiri kembang merak hasil analisis dengan GC-MS

No	Waktu retensi (menit)	Nama senyawa	Kandungan senyawa (%)	Kualitas kemiripan (%)
1	6,36	Karyofilena oksida	5,83	96
2	6,72	Kopaena	5,66	97
3	6,80	Kadinol	5,77	99

KESIMPULAN

- Hasil destilasi minyak atsiri yang lebih banyak berturut-turut diperoleh dari sampel daun selasih, daun jeruk purut, daun seruni laut dan kembang merak, dengan persentase rendemen hasil berturut-turut adalah 0,31%; 0,28%; 0,10 % dan 0,07% dari sampel segarnya.
- Hasil uji antifungal minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 10%, 5% dan 1% masing-masing menunjukkan daya hambat rata-rata sebesar 24,5 mm, 23,0 mm dan 10,0 mm. Minyak atsiri daun selasih pada konsentrasi 10%, 5% dan 1% masing-masing menunjukkan daya hambat sebesar 11,5 mm, 10,5 mm dan 6,0 mm. Daun seruni laut dan kembang merak belum menunjukkan adanya daya hambat terhadap *C. albicans*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kepada Bapak Dr. Nurdin Saidi, M.Si dan Fajrina, S.Si serta semua pihak yang telah membantu penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- S. Ketaren, 1985, Pengantar Minyak Atsiri. Balai Pustaka, Jakarta.
- S. Haryanto. 2009. Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia. Palmall, Jogjakarta.
- I. Ismail, S. Lemriss, Z. Ben Aoun, L. Mhadhebi, A. Dellai, Y. Kacem, P. Boiron dan A. Bouraoui, 2008, Antifungal activity of aqueous and methanolic extracts from the Mediterranean sea cucumber, *Holothuria polii*, *Journal de Mycologie Médicale*, 18 (1): 23-26
- E. Guenther, 1987, Minyak Atsiri. Jilid I. Universitas Indonesia (UI-Press), Jakarta.