

Aktivitas Daya Hambat Minyak Atsiri dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap *Candida albicans*

Tiah Rachmatiah^{1*}, Vilya Syafriana¹, Lenggo Elfira¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jaksel 12640

*E-mail korespondensi: tiahrachmatiah@yahoo.com

ABSTRAK

Piper crocatum dengan nama lokal sirih merah mengandung minyak atsiri dan senyawa aktif seperti flavonoid, tanin dan saponin yang diketahui mempunyai beberapa bioaktivitas seperti antifungi. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya hambat minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Candida albicans*. Minyak atsiri diperoleh dari daun segar secara destilasi uap air. Ekstrak dibuat secara soxhletasi serbuk daun menggunakan pelarut etanol 96%. Aktivitas daya hambat minyak atsiri dan ekstrak etanol terhadap *C. albicans* diuji dengan metode difusi cakram pada media *Sabouraud Dextrose Agar*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa minyak atsiri daun sirih merah mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 50%, 60% dan 70% dengan diameter daya hambat berturut-turut 12,17 mm, 13,17 mm dan 21,17 mm. Sementara itu, ekstrak etanol memperlihatkan diameter daya hambat 7,83 mm, 8,40 mm, 9,00 mm, 9,87 mm dan 7,87 mm pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60% dan 70%.

Kata kunci: *Candida albicans*, ekstrak etanol, minyak atsiri, *Piper crocatum*

Inhibitory Activity Of Essential Oil and Ethanol Extract from *Piper crocatum* Leaves Against *Candida albicans*

ABSTRACT

Piper crocatum with the local name of red betel contains essential oil and active compounds, including flavonoids, tannins and saponins which are known to have various bioactivities such as antifungi. This study was conducted to determine the inhibitory activity of essential oil and ethanol extract of red betel leaves against *Candida albicans*. The essential oil was obtained from fresh leaves by steam distillation. The extract was prepared from leaves powder by soxhletation using 96% ethanol. The inhibitory activity test against *C. albicans* of essential oil and ethanol extract was carried out by disc diffusion method in *Sabouraud Dextrose Agar*. The results showed that the essential oil of red betel leaves had inhibitory activity on the growth of *C. albicans* at concentration of 50%, 60% and 70% with zone of inhibition of 12.17 mm, 13.17 mm and 21.17 mm, respectively. Meanwhile, ethanol extract showed 7.83 mm, 8.40 mm, 9.00 mm, 9.87 mm and 7.87 mm at 30%, 40%, 50%, 60% and 70% respectively.

Keywords: *Candida albicans*, ethanol extract, essential oil, *Piper crocatum*

PENDAHULUAN

Penyakit yang ditimbulkan akibat infeksi fungi banyak diderita oleh masyarakat luas. Salah satu jenis penyakit infeksi fungi adalah keputihan, yang biasa disebabkan oleh *Candida albicans*. *Candida albicans* adalah kelompok mikroflora normal yang terdapat di dalam saluran pencernaan, saluran urogenital dan kulit manusia. *Candida albicans* merupakan kelompok fungi oportunistik yang apabila kondisi mendukung dapat berubah menjadi

patogen (Dowd, 2007). Sekitar 75% wanita di dunia pernah mengalami kandidiasis vulvovaginalis (keputihan) paling tidak sekali seumur hidup dan sebanyak 40-50% wanita mengalami keputihan lebih dari satu kali (Mayer *et al.*, 2013). Pemberian antifungi dari bahan kimia biasa dilakukan untuk mengatasi infeksi fungi, namun penggunaan antifungi tersebut memiliki beberapa kelemahan selain harganya mahal juga sering menimbulkan beberapa masalah seperti adanya efek samping, aturan pakai yang menyulitkan dan perlunya pengawasan dokter, serta

kemungkinan terjadinya resistensi akibat penggunaan antifungi yang tidak teratur. Oleh karena itu, obat alami dari tumbuhan dapat menjadi alternatif dalam pengobatan infeksi fungi.

Salah satu tanaman yang telah diteliti sebagai antifungi alami adalah sirih dari suku Piperaceae. Sirih merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai obat di Asia Tenggara. Jenis sirih yang sering digunakan sebagai obat tradisional selain sirih hijau dan sirih hitam adalah jenis sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.). Seperti sirih hijau, daun sirih merah juga mengandung senyawa kimia seperti alkaloid, flavonoid, tanin, dan minyak atsiri (Parfati & Windono, 2016). Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki daya antibakteri dan antifungi (Cowan, 1999). Penelitian sebelumnya pada ekstrak etanol 70% daun sirih merah yang dibuat secara maserasi telah dibuktikan memiliki daya antifungi terhadap *C. albicans* pada konsentrasi ekstrak 10%, 20%, 40%, 80% dan 100% dengan diameter zona hambat 8,7; 10,7; 13,3; 12,3; dan 9,3 mm (Candrasari *et al.*, 2012). Hasil tersebut menunjukkan bahwa terjadi penurunan zona hambat pada konsentrasi 80% dan 100%, sehingga dilakukan penelitian dengan interval konsentrasi yang lebih kecil. Minyak atsiri dari daun sirih merah diketahui memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, dan *Pseudomonas aeruginosa* (Marliyana *et al.*, 2013). Akan tetapi, penelitian mengenai aktivitas daya hambat minyak atsiri daun sirih merah terhadap fungi belum banyak dilaporkan.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan alat. Daun sirih merah segar (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) berumur 4-5 bulan yang diperoleh dari Pusat Studi Biofarmaka Tropika, Institut Pertanian Bogor, Dramaga, Bogor, Jawa Barat. Mikroorganisme uji yang digunakan yaitu biakan *Candida albicans* yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Program Studi Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional. Medium *Sabouraud Dextrose Agar* (Oxoid) dan cakram nistatin sebagai kontrol positif, etanol 96% (teknis), Natrium sulfat anhidrat (Merck), DMSO (Merck), Tween 80. Seperangkat alat Soxhlet, alat destilasi uap, alat-alat gelas (Iwaky-Pyrex), autoklaf, lemari pendingin, oven, kertas cakram steril, cawan petri, jangka sorong, jarum ose, LAF (*Laminar Air Flow*), lampu spiritus, mikropipet, pengaduk kaca, pinset, *spreader glass*, timbangan digital, *vortex*, *waterbath*, *hotplate*.

Minyak atsiri daun sirih merah. Minyak atsiri daun sirih merah diperoleh dengan cara destilasi uap dan air. Sebanyak 1,2 kg daun sirih merah segar yang telah dibersihkan, dipotong lalu diletakkan di atas saringan berlubang di dalam ketel suling. Ketel suling diisi dengan air sampai permukaan air berada tidak jauh di bawah saringan lalu dipanaskan. Proses destilasi dilakukan pada suhu 110-115°C selama 3-4

jam. Minyak atsiri dan air yang terdestilasi dipisahkan kemudian minyak dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat dan disaring menggunakan kertas saring. Minyak atsiri yang diperoleh kemudian disimpan dalam wadah yang tertutup rapat.

Pembuatan ekstrak daun sirih merah. Daun sirih merah segar yang telah dibersihkan, dikeringkan dengan cara dijemur di bawah sinar matahari dan ditutupi dengan kain hitam selama dua hari, kemudian pengeringan dilanjutkan dalam lemari pengering simplisia (*oven*) pada suhu 50°C selama lebih kurang 4 jam. Daun yang sudah kering diserbuk, setelah itu diayak dengan ayakan berukuran mesh 60. Ekstrak dibuat secara Soxhletasi. Sebanyak 100 g serbuk daun sirih merah dibungkus dalam kertas saring dan dimasukkan ke dalam tabung Soxhlet. Soxhletasi dilakukan dengan menggunakan 600 ml etanol 96% dan dihentikan ketika cairan dalam tabung Soxhlet sudah tidak berwarna. Ekstrak yang diperoleh diuapkan dalam penguap putar vakum dan diperoleh ekstrak kental.

Uji daya hambat. Aktivitas daya hambat minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* diuji dengan menggunakan metode difusi cakram. Minyak atsiri daun sirih merah diencerkan dengan menggunakan 2,5% Tween 80 sebagai pengemulsi dan pelarut aquadest steril (emulsi tipe o/w). Konsentrasi minyak atsiri untuk pengujian adalah 20%, 30%, 40%, 50%, 60% dan 70%. Ekstrak etanol daun sirih merah dibuat larutan dalam DMSO dengan konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60% dan 70%. *C. albicans* disuspensikan dalam larutan NaCl 0,9% hingga kekeruhannya setara dengan Mc Farland 3 yang kemudian diencerkan kembali hingga diperoleh konsentrasi 9×10^6 CFU/ml. Medium yang digunakan adalah *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), dengan cakram nistatin 100 UI sebagai kontrol positif, serta larutan Tween 80 dalam aquadest dan DMSO sebagai kontrol negatif. Sebanyak 15-20 ml larutan SDA steril dituang ke dalam cawan petri steril dan dibiarkan hingga memadat. Sebanyak 0,1 ml suspensi inokulum fungsi dipipet dan dituangkan ke atas SDA yang telah memadat di dalam cawan petri dan diratakan menggunakan *spreader glass*. Setelah itu, di atas SDA yang telah diinokulasikan fungsi diletakkan kertas cakram yang telah berisi minyak atsiri dan ekstrak etanol dengan berbagai konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif, kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 48 jam. Zona hambat yang terbentuk di sekeliling cakram diamati dan diukur diameternya menggunakan jangka sorong. Pengujian dilakukan sebanyak 3 x pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian aktivitas daya hambat ekstrak etanol dan minyak atsiri daun sirih merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* dapat dilihat pada Tabel 1 dan Tabel 2.

Tabel 1. Hasil uji aktivitas daya hambat ekstrak etanol daun sirih merah terhadap *Candida albicans*

Bahan uji	Konsentrasi	Diameter Zona hambat (mm)			
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rerata
Ekstrak	30%	8,00	8,00	7,50	7,83
	40%	8,50	8,20	8,50	8,40
	50%	9,00	9,00	9,00	9,00
	60%	10,00	9,60	10,00	9,87
	70 %	8,00	7,60	8,00	7,87
Kontrol + (Nistatin)	100 UI	27,00	26,50	26,00	26,5
Kontrol - (DMSO)	-	-	-	-	-

Keterangan : - tidak ada zona hambat

Data pada Tabel 1 menunjukkan bahwa *C. albicans* resisten terhadap ekstrak etanol daun sirih merah pada konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, dan 70% karena rerata diameter zona hambat ≤ 16 mm (Coyle, 2005). Hasil yang hampir sama juga dilaporkan dari penelitian sebelumnya pada ekstrak etanol daun sirih merah dengan diameter zona hambat yang sedikit lebih tinggi yaitu 10,7 mm, 13,3 mm, 12,33 mm, dan 9,3 mm pada konsentrasi 20% , 40%, 80% dan 100% (Candrasari *et al.*, 2012). Perbedaan ini kemungkinan dari metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan, dimana penelitian sebelumnya menggunakan metode maserasi sedangkan pada penelitian ini metode yang digunakan adalah soxhletasi sehingga kemungkinan adanya senyawa yang termolabil yang terkandung di dalam daun sirih merah rusak. Metode soxhletasi memberikan beberapa keuntungan seperti pelarut yang digunakan lebih sedikit dan secara langsung diperoleh hasil yang lebih pekat, namun karena larutan dipanaskan terus menerus dapat mengakibatkan rusaknya zat aktif yang tidak tahan pemanasan (Anonim, 1986). Selain itu, kepolaran pelarut juga akan mempengaruhi jenis dan kuantitas senyawa yang tersari karena pada penelitian ini menggunakan etanol 96% sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan etanol 70%.

Hasil penelitian juga memperlihatkan terjadinya penurunan zona hambat dari konsentrasi 60% (9,87 mm) ke 70% (7,87 mm). Penurunan ini sama dengan hasil penelitian Candrasari *et al.* (2012) yang terjadi penurunan zona hambat dari konsentrasi 80% (12,30 mm) ke 100% (9,30 mm). Hal ini dapat terjadi karena etanol merupakan pelarut spektrum luas, sehingga kemungkinan senyawa polar dan nonpolar yang tidak memiliki aktivitas antimikroba ikut terekstraksi. Oleh karena itu ketika konsentrasi ekstrak tinggi maka senyawa-senyawa yang terkandung juga semakin tinggi termasuk senyawa yang tidak memiliki aktivitas antibakteri yang akan mengurangi laju difusi dan mengakibatkan penghambatan pertumbuhan mikroba tidak maksimal (Sinarsih *et al.*, 2016).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas daya hambat minyak atsiri daun sirih merah terhadap *Candida albicans*

Bahan uji	Konsentrasi	Diameter Zona hambat (mm)			
		Ulangan 1	Ulangan 2	Ulangan 3	Rerata
Minyak atsiri	20%	-	-	-	-
	30%	8,50	8,50	8,50	8,50
	40%	9,00	9,00	9,00	9,00
	50%	12,00	12,50	12,00	12,17
	60%	13,00	13,50	13,00	13,17
	70 %	21,00	21,00	21,50	21,17
Kontrol + (Nistatin)	100 UI	27,00	26,50	27,00	26,83
Kontrol - (Tween 80)	2,5%	-	-	-	-

Keterangan: - tidak ada zona hambat

Uji aktivitas daya hambat minyak atsiri pada Tabel 2 memperlihatkan bahwa zona hambat mulai terbentuk pada konsentrasi minyak atsiri 30% (8,5 mm) dan diikuti pada konsentrasi 40% dengan diameter zona hambat 9 mm. Diameter zona hambat makin meningkat pada konsentrasi 50%, 60%, dan 70%, yaitu sebesar 12,17 mm, 13,17 mm dan 21,17 mm secara berurutan. Hasil ini menunjukkan bahwa *C. albicans* resisten terhadap minyak atsiri daun sirih merah pada konsentrasi 20%, 30%, 40%, 50% dan 60% karena diameter zona hambat yang terbentuk lebih kecil dari 16 mm, sementara itu *C. albicans* rentan terhadap minyak atsiri daun sirih merah pada konsentrasi 70% karena terbentuk diameter zona hambat ≥ 21 mm (Coyle, 2005)

Kandungan minyak atsiri yang terdapat di daun sirih merah adalah: α -thuyene, α -pinene, sabinen, β -myrcene, α -terpinene, β -phellandrene, γ -terpinene, β -terpineol, terpinolen, α -terpineol, copaene, caryophyllene, α -caryophyllene, dan germacrene D (Marliyana *et al.*, 2013; Parfati & Windono, 2016). Komponen minyak atsiri seperti α -pinene, α -terpinene, dan γ -terpinene memiliki aktivitas antimikroba dengan merusak membrane sel atau menghambat terbentuknya dinding sel pada fungi. Perusakan membran sel dengan cara mengikat atau menghambat pembentukan ergosterol sehingga membran sel akan rusak/bocor dan akhirnya hancur. Dinding sel fungi juga dirusak dengan cara menghambat pembentukan β -glukan yang merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel fungi (Nazzaro *et al.*, 2017).

KESIMPULAN

Minyak atsiri daun sirih merah mempunyai aktivitas daya hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 50%, 60% dan 70% dengan diameter daya hambat berturut-turut 12,17 mm; 13,17 mm dan 21,17 mm. Sementara itu, ekstrak etanol memperlihatkan diameter daya hambat 7,83 mm; 8,40 mm;

9,00 mm; 9,87 mm dan 7,87 mm pada konsentrasi 30%; 40%; 50%; 60% dan 70%.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. (1986). *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Candrasari, A., Romas, M.A., Hasbi, M., & Astuti, O.R. (2012). Uji daya antimikroba ekstrak etanol daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Eschericia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara *in vitro*. *Biomedika*, **4**(1): 9-16.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*, **12**(4): 564-582.
- Coyle, M. B. (2005). Manual of Antimicrobial Susceptibility Testing. America: American Society for Microbiology. **3**, 39-52.
- Dowd, J. F. (2007). *Candida Albicans* Infections, xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference, Elsevier, 1-5.
- Marliyana, S.D., Handayana, N., Ngaisaha, S., & Setyowati, E.N. (2013). Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun sirih merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.). *Alchemy Jurnal Penelitian Kimia*, **9**(2): 33-40.
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, **4**(2): 119–128.
- Nazzaro, F., Fratianni, F., Raffaele, & De Feo, V. (2017). Essential oils and antifungal activity. *Pharmaceuticals*, **10**(86): 2-20.
- Parfati, N. & Windono T. (2016). Sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav.) kajian pustaka aspek botani, kandungan kimia, dan aktivitas farmakologi. *Media Pharmaceutica Indonesia*, **1**(2): 106-115.
- Sinarsih, N.K., Rita, W.S., & Puspawati, N.M. (2016). Uji efektifitas ekstrak daun trembesi (*Samanea saman* (Jacq.) Merr.) sebagai antibakteri *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Cakra Kimia*, **4**(2): 129-136.