

Efek Ekstrak Daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray) terhadap *Candida albicans* serta Profil Kromatografinya

Asri Sulistijowati S*, Didik Gunawan**

Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan
Departemen Kesehatan RI, Jakarta

** Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Telah dilakukan uji mikrobiologi terhadap hambatan pertumbuhan *Candida albicans* oleh ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat daun Kembang Bulan (*Tithonia diversifolia* A. Gray.), serta pemeriksaan golongan kimia yang terdapat dalam daun tanaman tersebut.

Pemeriksaan golongan kimia tanaman dan aktivitas menghambat pertumbuhan *C. albicans* dilakukan dengan cara terlebih dahulu mengekstraksi serbuk kering memakai alat soxhlet menggunakan pelarut petroleum eter dilanjutkan etanol 80%, serta diekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat.

Uji mikrobiologi dilakukan terhadap ekstrak petroleum eter, fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak air pada media pertumbuhan *C. albicans* (Sabouraud) dengan metode dilusi padat. Konsentrasi ekstrak yang digunakan adalah 40% dan 80%. Pengamatan dilakukan 24 jam setelah penanaman. Secara kualitatif, pada konsentrasi 80% ekstrak petroleum eter dan fraksi etil asetat menghambat secara nyata, sedang pada konsentrasi 40% terjadi pengurangan kepadatan pertumbuhan (dibandingkan dengan kontrol). Fraksi air dan ekstrak air tidak menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

Pemeriksaan golongan kimia tanaman dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis menggunakan berbagai variasi komposisi pelarut dan pereaksi warna. Hasil pemeriksaan golongan kimia tanaman menunjukkan bahwa Kembang Bulan mengandung sedikitnya 12 senyawa terpenoid, 14 senyawa flavonoid dan gula. Pada daun, dengan metode kromatografi lapis tipis, tak terdeteksi adanya alkaloid dan triterpenoid.

Kata kunci: aktivitas antifungi, skrining fitokimia, Candida albicans, Tithonia diversifolia A. Gray.

PENDAHULUAN

Dilaporkan bahwa tanaman suku *Compositae* mempunyai aktivitas dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Tanaman Kembang Bulan termasuk dalam suku *Compositae*, sehingga secara kemitoksonomi diduga tanaman ini juga mempunyai kandungan kimia serupa yang dapat menghambat

pertumbuhan *C. albicans*⁽¹⁾. Oleh karenanya dilakukan penelitian terhadap tanaman ini, untuk membuktikan secara ilmiah aktivitas menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

Kembang Bulan mempunyai beberapa nama, di antaranya Rondose-moyo (Jawa), Harsaga (Jawa), Kembang Bulan (Indonesia), Mary Gold (Inggris)⁽²⁾. Merupakan perdu tegak,

apabila dibiarkan tumbuh liar dapat mencapai tinggi 9 meter, bertunas, merayap dalam tanah. Termasuk tanaman penutup tanah yang umumnya tumbuh liar di tempat-tempat curam, misalnya di tebing-tebing, tepi sungai dan selokan. Sekarang banyak ditanam sebagai tanaman hias, karena warna bunganya yang kuning indah. Selain itu Kembang Bulan sering ditanam untuk pagar dan untuk mencegah kelongsoran tanah. Tumbuh dengan mudah di tempat atau daerah berketinggian 5-1500 meter di atas permukaan laut. Tanaman ini juga merupakan tumbuhan tahunan yang menyukai tempat-tempat terang dan banyak sinar matahari langsung.

Daun tanaman Kembang Bulan memberikan hasil tes positif terhadap hemolisis, dan hasil tes negatif untuk flavonol-flavonol, alkaloid-alkaloid, tanin-tanin dan sterol-sterol⁽³⁾.

BAHAN

Bahan utama adalah serbuk kering daun Kembang Bulan dari tanaman yang tumbuh di daerah Kaliurang, Kabupaten Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta. Daun dipilih yang segar, permukaannya tidak rusak atau utuh, tidak berpenyakit dan dipetik daun ke empat atau ke lima dari pucuk tanaman. Daun kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari dengan ditutup kain warna gelap. Setelah cukup kering, dihaluskan dengan cara ditumbuk. Ekstraksi bahan dilakukan seperti ditunjukkan pada skema di bawah ini (**Gambar 1**).

METODE

1) Skrining fitokimia

a) Analisis kandungan ekstrak P.E.

Analisis menggunakan metoda KLT. Ekstrak P.E. dipisahkan. Pemeriksaan terhadap adanya terpenoid menggunakan: FD Silika gel GF₂₅₄, FG heksana-etil asetat (81:19), deteksi Vanilin asam sulfat. FD sebelumnya dieluasi menggunakan petroleum-eter-paraffin cair (95:5). Pemeriksaan triterpenoid: FD Silika gel GF₂₅₄, FG heksana-etil asetat (81:19), deteksi Liebermann-Burchard.

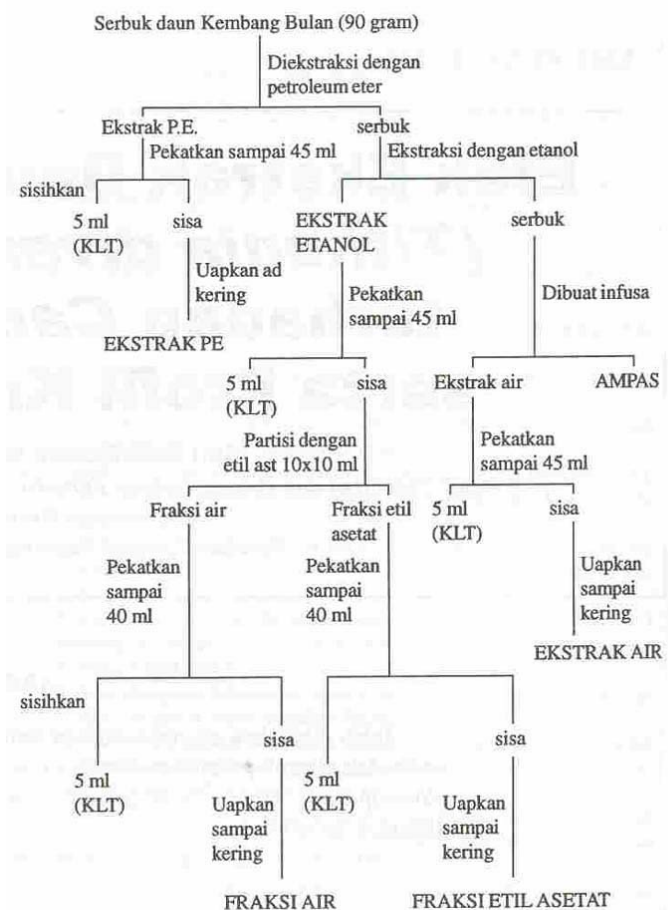
b) Analisis kandungan ekstrak etanol.

Dilakukan pemeriksaan terhadap flavonoid menggunakan: FD Silika gel GF₂₅₄, FG etil asetat-asam formiat-asam asetat air (100:11:11:27) (Wagner *et al.*, 1984), deteksi sinar UV 366 nm (sesudah diuapi amonia); FD kertas Whatman no. 51, FG *t*-butanol-asam asetat-air (6:2:1) (fase butanol) atau disebut *t*-BAW (Harborne, 1987), deteksi sinar UV 366 nm (sesudah diuapi amonia). Pemeriksaan alkaloid: FD Silika gel GF₂₅₄, IG etil asetat-metanol-air (100:13,5:10) (Wagner *et al.*, 1984), deteksi sinar UV 254 nm dan 366 nm, pereaksi warna Dragendorff.

c) Analisis kandungan fraksi etil asetat.

Ekstrak etanol diekstraksi cair-cair menggunakan etil asetat dan air. Pemeriksaan flavonoid: FD selulosa; FG asam asetat 30%, asam klorida-asam asetat-air (3:30:10), asam klorida-asam asetat-air (Forestal) (10:30:10), *t*-butanol-asam asetat-air (6:2:1) (fase butanol), *n*-butanol-asam asetat-air (*n*-BAW) (4:1:5); deteksi sinar UV 254 dan 366 nm (sesudah diuapi amonia) dan pereaksi warna Sitroborat.

d) Analisis kandungan fraksi air.



Gambar 1. Skema kerja pembuatan ekstrak dan fraksi

Diperlakukan sama seperti pada fraksi etil asetat.

e) Analisis kandungan ekstrak air.

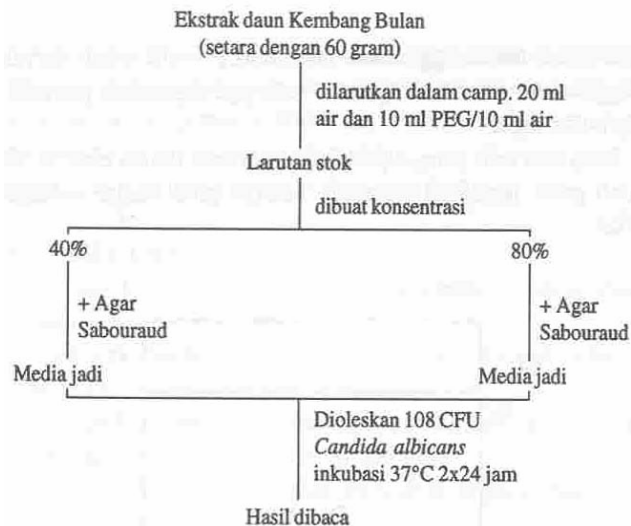
Pemeriksaan adanya flavonoid: FD selulosa, FG asam asetat 15%, deteksi pereaksi warna Sitroborat. Pemeriksaan gula: FD selulosa, FG *t*-butanol-etil asetat-air (6:2:1) (fase butanol), deteksi sinar tampak dan pereaksi Anilin ftalat.

2) Pemeriksaan mikrobiologi

Bagian lain dari ekstrak P.E., fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak air (setelah disisihkan 5 ml untuk uji KLT), digunakan untuk pemeriksaan mikrobiologi terhadap *C. albicans*. Dibuat media pertumbuhan *C. albicans*, yaitu Sabouraud. Air sebagai pelarut agar, dikurangi dari yang seharusnya dan kekurangan pelarut diganti dengan larutan ekstrak hingga didapat konsentrasi 40% dan 80% ekstrak dalam media. Tiap petri berisi ±20 ml agar. Juga dibuat media kontrol berisi, pelarut masing-masing. Pelarut ekstrak P.E. dan fraksi etil asetat adalah PEG 400 sedang fraksi air dan ekstrak air adalah air (**Gambar 2**).

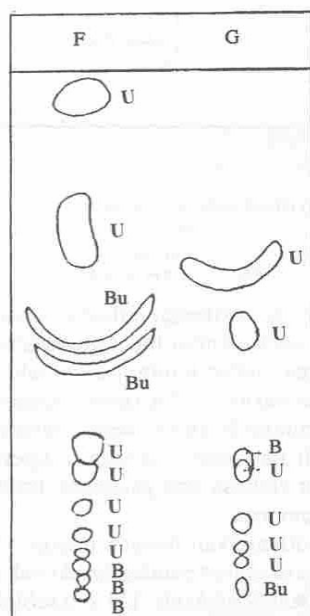
HASIL DAN PEMBAHASAN

Terhadap ekstrak P.E. diperiksa adanya terpenoid dan triterpenoid. Deteksi adanya terpenoid menggunakan pereaksi



Gambar 2. Skema kerja pemeriksaan aktivitas antifungi *C. albicans*

warna Vanilin-asam sulfat; bila terdapat terpenoid maka warna bercak berkisar antara biru sampai ungu. Penyemprotan dilakukan terhadap kromatogram terimpregnasi menggunakan fase gerak terpilih, heksana-etil asetat (81:19), dengan hasil sebagai berikut (Gambar 3) :



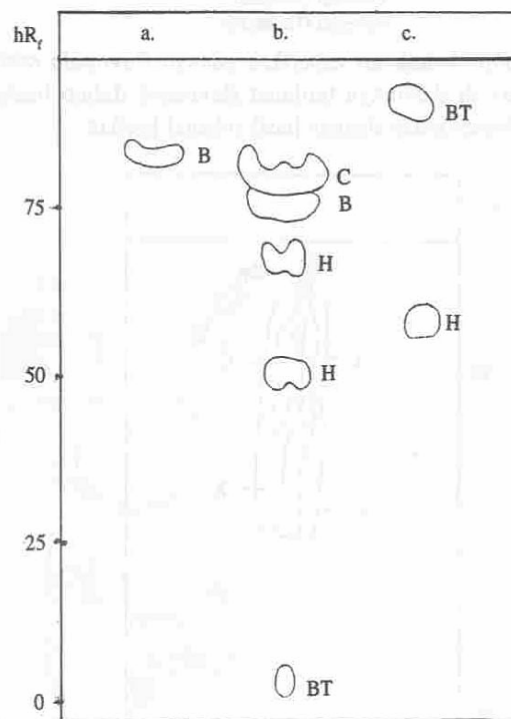
Gambar 3. Kromatogram uji terpenoid ekstrak P.E.
 Deteksi : Vanilin-asam sulfat
 Keterangan : FG : F dan G
 FD : Silika Gel GF₂₅₄ terimpregnasi

Sehingga dapat disimpulkan bahwa ekstrak petroleum eter mengandung sedikitnya 12 macam terpenoid. Salah satu senyawa terpenoid tersebut kemungkinan adalah seskuiterpen⁽⁴⁾.

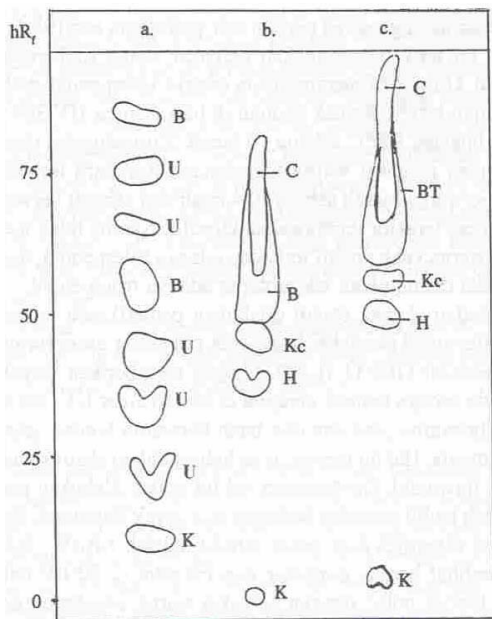
Golongan senyawa lain yang dicurigai terdapat dalam ekstrak P.E. adalah triterpenoid. Dengan menggunakan fase

gerak terpilih untuk ekstrak petroleum eter, dan fase diam diimpregnasi menggunakan parafin cair-petroleum eter (95:5) dilakukan uji KLT menggunakan pereaksi warna Liebermann-Burchard. Uji positif menunjukkan adanya triterpenoid apabila warna hijau-biru⁽⁵⁾. Bercak diamati di bawah sinar UV 366 nm setelah dipanasi 100°C selama 10 menit. Kromatogram disemprot dengan pereaksi warna Liebermann-Burchard terbentuk bercak berwarna merah sebanyak 4 buah dan sebuah berwarna pink, bercak terakhir diperkirakan klorofil. Karena tidak memberikan warna yang positif terhadap adanya triterpenoid, hijau-biru, maka disimpulkan tak terdapat adanya triterpenoid.

Terhadap ekstrak etanol dilakukan pemeriksaan terhadap adanya flavonoid memakai fase gerak etil asetat-asam formiat-asam asetat-air (100:11:11:27). Ekstrak memberikan bercak 3 buah pada cahaya tampak ataupun di bawah sinar UV 366 nm. Sebuah berwarna pink dan dua buah berwarna kuning setelah diuapi amonia. Hal ini meyakinkan bahwa dalam ekstrak etanol terdapat flavonoid. Berdasarkan hal ini maka dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap berbagai fase gerak flavonoid. Hasil penelitian diperoleh fase gerak terpilih adalah *t*-BAW (6:2:1) untuk melihat bercak nonpolar dan Forestal (3:30:10) untuk melihat bercak polar, dengan pereaksi warna Sitroborat. Kromatogram pemeriksaan adanya flavonoid memakai fase gerak terpilih adalah sebagai berikut (Gambar 4 dan 5) :

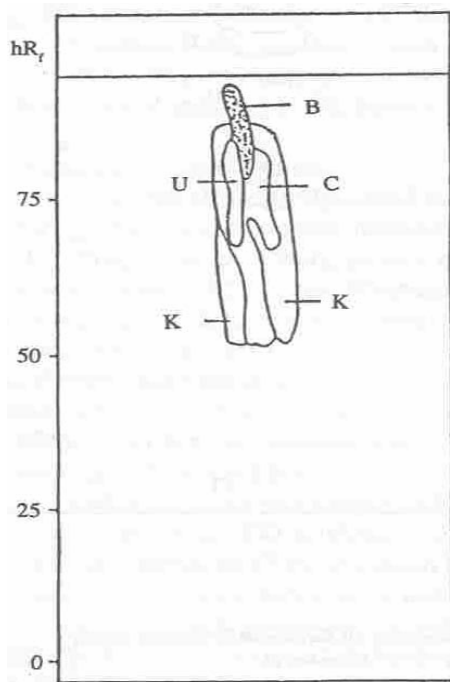


Gambar 4. Kromatogram uji flavonoid fraksi etil asetat
 Deteksi : Sitroborat
 Keterangan : FD : Selulosa
 FG : *t*-BAW (6:2:1)
 Forestal (3:30:10)
 Forestal (3:30:10)



Gambar 5. Kromatogram uji flavonoid fraksi air
 Deteksi : Sitroborat
 Keterangan : FD : Selulosa
 FG : *t*-BAW (6:2:1)
 Forestal (3:30:10)
 Forestal (10:30:10)

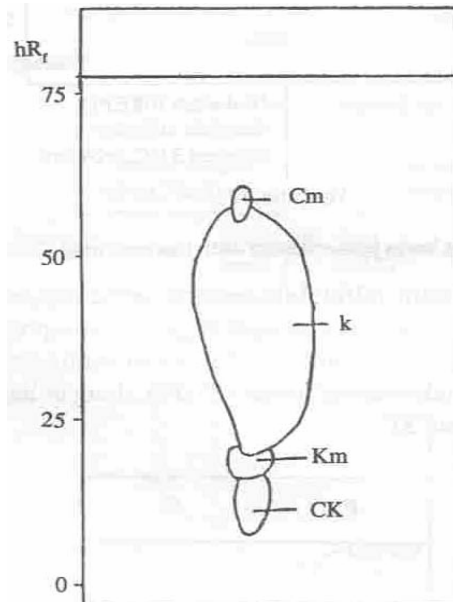
Terhadap ekstrak air diperiksa adanya flavonoid sebab diperkirakan di dalamnya terdapat flavonoid dalam bentuk flikosida. Pemeriksaan dengan hasil sebagai berikut :



Gambar 6. Kromatogram uji flavonoid ekstrak air
 Deteksi : Sitroborat
 Keterangan : FD : Selulosa FG : asam asetat 15%

Pemeriksaan tak menggunakan fase gerak Forestal sebab ekstrak menggunakan pelarut air (polar), sehingga digunakan pengembang polar juga.

Senyawa lain yang diperkirakan terlarut dalam ekstrak air adalah gula. Hasil uji terhadap adanya gula adalah sebagai berikut :



Gambar 7. Kromatogram uji gula ekstrak air
 Deteksi : Anilin ftalat
 Keterangan : FD : Selulosa
 FG : *t*-BAW (6:2:1)

Hasil kromatogram pemeriksaan terhadap adanya gula menggunakan pereaksi warna Anilin ftalat memberikan empat buah bercak yaitu warna coklat-kuning, kemerahan, kuning dan coklat; bercak berwarna coklat-merah adalah glukosa dan galaktosa, warna kuning fruktosa, merah arabinosa atau ksilosa dan kuning adalah ramnosa⁽⁵⁾. Sehingga diperkirakan dalam ekstrak air terdapat glukosa atau galaktosa, fruktosa, arabinosa atau ksilosa dan ramnosa.

Pemeriksaan dilanjutkan dengan menguji hambatan pertumbuhan *C. albicans* akibat pemberian ekstrak P.E., fraksi etil asetat, fraksi air dan ekstrak air. Uji mikrobiologi dilakukan dengan metode dilusi. Pertumbuhan *C. albicans* tidak sama dengan pertumbuhan mikroba. Mikroba tumbuh di permukaan, sedang jamur mempunyai hifa sehingga pertumbuhannya menembus ke dalam media, akibatnya konsentrasi untuk menghambat pertumbuhan diperlukan lebih besar. Digunakan dua macam konsentrasi ekstrak yaitu konsentrasi besar (80%) dan kecil (40%) dengan maksud membuktikan secara kualitatif ada tidaknya pertumbuhan jamur akibat pemberian ekstrak. Hasil menunjukkan bahwa pada konsentrasi 40% ada pertumbuhan namun kerapatannya kurang dibanding kontrol. Sedang pada konsentrasi tinggi (80%) ada hambatan pertumbuhan secara nyata. Ini berarti bahwa konsentrasi tinggi dapat menghambat tetapi pada konsentrasi rendah pertumbuhan tak dapat dihambat seluruhnya. Pengamatan dilakukan

24 jam setelah penanaman menunjukkan bahwa hanya ekstrak P.E. dan etil asetat saja yang dapat menghambat sedang ekstrak dan fraksi air tidak.

KESIMPULAN

1. Daun Kembang Bulan dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*.
2. Ekstrak dan fraksi petroleum eter dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*.
3. Daun Kembang Bulan sedikitnya mengandung 12 senyawa terpenoid, 14 senyawa flavonoid dan gula.
4. Dengan metode KLT tidak terdeteksi adanya alkaloid dan triterpenoid.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terhadap flavonoid yang dicurigai dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

KEPUSTAKAAN

1. Towers GHN, Wat, Chit-Kit, Graham AE, Bandoni RJ. Ultraviolet Mediated Antibiotic Activity of Species of Compositae Caused by Polyacetylenic Compound, *Lloydia*, 1977 : 40(5).
2. Steenis CGGJ. Flora untuk sekolah di Indonesia, diterjemahkan oleh Moeso Soerjowinoto, Soenarto Hardjosuwarno, Soerjo Sodo Hadisewojo, Wibisono; korektor Moeso Soerjowinoto, P.T. Pradnya Paramita, Jakarta, 1978.
3. Watt JM, Brayer-Brandwijck, Gerdina M. The Medical and Poisonous Plants of Shoutern and Eastern Africa, 2nd ed., Livingstone Ltd., Edinburgh, London, 1962.
4. Baruah NC, Sharma RP, Madhusudana KP, Thygarajan, Gopalakrisna, Werner H, Murary, Ramaswamy. Sesquiterpen Lactones of *Tithonia diversifolia* A. Gray. *Chemical Abstrack* 1979; 91(20751): 678.
5. Harborne JB. Metode Fitokimia - Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, hal. 123-138. Penerbit ITB, Bandung, 1987.
6. Wagner H, Blattl S, Zginski EM. Plant Drug Analysis A Thin Layer Chromatography Atlas. Springer Verlag, Tokyo, 1984 : p. 5-8, 51-58, 125-127, 163-167, 225-228.

