

UJI PENDAHULUAN EFEK KOMBINASI ANTIJAMUR INFUS DAUN SIRIH (*Piper betle* L.), KULIT BUAH DELIMA (*Punica granatum* L.), DAN RIMPANG KUNYIT (*Curcuma domestica* Val.) TERHADAP JAMUR *CANDIDA ALBICANS*

Atiek Soemiati dan Berna Elya

Departemen Farmasi, Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam,
Universitas Indonesia, Depok 16424, Indonesia

Abstrak

Telah dilakukan penelitian untuk mengetahui efek antijamur kombinasi infus daun sirih, kulit buah delima dan rimpang kunyit terhadap *Candida albicans*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode dilusi untuk penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan metode difusi untuk penentuan diameter zona hambatan. Hasil penentuan KHM menunjukkan bahwa infus daun sirih dan kulit buah delima mempunyai efek antijamur, sedangkan infus rimpang kunyit tidak mempunyai efek antijamur. Efek antijamur juga ditunjukkan dengan angka KHM kombinasi infus daun sirih dan infus kulit buah delima dengan perbandingan konsentrasi masing-masing 31,2 mg/ml : 7,8 mg/ml; 15,6 mg/ml : 15,6 mg/ml dan 7,8 mg/ml : 31,2 mg/ml. Efek antijamur juga ditentukan dengan mengukur zona hambatan terhadap 3 konsentrasi infus daun sirih dan 3 konsentrasi infus kulit buah delima serta 9 kombinasi keduanya. Ternyata efek antijamur kombinasi dua infus lebih besar daripada efek antijamur infus tunggalnya.

Abstract

The investigation for antifungal effect of medicinal plants, combination infusion of *Piper betle* leaves, *Punica granatum* Fructus Cortec, *Curcuma domestica* Rhizome. The tested demartophyta used *Candida albicans*. This research using dilution method to determine of minimum inhibitory concentration (MIC) and difusion method to determine zone inhibition around of disc. The results of determination of MIC showed that combination infusion *Piper betle* leaves with *Punica granatum* Fructus Cortec against *C. albicans* respectively, 31,2 mg/ml : 7,8 mg/ml; 15,6 mg/ml : 15,6 mg/ml and 7,8 mg/ml : 31,2 mg/ml. The determination for zone inhibition from 3 concentration of infusion of *Piper betle* leaves with 3 concentration of *Punica granatum* Fructus Cortec with 9 combination against *C. albicans* showed that combination of two infusion is the larger than the single infusion.

Keywords: Punica granatum, Curcuma domestica, antifungi Piper betle

1. Pendahuluan

Penggunaan tanaman untuk pengobatan telah lama dikenal oleh masyarakat. Usaha pengembangan tanaman untuk pengobatan perlu dilakukan mengingat bahwa tanaman mudah diperoleh dan murah. Tetapi penggunaan tanaman untuk pengobatan perlu ditunjang oleh data-data penelitian dari tanaman tersebut sehingga khasiatnya secara ilmiah tidak diragukan lagi dan dapat dipertanggungjawabkan. Hal ini tentu akan lebih mendorong penggunaan tanaman sebagai obat secara meluas oleh masyarakat.

Piper betle L., merupakan salah satu tanaman obat yang banyak tumbuh di Indonesia dan dikenal dengan nama sirih. Secara tradisional sirih dipakai sebagai obat sariawan, sakit tenggorokan, obat batuk, obat cuci mata, obat keputihan, pendarahan pada hidung/mimisan, mempercepat penyembuhan luka, menghilangkan bau mulut dan mengobati sakit gigi [1,2]. Daun sirih mempunyai aroma yang khas karena mengandung minyak atsiri 1-4,2%, air protein, lemak, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A, B, C yodium, 149 gula dan pati. Dari berbagai kandungan tersebut, dalam minyak atsiri terdapat fenol alam yang mempunyai daya antiseptik yang sangat kuat (bakterisid dan fungisid) tetapi tidak sporosid [2].

Punica granatum L., di Indonesia lebih dikenal sebagai delima. Ada dua macam delima yang sering ditanam, yaitu delima merah dan putih. Delima putih dianggap lebih baik dari pada delima merah, selain itu juga delima putih sangat kaya akan kandungan alkaloid. Secara tradisional buah yang ditumbuk dan seduhannya dipakai sebagai obat diare, kulit akar dan kulit batang mempunyai khasiat sebagai obat sakit gigi, air rebusan buah dan kulit buah delima dapat dipakai sebagai obat kumur dan untuk mengobati keputihan [3].

Secara tradisional *Curcuma domestica* L. (kunyit) digunakan sebagai ramuan obat luka, cacar, sakit perut, haid tidak lancar, kejang, encok, sebagai obat penguat atau tonik untuk ibu yang baru melahirkan. Kandungan kimia dari rimpang kunyit ini adalah minyak atsiri, kurkumin, desmetoksi kurkumin, bidesmetoksi kurkumin, lemak [3].

Jamur *Candida albicans* biasanya hidup sebagai saprofit dalam rongga mulut, usus dan vagina. Pada orang sehat jamur ini bersifat apatogen, tetapi pada keadaan tertentu, yaitu pada keadaan daya tahan tubuh menurun jamur ini dapat berubah sifatnya menjadi patogen dengan menimbulkan berbagai keluhan. Pada vagina jamur ini dapat menimbulkan gejala keputihan yang dikenal sebagai kandidiasis vagina [3,4].

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antijamur kombinasi infus daun sirih (*Piper betle* L.), kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) terhadap jamur *Candida albicans* dengan penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan cara difusi untuk penentuan lebar zona hambatan. Hipotesis yang mendasari penelitian ini: Kombinasi infus daun sirih (*Piper betle* L.), kulit buah delima (*Punica granatum* L.) dan rimpang kunyit (*Curcuma domestica* Val.) mempunyai efek antijamur terhadap jamur *Candida albicans* lebih besar dibandingkan dengan infus tunggalnya.

2. Metode dan Eksperimental

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah:

- Simplisia dari daerah Senen telah dideterminasi di Herbarium Bogoriense dan jamu x yang beredar dipasaran.
- Jamur *Candida albicans* dari Parasitologi Fakultas Kedokteran UI
- Media : media cair tioglikolat, agar Sabouroud Dextrose (Merck), Lacto Phenol Cotton Blue (Merck), air suling, etanol 70%.

Adapun proses pengerjaan adalah sebagai berikut:

- Penyiapan simplisia
Daun sirih, kulit buah delima dan rimpang kunyit dikumpulkan lalu dicuci bersih ditiriskan, kemudian diangin-anginkan ditempat terbuka yang terlindung dari cahaya matahari langsung. Selanjutnya dikeringkan dalam oven dengan suhu 50°C.
- Pemeriksaan simplisia sesuai dengan metode umum yang tercantum dalam Materia Medika Indonesia, meliputi penetapan susut pengeringan, penetapan kadar abu, kadar abu yang tidak larut dalam asam, kadar sari yang larut dalam asam dan kadar sari yang larut dalam etanol.
- Pembuatan infus dengan metode sesuai dengan Farmakope Indonesia IV
Sepuluh gram serbuk simplisia dimasukkan ke dalam panci infus, tambahkan air ad 100 ml dan ditambahkan air dua kali berat simplisia (20 ml). Bahan-bahan tersebut kemudian dipanaskan diatas penangas air selama 15 menit terhitung mulai suhu mencapai 90°C sambil sesekali diaduk. Infus diserukai selagi panas melalui kain flanel, dan ditambahkan air secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus 100 ml. Pemerian infus meliputi wujud, warna, rasa, dan bau dari masing-masing infus.
- Pembuatan larutan uji
Larutan infus terlebih dahulu dipekatkan dengan cara diuapkan diatas penangas air dengan suhu tidak lebih dari 50°C, hingga diperoleh larutan infus dengan konsentrasi 1250 mg/ml dihitung dari berat simplisia awal, kemudian disterilkan pada 121°C selama 15 menit. Konsentrasi larutan uji untuk penentuan kadar hambat minimal (KHM) larutan uji diencerkan dengan metode pengenceran kelipatan dua, hingga diperoleh larutan uji 1250 mg/ml, 625 mg/ml, 312,5 mg/ml, 156,2 mg/ml, 78 mg/ml, 39 mg/ml. Untuk penentuan antifungi cara difusi (menentukan lebar zona hambatan) dibuat pengenceran yaitu 1250 mg/ml, 1000 mg/ml, 500 mg/ml, 250 mg/ml sebagai pembandingan digunakan jamu x, sebanyak 70 gram dilarutkan dalam 100 ml air panas kemudian disterilkan dengan otoklaf 121°C, 15 menit, setelah itu diencerkan hingga diperoleh jamu dengan konsentrasi 350 mg/ml; 175 mg/ml; 87,50 mg/ml; 43,75 mg/ml.

Penentuan kadar hambat minimal (KHM) dengan metode *checkboard* Lorian [5], cara pengerjaannya disesuaikan dengan cara penentuan KHM infus tunggal dengan sedikit modifikasi. Susunan beberapa cawan petri dapat dilihat pada tabel 3 yaitu 7 deret cawan petri horisontal dan 7 deret cawan petri vertikal.

Pertama-tama dilakukan pengenceran kelipatan dua dari masing-masing larutan infus mulai dari konsentrasi 250 mg/ml; 125 mg/ml; 62,5 mg/ml; 31,2 mg/ml; 15,6 mg/ml; 7,8 mg/ml. Kemudian dilakukan kombinasi dari kedua larutan infus tersebut menggunakan sistem *checkboard*. Dari sistem ini diperoleh 48 cawan petri, dimana 36 cawan petri merupakan kombinasi dari masing-masing konsentrasi kedua larutan infus tersebut, sedangkan 6 cawan petri berisi larutan tunggal infus daun sirih dan 6 cawan petri lainnya berisi larutan tunggal infus kulit buah delima.

Untuk larutan infus tunggal dan jamur uji, di dalam tabung reaksi yang berisi 4 ml agar Sabouroud Dextrose yang masih cair ditambahkan 1 ml larutan. Untuk kombinasi dari infus daun sirih konsentrasi buah delima dipipet 1 ml larutan infus daun sirih konsentrasi sesuai dengan tablet-tablet dan 1 ml larutan infus kulit buah delima konsentrasi sesuai yang tercantum pada Tabel 3, kemudian ditambahkan dengan 3 ml agar Sabouroud Dextrose yang masih cair, sedangkan untuk kombinasi dari infus daun sirih, kulit buah delima dan rimpang kunyit, masing-masing dipipet 1 ml infus kemudian ditambahkan 4 ml agar Sabouroud Dextrose yang masih cair, dihomogenkan, dan dibiarkan sampai membeku. Selanjutnya diinokulasi dengan inokulum jamur sebanyak 1 sengkeli dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu kamar. Dibat 3 macam kontrol, kontrol A adalah kontrol media agar Sabouroud dextrose, kontrol B adalah kontrol larutan infus yaitu 3 ml agar Sabouroud dextrose ditambah 1 ml infus tanpa inokulum jamur, kontrol C terdiri dari 4 ml Sabouroud dextrose agar diinokulasi dengan inokulum jamur, tanpa larutan infus.

Pembacaan hasil didasarkan pada ada atau tidak adanya pertumbuhan jamur. KHM adalah kadar terkecil infus yang masih menghambat pertumbuhan jamur.

3. Hasil dan Pembahasan

Salah satu kegunaan dari daun sirih dan kulit buah delima adalah untuk penyakit keputihan yang antara lain disebabkan oleh *Candida albicans*. Pada penelitian terdahulu dilaporkan bahwa masing-masing infus daun sirih dan kulit buah delima mempunyai efek terhadap *Candida albicans* [1,3]. Pada penelitian ini dilakukan kombinasi infus dari kedua simplisia itu untuk mengetahui efeknya terhadap *C. albicans*, hal ini disebabkan maraknya kombinasi simplisia pada jamu anti keputihan di pasaran.

Hasil pemeriksaan terhadap simplisia daun sirih, kulit buah delima dan rimpang kunyit menurut Materia Medika Indonesia dapat dilihat pada Tabel 1.

- Infus daun sirih berupa cairan berwarna hitam, rasa sedikit pedas dan pahit dengan bau spesifik, bila didiamkan akan berbentuk sedikit endapan coklat.
- Infus kulit buah delima berupa cairan agak kental berwarna coklat, rasa pahit dengan bau spesifik dan bila didiamkan akan berwarna coklat muda dan terbentuk sedikit endapan coklat. (Tabel 2)
- Infus rimpang kunyit berupa cairan berwarna jingga kekuningan, tidak ada rasa dengan bau spesifik dan bila didiamkan akan terbentuk endapan jingga. (Tabel 2)

Pada penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) infus daun sirih, kulit buah delima, rimpang kunyit, kombinasi infus daun sirih dan kulit buah delima, kombinasi infus daun sirih, kulit buah delima dan rimpang kunyit dan jamu pembanding terhadap *Candida albicans* dapat dilihat pada Tabel 3 dan Tabel 4.

- KHM terhadap *Candida albicans* infus daun sirih adalah 62,5 mg/ml. Infus kulit buah delima 125 mg/ml. Infus rimpang kunyit tidak ada
- KHM kombinasi terhadap *Candida albicans* infus daun sirih 31,2 mg/ml + infus kulit buah delima 7,8 mg/ml, infus daun sirih 15,6 mg/ml + infus kulit buah delima 15,6 mg/ml, dan infus daun sirih 7,8 mg/ml + infus kulit buah delima 31,2 mg/ml.
- Diameter zona hambatan (Tabel 4) infus daun sirih 250 mg/ml adalah 10,43 mm, 500 mg/ml adalah 12,33 mm, dan 1000 mg/ml adalah 16,80 mm.
- Diameter zona hambatan infus kulit buah delima 250 mg/ml 6,72 mm, 500 mg/ml adalah 8,82 mm, dan 1000 mg/ml adalah 16,33 mm
- Diameter zona hambatan kombinasi terhadap *Candida albicans* dapat dilihat pada tabel 4.

Untuk mengetahui efek sinergis, efek aditif atau efek antagonis ditetapkan dengan metode papan catur.

Efek kombinasi berdasarkan perhitungan indeks kadar hambat fraksi (*Fractional Inhibitory Concentration*) atau FIC indeks.

Setelah dilakukan penelitian ternyata bahwa infus rimpang kunyit tidak mempunyai efek antijamur, tetapi mempunyai peran meningkatkan daya tahan tubuh.

Tabel 1. Hasil Pemeriksaan Simplisia

No	Percobaan	Daun Sirih		Kulit Buah Delima		Rimpang Kunyit	
		1	2	1	2	1	2
		%	%	%	%	%	%
1	Penetapan susut pengeringan	11,20	11,58	11,86	11,60	11,62	11,78
2	Kadar abu	10,31	10,95	1,78	1,69	7,45	7,35
3	Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam	4,22	4,46	0,50	0,75	0,08	0,07
4	Penetapan kadar sari yang larut dalam air	24,01	24,25	45,14	45,55	18,09	17,87
5	Penetapan kadar sari yang larut dalam etanol	8,10	7,63	28,88	26,45	11,07	10,39

Tabel 2. Hasil Pemerian Infus

Infus			
	Daun Sirih	Kulit buah delima	Rimpang kunyit
	Cairan	Cairan	Cairan
Bentuk	Hitam	Agak kental warna coklat	Jingga kekuningan
Warna	Spesifik	Spesifik	Spesifik
Bau	Pedas	Pahit	Tidak ada rasa
Rasa			

Tabel 3. Sistem Checkboard untuk penentuan KHM kombinasi dari infus daun sirih dan kulit buah delima

Konsentrasi infus kulit buah delima (mg/ml)	Konsentrasi infus daun sirih (mg/ml)							
	I	II	III	IV	V	VI	VII	
250	-	-	-	-	-	-	-	A
125	-	-	-	-	-	-	-	B
62,5	+	-	-	-	-	-	-	C
31,2	+	-	-	-	-	-	-	D
15,6	+	+	-	-	-	-	-	E
7,8	+	+	+	-	-	-	-	F
0	+	+	+	+	-	-	-	G
	0	7,8	15,6	31,2	62,5	125	250	

Deret horizontal :

I-VII adalah deret cawan petri berisi infus daun sirih (mg/ml) I = 0; II = 7,8; III = 15,6; IV = 31,2; V = 62,5; VI = 125; VII = 250.

Deret vertikal :

A - G adalah deret cawan petri infus kulit buah delima (mg/ml) A :); B = 7,8; C = 15,6; D = 31,2; E = 62,5; F = 125; G = 250.

Keterangan :

- = tidak ada pertumbuhan jamur

+ = ada pertumbuhan jamur

Tabel 4. Diameter Zona Hambatan (mm) Rata-rata dari Kombinasi Infus Daun Sirih dan Kulit Buah Delima Terhadap *Candida albicans*

Konsentrasi kulit buah delima (mg/ml)	1000	16,33	17,07	17,67	18,29
	500	8,82	11,57	17,20	17,78
	250	6,72	10,87	15,28	17,42
	0		10,43	12,33	16,80
		0	250	500	1000
		Konsentrasi infus daun sirih (mg/ml)			

Tabel 5. Hubungan FIC indeks dengan efek antijamur kombinasi (7)

	Pendapat	FIC indeks	Efek antijamur
Adriole	1/4 KHM A+ 1/4 KHM B	$\leq 0,50$	Sinergistik
	1/4 KHM A+ 1/2 KHM B	$\leq 0,75$	Sinergistik parsial
	1/2 KHM A+ 1/4 KHM B	$\leq 0,75$	Sinergistik parsial
	1/2 KHM A+ 1/2 KHM B	$= 1,00$	Aditif
Krogstad &		$\leq 0,50$	Sinergistik
Moellering		$= 1,00$	Aditif
		$\leq 2,00$	Antagonistik

4. Kesimpulan

1. Dari hasil percobaan penentuan Kadar Hambat Minimal (KHM) terlihat bahwa KHM infus daun sirih sebesar 62,5 mg/ml, infus kulit buah delima sebesar 125 mg/ml, sedangkan KHM kombinasi infus daun sirih dan infus kulit buah delima adalah sebagai berikut : infus daun sirih 31,2 mg/ml dengan infus kulit buah delima 7,8 mg/ml; infus daun sirih 15,6 mg/ml dengan infus kulit buah delima 15,6 mg/ml; serta infus daun sirih 7,8 mg/ml dengan infus kulit buah delima 31,2 mg/ml.
2. Pada penentuan diameter zona hambatan terhadap infus daun sirih digunakan tiga konsentrasi yang berbeda yaitu 250 mg/ml; 500 mg/ml; 1000 mg/ml menghasilkan diameter zona hambatan masing-masing 10,87 mm, 11,57 mm, dan 17,07 mm, sedangkan infus kulit buah delima dengan konsentrasi 250 mg/ml, 250 mg/ml, 1000 mg/ml adalah 6,72 mm, 8,82 mm, dan 16,33 mm.
3. Diameter zona hambatan pada kombinasi infus daun sirih 1000 mg/ml dan infus kulit buah delima 250 mg/ml adalah 17,42 mm; pada kombinasi infus daun sirih 1000 mg/ml dan konsentrasi infus kulit buah delima 500 mg/ml adalah 17,78 mm; kombinasi infus kulit buah delima 1000 mg/ml dan daun sirih 1000 mg/ml adalah 18,29 mm.

Dari hasil penelitian tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa kombinasi infus daun sirih dan infus buah delima mempunyai efek anti jamur lebih besar dibandingkan dengan infus tunggalnya.

Lampiran

Contoh perhitungan :

	Tunggal (mg/ml)		Kombinasi (mg/ml)
<i>C. albicans</i>	S	D	S + D
	62,5	125	7,8 + 31,2 15,6 + 15,6 31,2 + 7,8 7,8 mg/ml
KHM infus daun sirih (s) setelah kombinasi			62,5 mg/ml
KHM infus daun sirih (s) setelah tunggal			
FIC infus daun sirih	$\frac{7,8 \text{ mg/ml}}{62,5 \text{ mg/ml}}$	$= 0,12$	
KHM infus kulit buah delima tunggal		$= 125 \text{ mg/ml}$	
KHM infus kulit buah delima setelah kombinasi		$= 31,2 \text{ mg/ml}$	
FIC =	$\frac{31,2 \text{ mg/ml}}{125 \text{ mg/ml}}$	$= 0,25$	

FIC indeks = $0,12 + 0,25 = 0,37$

Menurut Adriole & Krogblad & Moellring FIC $\leq 0,50$ adalah sinergis.

Daftar Acuan

- [1] K. Heyne Tumbuhan Berguna Indonesia II, Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan. Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 1987.
- [2] Hernani, S. Yuliani. Peranan Sirih Sebagai Obat Tradisional. Prosiding Seminar Sirih, Yogyakarta, 1991.
- [3] SD. Suprihatin. Candida dan Kandidiasis Pada Manusia, FK UI, Jakarta, 1992.
- [4] T. Danielle, KS Pudji, AA. Sumarni. Majalah Parasitologi Indonesia 7 (1994).
- [5] V. Lorian, Antibiotics in Laboratory Medicine, 2nd. Ed., Williamsand Wilkins, London, 1980.

