

Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol *Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Antifungal Activity of Methanol Extract of Sarcotheca diversifolia (Miq) Hallier F against the Growth of *Candida albicans*

Yulianti¹, Rikhsan Kurniatuhadi^{1*} & Siti Khotimah¹

¹Program Studi Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura, Pontianak, Kalimantan Barat, Indonesia

Abstrak

Asam Kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F.) merupakan tumbuhan liar yang berpotensi sebagai tanaman obat dan diketahui sebagai antioksidan. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui potensi antifungi ekstrak metanol buah *Sarcotheca diversifolia* terhadap *Candida albicans*. Ekstraksi buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) dilakukan dengan metode maserasi pada pelarut metanol pro analis. Pengujian antifungi menggunakan metode difusi lubang sumuran di media *Saboraud Dextrose Agar*. Konsentrasi ekstrak metanol buah *S. diversifolia* yang diujikan adalah 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml, kontrol positif ketokonazol 2%, dan kontrol negatif DMSO 10%. Hasil penelitian memperlihatkan bahwa ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* melalui pembentukan zona bening di sekitar sumuran. Daya hambat ekstrak metanol buah asam kalimbawan pada ketiga konsentrasi termasuk dalam kategori sedang dengan sifat daya hambat fungistatik. Kekuatan daya hambat dari ekstrak metanol buah asam kalimbawan tersebut memiliki 29-28% dibandingkan dengan daya hambat 2% ketokonazol dengan kategori kuat. Semua konsentrasi uji bersifat fungistatik di jam ke 48. Metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak metanol buah *S. diversifolia* terdiri atas alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, dan tanin. Buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) diduga berpotensi sebagai fungistatik berbasis bahan alam.

Kata Kunci: antifungi, oxilidaceae, *Candida albicans*, *Sarcotheca diversifolia*, asam kalimbawan

Abstract

Kalimbawan acid (*Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F.) is a wild plant with medicinal potential and recognized for its antioxidant properties. This study aimed to evaluate the antifungal activity of the methanol extract of *S. diversifolia* fruit against *Candida albicans*. The extraction of tamarind fruit (*S. diversifolia*) was conducted using the maceration method with pro-analyst methanol solvent. Antifungal assessment was performed using the well hole diffusion method on *Saboraud Dextrose Agar* media. The concentrations of methanol extract of *S. diversifolia* fruit tested were 0.2, 0.4, 0.6, and 0.8 g/ml, with positive control of 2% ketoconazole and negative control of 10% DMSO. The findings indicated that the methanol extract of Kalimbawan tamarind fruit (*S. diversifolia*) exhibited inhibitory effects on the growth of *C. albicans* by forming clear zones around the wells. The inhibitory activity of the methanol extract of Kalimbawan tamarind fruit at all concentrations fell within the moderate category with fungistatic properties. The inhibitory potential of the methanol extract of Kalimbawan tamarind fruit ranged from 29% to 28% compared to the 2% inhibitory effect of ketoconazole, which falls within the strong category. All tested concentrations showed fungistatic effects at 48 hours. The secondary metabolites identified in the methanol extract of *S. diversifolia* fruit included alkaloids, flavonoids, steroids, terpenoids, saponins, and tannins. Kalimbawan tamarind fruit (*S. diversifolia*) is believed to possess fungistatic properties attributed to its natural constituents.

Keywords: antifungi, oxilidaceae, *Candida albicans*, *Sarcotheca diversifolia*, asam kalimbawan

*Corresponding author:

Rikhsan Kurniatuhadi

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Tanjungpura

Gedung Biologi FMIPA Untan Jl. Prof. Dr. H. Hadari Nawawi, Pontianak 78241

Email: rikhsan.kurniatuhadi@fmipa.untan.ac.id

Pendahuluan

Tumbuhan yang berpotensi sebagai tumbuhan berkhasiat obat di Kalimantan Barat sangat beragam, namun umumnya masyarakat kurang mengetahui potensi karena dianggap sebagai tumbuhan liar atau pengganggu yang kurang bermanfaat. Banyak tumbuhan yang tidak dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat dengan maksimal karena kurangnya informasi ilmiah di masyarakat. Salah satu tumbuhan liar yang berpotensi sebagai tumbuhan pangan dan obat adalah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F) (Sudarmono, 2015). Buah asam kalimbawan diketahui masyarakat Melayu Sambas sebagai tumbuhan non-budidaya yang dapat ditemukan di hutan dan semak belukar. Tanaman ini termasuk dalam kelompok genus *Sarcotheca* dari famili *Oxalidaceae* atau keluarga belimbing. Beberapa kelompok masyarakat desa di daerah Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat memanfaatkan buah asam kalimbawan yang tumbuh liar sebagai bahan baku olahan manisan dan bahan tambahan memasak untuk memberikan rasa asam pada masakan. Sudarmono (2015) menyatakan buah asam kalimbawan juga dapat dimanfaatkan sebagai obat penurun panas, obat sariawan, dan panas dalam.

Hasil skrining metabolit sekunder kualitatif yang diuji oleh Muharini *et al.* (2010) menyatakan bahwa pada fraksi n-heksana, klorofom, dan etanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) mengandung senyawa metabolit sekunder golongan alkaloid, steroid, fenolik, dan flavonoid. Selain buah, menurut penelitian Sudarmono (2015) pada fraksi metanol, n-heksana, dan klorofom daun asam kalimbawan (*S. diversifolia*) juga memiliki potensi sebagai antioksidan, serta mengandung senyawa metabolit sekunder berbasis antifungi seperti flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, dan terpenoid. Rakhmatullah *et al.* (2018) menyatakan bahwa ekstrak tanaman yang terdeteksi adanya senyawa tanin, flavonoid, dan saponin berpotensi dikembangkan menjadi senyawa antibakteri dan fungi.

Jamur patogen oportunistik diketahui menyebabkan penyakit mikosis. Mikosis

yang disebabkan oleh jamur oportunistik salah satunya disebabkan oleh *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan khamir penyebab penyakit kandidiasis yang bersifat akut atau sub-akut pada jaringan rongga mulut, vagina, dermis, kuku, dan saluran bronkial, serta dapat menyebabkan gejala septikemia, endokarditis atau meningitis (Mutiawati, 2016). Kandidiasis yang umumnya terjadi yaitu jenis kandidiasis pseudomembranosa (*Thrust*) atau yang disebut dengan sariawan. Penyebab sariawan yaitu pertumbuhan jamur *C. albicans* yang berlebihan, gejalanya yaitu terdapat bercak putih kekuningan dengan permukaan agak cekung pada daerah mulut, bercak tersebut dapat berupa bercak tunggal maupun kelompok (Chusniah & Muhtadi, 2017).

Penelitian terhadap buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) saat ini masih sangat terbatas. Namun, beberapa peneliti telah menguji tanaman yang satu famili dengan *S. diversifolia* terhadap antifungi dan antibakteri, salah satunya adalah belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.). Belimbing wuluh merupakan tumbuhan yang termasuk famili *Oxalidaceae* yang telah banyak dilakukan penelitian dan banyak diketahui memiliki aktivitas antifungi (Rakhmatullah *et al.*, 2018), sehingga diduga ekstrak buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) juga memiliki kemiripan aktivitas penghambatan. Teori Nakanishi menyatakan bahwa tumbuhan yang berasal dari famili yang sama, diduga memiliki kandungan senyawa yang sama sehingga dapat diasumsikan memiliki khasiat yang sama pula. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui potensi buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*, sehingga dapat dimanfaatkan sebagai salah satu tumbuhan berkhasiat obat secara empiris oleh masyarakat maupun industri.

Materi dan Metode

Alat dan Bahan

Alat-alat pendukung riset yang digunakan adalah *aluminium foil*, BSC (*Biological Safety Cabinet*), *bunsen-burner*, cawan petri, *cork borer*, *cotton-stick* steril, *hot-stir plate*, autoklaf, jangka sorong digital,

kapas, kertas saring, jarum ose, erlenmeyer, gelas ukur, inkubator, oven, pinset, plastik mika, spatula, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet, tabung reaksi, neraca analitik, rak tabung, *vacuum rotary evaporator*.

Bahan-bahan pendukung berupa akuades, alkohol 70%, biakan jamur *Candida albicans* (isolat kultur dari Unit Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat), buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*), larutan *Dimethyl Sulfoksida* (DMSO) 10%, ketokonazol, kloramfenikol, media *Nutrient Agar* (NA), medium agar *Sabouraud Dextrose* (SDA), metanol pro analisis (p.a), dan NaCl 0,9%.

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini berupa Rancangan Acak Lengkap (RAL) dengan enam perlakuan konsentrasi ekstrak dan empat kali pengulangan. Konsentrasi yang digunakan mengacu pada hasil riset Rakhmatullah *et al.* (2018) yaitu terdiri dari empat perlakuan konsentrasi ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) dan dua perlakuan kontrol. Konsentrasi ekstrak meliputi 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml, sedangkan perlakuan kontrol meliputi ketokonazol 2% (positif) dan DMSO 10% (negatif).

Prosedur Kerja

Persiapan Sampel

Sampel buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dikumpulkan dari Desa Mekar Sekuntum, Kecamatan Galing, Kabupaten Sambas. Buah yang dipilih yaitu buah yang masih mentah, berwarna hijau, dan tidak rusak. Buah asam kalimbawan dicuci bersih, kemudian diiris tipis dan dilakukan pengeringan dengan menggunakan oven pada suhu 50°C selama 48 jam sampai berat kering buah konstan. Buah yang sudah kering menjadi keras dan berwarna coklat, kemudian dihaluskan menggunakan blender hingga didapatkan serbuk simplisia. Simplisia buah asam kalimbawan kemudian disimpan ke dalam wadah kering dan tertutup.

Ekstraksi Simplisia Buah Asam Kalimbawan

Ekstrak buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dibuat dengan metode

maserasi menggunakan pelarut metanol pro analisis (p.a). Simplisia buah asam kalimbawan sebanyak 100 g dimaserasi atau direndam dalam 1000 ml pelarut metanol (1:10). Perendaman dilakukan dalam wadah kaca dan ditutup rapat selama 7 hari, setiap 24 jam pelarut metanol diganti dengan pelarut metanol yang baru dan dilakukan pengadukan. Kemudian diambil maserat dengan disaring menggunakan kertas saring. Maserat hasil saringan kemudian dipisahkan dengan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada kecepatan 70 - 110 rpm dan suhu 45 °C hingga diperoleh ekstrak kental yang kemudian disimpan dalam wadah kaca steril yang dilapisi dengan aluminium foil dan disimpan di desikator (Hildayati *et al.*, 2020).

Pembuatan Medium Uji Antifungi

Media agar *Sabouraud Dextrose* (SDA) dipreparasi dengan mencampurkan 65 g serbuk SDA ke dalam 1 L akuades. Larutan media dipanaskan di *hot-stir-plate* dengan pengadukan hingga mendidih. Selanjutnya larutan media disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121° dan tekanan 0,15 MPa. selama 15 menit. Media agar *Sabouraud Dextrose* (SDA) ditambahkan 1% kloramfenikol setelah sterilisasi.

Preparasi Kultur Murni *Candida albicans*

Kultur murni *Candida albicans* yang digunakan berasal dari kultur UPT. Laboratorium Kesehatan Provinsi Kalimantan Barat. *C. albicans* diinokulasikan dengan metode gores pada media agar SDA secara aseptis. Media inokulasi kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu sebesar 37° (Hildayati *et al.*, 2020).

Pembuatan Suspensi *Candida albicans*

Kultur murni *Candida albicans* di media SDA disuspensikan ke dalam 9 ml larutan salin steril menggunakan jarum ose steril. Kekeruhan suspensi larutan kemudian OD (*Optical Density*) 0,08-0,1 dianalisis dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm. Nilai tersebut dianggap setara dengan kekeruhan larutan McFarland 0,5 (Rodiah *et al.*, 2022).

Pembuatan Larutan Ekstrak Asam Kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*)

Sampel ekstrak buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dibuat dalam konsentrasi 0,2; 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml. Pembuatan konsentrasi ekstrak dilakukan dengan menimbang ekstrak masing-masing sebesar 0,2 g, 0,4 g, 0,6 g, dan 0,8 g dan dilarutkan pada 1 ml DMSO 10%. Ketokonazol 2% dibuat dengan melarutkan 0,02 g serbuk ketokonazol ke dalam 1 ml akuades steril (Alfiah *et al.*, 2015).

Pengujian Aktivitas Antifungi Ekstrak Asam Kalimbawan (Sarcotheca diversifolia)

Uji potensi antifungi ekstrak buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) menggunakan metode difusi sumuran dengan diameter 6 mm (Balouiri, 2016). Media agar SDA dituang ke cawan petri dan ditunggu hingga memadat. *Cotton swab steril* dicelupkan di suspensi *C. albicans* yang telah diukur kekeruhannya (absorbansi 0,096), kemudian diapus merata di seluruh permukaan agar. Media agar SDA dengan apusan *C. albicans* dilubangi menggunakan *cork borer* yang telah disterilkan dengan diameter 6 mm. Kemudian sebanyak 50 µl ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*), kontrol positif, dan kontrol negatif dimasukkan ke dalam sumuran dengan mikropipet (Yanti & Mudatsir, 2014). Setiap media agar terdiri dari empat ulangan perlakuan ekstrak metanol buah asam kalimbawan tiap konsentrasi, kontrol positif dan kontrol negatif (Alfiah *et al.*, 2015). Petri pengujian diinkubasi pada suhu 37° selama 24 jam dan 48 jam. Aktivitas antifungi ekstrak ditandai dengan munculnya zona bening di sekitar sumuran ekstrak. Pengukuran diameter zona bening dihitung dengan rumus sebagai berikut (Rodiah *et al.*, 2022).

$$D = \frac{(D1+D2+\dots+Dn)}{n}$$

Keterangan:

D = nilai diameter zona bening

D1 = nilai diameter zona bening 1

D2 = nilai diameter zona bening 2

n = jumlah pengukuran

Respon hambatan jamur uji dilakukan dengan melihat klasterisasi daya hambat. Klasterisasi daya hambat mengacu dari tabel yang dikeluarkan oleh Davis dan Stout (Hildayati *et al.*, 2020). Kategori respon hambat ekstrak terhadap pertumbuhan jamur dinyatakan dalam tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1. Kategori respon hambat ekstrak terhadap pertumbuhan jamur.

Ukuran diameter zona bening	Respon hambat ekstrak
≤ 5 mm	Lemah
5-10 mm	Sedang
10-20 mm	Kuat
≥ 20 mm	Sangat Kuat

Skrining Fitokimia

Uji Alkaloid

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dilarutkan dengan 1 ml HCl 2N, kemudian ditambahkan tiga tetes pereaksi Dragendroff. Hasil positif diketahui dengan pengamatan terbentuknya endapan warna *orange* yang menunjukkan adanya kandungan alkaloid (Simaremare, 2014).

Uji Flavonoid

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) ditambahkan dengan bubuk magnesium serta 2 ml HCl 2N secara berurutan. Hasil positif ditandai dengan munculnya warna jingga sampai merah yang menunjukkan adanya kandungan flavonoid (Ergina *et al.*, 2014).

Uji Steroid

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dicampurkan klorofom sebanyak 0,5 ml di tabung reaksi, lalu ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrida. Campuran tersebut kemudian diberikan 2 ml asam sulfat pekat (H₂SO₄). Hasil positif steroid terdeteksi dengan perubahan warna hijau kebiruan (Reiza *et al.*, 2019).

Uji Terpenoid

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dicampurkan dengan 0,5 ml klorofom,

kemudian ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrida. Campuran tersebut kemudian ditetesi 2 ml asam sulfat pekat (H_2SO_4). Hasil positif terpenoid ditunjukkan dengan terbentuknya visual cincin berwarna ungu kecoklatan di antara dua bagian pelarut (Reiza *et al.*, 2019).

5. Uji Saponin

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dicampurkan dengan 10 ml air panas pada tabung reaksi. Setelah itu, campuran digojog dengan kuat selama 10 detik. Terdeteksinya kandungan saponin jika terlihat konsistensi busa di dalam tabung (Simaremare, 2014).

6. Uji Tanin

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) ditambahkan dua sampai tiga tetes larutan $FeCl_3$ 1%. Ekstrak buah asam kalimbawan mengandung senyawa tanin (*S. diversifolia*) terbentuk warna hijau kehitaman atau biru kehitaman dari campuran (Setiawan, 2016).

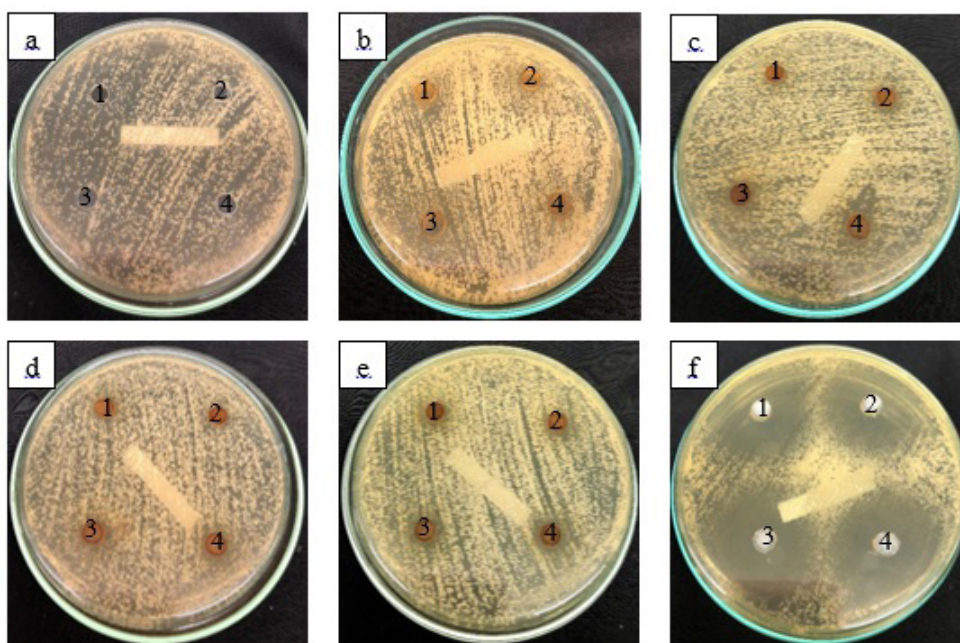
Analisis Data

Data diameter zona bening dari hasil penelitian aktivitas antifungi ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) dilakukan analisis statistik dengan *one way ANOVA* menggunakan *software SPSS 25*. Jika

Tabel 2. Rerata angka diameter zona bening ekstrak buah asam kalimbawan terhadap *C. albicans* selama 24 jam

Perlakuan	Rerata ukuran diameter zona bening (mm)	Kategori
DMSO 10% (kontrol negatif)	0,00 ± 0,00 ^a	Lemah
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,2 g/ml	0,00 ± 0,00 ^a	Lemah
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,4 g/ml	8,78 ± 1,03 ^b	Sedang
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,6 g/ml	8,12 ± 1,12 ^b	Sedang
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,8 g/ml	9,02 ± 0,67 ^b	Sedang
Ketokonazol 2% (kontrol positif)	30,84 ± 0,88 ^c	Sangat Kuat

Keterangan: Nilai rerata diameter yang diakhiri dengan alfabet yang sama menunjukkan hasil tidak berbeda signifikan antar perlakuan.



Gambar 1 Zona bening masa inkubasi 24 jam pada perlakuan uji antifungi ekstrak asam kalimbawan dan ketokonazol. Tanda panah menunjukkan zona bening yang terbentuk: a) DMSO 10% (kontrol negatif); b) Konsentrasi 0,2 g/ml; c) Konsentrasi 0,4 g/ml; d) Konsentrasi 0,6 g/ml; e) Konsentrasi 0,8 g/ml; dan f) Ketokonazol 2% (kontrol positif) dengan empat pengulangan

hasil analisis data dinyatakan berbeda nyata, kemudian dilanjutkan dengan Uji Lanjut Duncan pada taraf kepercayaan sebesar 5%.

Hasil

Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Buah *Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F

Buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) diketahui dapat menghambat *C. albicans* melalui adanya visualisasi zona bening di sekitar sumuran. Hasil analisis aktivitas penghambatan ekstrak methanol buah asam kalimbawan terhadap *C. albicans* menunjukkan bahwa konsentrasi 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml ekstrak metanol *S. diversifolia* berbeda nyata dengan kontrol positif, kontrol negatif, dan konsentrasi 0,2 g/ml, namun konsentrasi 0,4 g/ml memperlihatkan hasil tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0,6 dan 0,8 g/ml (Tabel 1). Kategori respon hambatan dari setiap perlakuan konsentrasi 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml tergolong sedang. Konsentrasi 0,2 g/ml menunjukkan tidak adanya zona bening. Rerata diameter zona bening paling besar yaitu konsentarsi 0,8 g/ml, sedangkan yang terkecil yaitu konsentrasi 0,2 g/ml (Tabel 2). Berdasarkan analisis, pengukuran diameter zona bening pada waktu inkubasi 24 jam adalah ($F_{5/18} =$

863,932; $P= 0,000$; ANOVA).

Hasil uji aktivitas antifungi ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) terhadap *C. albicans* dari masa inkubasi 24 jam ke 48 jam mengalami penurunan zona bening, sehingga awalnya terbentuk zona bening menjadi tidak adanya zona bening (Tabel 3).

Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Buah *Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F

Skrining fitokimia ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) dilakukan bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dari ekstrak metanol asam kalimbawan (*S. diversifolia*). Berdasarkan hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) secara kualitatif memperlihatkan karakter senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, dan tanin (Tabel 4).

Pembahasan

Hasil penelitian ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) memperlihatkan adanya aktivitas penghambatan terhadap *Candida albicans* melalui visualisasi zona bening di sekitar lubang sumuran (Gambar 1). Zona bening

Tabel 3. Rerata angka diameter zona bening ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) terhadap *C. albicans* selama 48 Jam

Perlakuan	Rerata ukuran diameter zona bening (mm)	Kategori
DMSO 10% (kontrol negatif)	0	Lemah
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,2 g/ml	0	Lemah
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,4 g/ml	0	Lemah
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,6 g/ml	0	Lemah
Ekstrak buah asam kalimbawan 0,8 g/ml	0	Lemah
Ketokonazol 2% (kontrol positif)	26,60	Sangat Kuat

Tabel 4. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Buah Asam Kalimbawan (*S. diversifolia*)

No.	Metabolit Sekunder	Pereaksi	Perubahan	Hasil
1.	Alkaloid	HCl 2N dan Dragendroff	Terbentuknya endapan jingga	+
2.	Flavonoid	HCl 2N	Berwarna jingga sampai merah	+
3.	Steroid	Klorofom Asam asetat anhidrida ($(CH_3CO)_2O$, dan Asam sulfat (H_2SO_4))	Berwarna hijau kebiruan	+
4.	Terpenoid	Klorofom, Asam asetat anhidrida ($(CH_3CO)_2O$, dan Asam sulfat (H_2SO_4))	Terbentuknya cincin kecoklatan atau violet	+
5.	Saponin	Akuades	Terbentuknya busa	+
6.	Tanin	$FeCl_3$ 1%	Berwarna hijau atau biru kehitaman	+

Keterangan: (+) metabolit sekunder terdeteksi pada pengujian

tersebut muncul karena ekstrak metanol buah *S. diversifolia* pada lubang sumuran berdifusi pada media agar, sehingga jamur *C. albicans* dihambat pertumbuhannya. Adanya zona bening menunjukkan aktivitas antifungi dan melambatnya pertumbuhan sel jamur *C. albicans* yang sebelumnya sudah diinokulasikan. Menurut Minarni *et al.* (2020) antifungi merupakan aktivitas senyawa yang memberikan efek hambatan atau daya bunuh terhadap jamur tertentu sehingga dapat menyembuhkan atau mengurangi dampak mikosis yang disebabkan oleh infeksi jamur.

Ekstrak metanol buah *S. diversifolia* sebagai antifungi bersifat fungistatik karena terjadi penurunan zona bening yang dilihat dari masa inkubasi 24 jam ke 48 jam (Tabel 2 dan 3). Peristiwa tersebut menggambarkan bahwa fungistatik sifatnya menghambat tanpa mematikan jamur *C. albicans*. Hal ini ditandai dengan pertumbuhan kembali sel jamur *C. albicans* pada medium agar. Pertumbuhan tersebut terjadi karena sel jamur yang berada dekat dengan zona bening akan berkembangbiak, sehingga daerah zona bening pada konsentrasi 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml masa inkubasi 24 jam mengalami pertumbuhan sel jamur kembali pada masa inkubasi 48 jam (Tabel 3). Selain itu, keberadaan senyawa aktif dari ekstrak metanol buah *S. diversifolia* yang berdifusi di sekitar lubang sumuran diduga sudah berkurang. Minarni *et al.* (2020) menyatakan bahwa senyawa yang bersifat fungistatik hanya menghambat pertumbuhan jamur jika introduksi senyawa dilakukan secara berkala, namun apabila dihentikan maka peningkatan aktivitas pertumbuhan jamur terjadi kembali dan terlihat dengan berkurangnya diameter zona bening pada masa inkubasi selanjutnya.

Hasil penelitian menunjukkan terjadi penurunan diameter zona bening dari konsentrasi 0,4 g/ml ke konsentrasi 0,6 g/ml, di mana konsentrasi 0,4 g/ml memiliki rerata diameter zona bening sebesar 8,78 mm dan konsentrasi 0,6 g/ml sebesar 8,12 mm (Tabel 2). Chairunnisa *et al.* (2022) menyebutkan bahwa nilai diameter zona bening tidak selalu berbanding lurus terhadap peningkatan konsentrasi ekstrak uji. Hal ini dikarenakan adanya perbedaan laju difusi senyawa aktif

ekstrak pada permukaan agar. Zeniusa (2019) menyatakan bahwa faktor pengenceran senyawa juga dapat memengaruhi aktivitas difusi ekstrak, kenaikan konsentrasi uji maka dapat menurunkan kelarutan, sehingga proses difusi senyawa aktif ekstrak pada media agar menjadi lambat dan mengakibatkan penurunan kemampuan ekstrak dalam menghambat mikroba uji meskipun nilai konsentrasinya tinggi. Faktor lain yang memengaruhi perbedaan daya hambat yaitu sensitivitas organisme yang digunakan (Haryati *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, konsentrasi ekstrak dinaikkan tidak akan memengaruhi aktivitas penghambatan *C. albicans*, hal ini dapat dilihat dari penghambatan oleh konsentrasi 0,4; 0,6; dan 0,8 g/ml yang memiliki rata-rata diameter zona bening tidak berbeda signifikan (Tabel 2).

Berdasarkan hasil analisis statistik, setiap perlakuan konsentrasi ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) memberikan pengaruh yang berbeda nyata terhadap kontrol positif dan kontrol negatif. Konsentrasi ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) yang paling baik dalam rentang konsentrasi uji yaitu konsentrasi 0,4 g/ml dengan rerata nilai diameter zona bening sebesar 8,78 mm. Hal ini dilihat dari hasil analisis statistik konsentrasi 0,4 g/ml tidak berbeda signifikan dengan konsentrasi 0,6 dan 0,8 g/ml, walaupun dilihat dari rata-rata diameter zona bening berbeda, tetapi secara kategori hambatan ketiganya masing-masing tergolong sedang (Tabel 2).

Efektivitas ekstrak metanol buah asam kalimbawan dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* tergolong belum efektif. Hal ini dilihat dari sifat ekstraknya yaitu fungistatik, di mana hanya dapat menghambat jamur uji. Selain itu, ukuran zona bening yang terbentuk juga masih dalam kategori sedang dengan konsentrasi tinggi. Penelitian Sadzali (2018) tentang efektivitas buah belimbing (*Averrhoa carambola* L.) terhadap pertumbuhan *C. albicans* juga menunjukkan belum efektif, hal ini dilihat dari hasil konsentrasi ekstrak tertinggi yaitu konsentrasi 80% (setara dengan 0,8 g/ml) dengan rerata diameter

zona bening sebesar 6,44 mm dan masih tergolong kategori sedang. Berdasarkan hasil pemaparan dari tumbuhan yang satu famili, ekstrak buah asam kalimbawan lebih baik dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* dibandingkan ekstrak buah belimbing. Hal ini dibuktikan dari penelitian yang telah dilakukan, pada konsentrasi ekstrak 0,4 g/ml rerata nilai diameter zona bening 8,78 mm, sedangkan hasil penelitian Sadzali (2018) konsentrasi ekstrak 80% (setara dengan 0,8 g/ml) nilai rerata diameter zona bening sebesar 6,44 mm.

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak dari buah asam kalimbawan belum efektif dalam menghambat jamur *C. albicans* jika dibandingkan dengan organ daun tanaman yang berasal dari satu famili. Penelitian terhadap organ lain dari tumbuhan yang termasuk satu famili dengan asam kalimbawan dilakukan oleh Rakhmatullah *et al.* (2018) menunjukkan adanya zona bening dari ekstrak metanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa blimbi* L.) lebih efektif dalam menghambat *C. albicans* jika dikomparasi dengan nilai diameter zona bening yang terbentuk pada konsentrasi 40% (setara dengan 0,4 g/ml) yakni sebesar 13,31 mm dengan kategori kuat. Ekstrak metanol buah asam kalimbawan pada konsentrasi 0,4 g/ml masuk kategori sedang, oleh karena itu, pemaparan terhadap tumbuhan yang satu family, khususnya daun lebih baik dalam menghambat *C. albicans* dibandingkan buah.

Penelitian ini menggunakan ketokonazol 2% sebagai kontrol positif. Rata-rata diameter zona bening yang dihasilkan dari ketokonazol 2% pada masa inkubasi 24 jam sebesar 30,84 mm dan tergolong kategori sangat kuat, namun mengalami penurunan pada masa inkubasi 48 jam yaitu sebesar 26,60 mm, hal ini membuktikan bahwa ketokonazol bersifat fungistatik terhadap *C. albicans* (Tabel 2 dan 3). Ketokonazol merupakan obat antijamur golongan azol sintetis yang bekerja mengganggu biosintesis ergosterol dan bersifat fungistatik (Ivanov *et al.*, 2022). Berdasarkan hasil penelitian, diameter zona bening ketokonazol 2% lebih besar jika dibandingkan dengan semua perlakuan ekstrak metanol asam kalimbawan

(*S. diversifolia*) dengan persentase daya hambat 28-29% dari ketokonazol (Tabel 2), hal ini disebabkan oleh mekanisme kerja ketokonazol yang spesifik melalui pengikatan enzim sitokrom P450 yang mengganggu sintesis ergosterol, sehingga menyebabkan rusaknya membran sel jamur dan sel menjadi hancur atau lisis (Setiari *et al.*, 2019; Bvumbi *et al.*, 2021)).

Perlakuan kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan DMSO 10%. Menurut Rahmi & Putri (2020) zat yang digunakan untuk membantu peningkatan kelarutan senyawa atau ekstrak uji juga digunakan sebagai kontrol negatif. Pada penelitian ini, pelarut yang digunakan untuk mengencerkan ekstrak metanol buah asam kalimbawan yaitu DMSO 10%. Maulana *et al.* (2021) menginformasikan bahwa DMSO merupakan pelarut yang efektif dan cepat mengikat senyawa yang terkandung di ekstrak. Oleh sebab itu, penggunaan DMSO sebagai kontrol negatif bermakna sebagai pembuktian bahwa pelarut yang digunakan pada pengenceran ekstrak tidak mempengaruhi hasil pengujian (Lestari, 2020). Hasil penelitian menunjukkan bahwa kontrol negatif DMSO 10% tidak membentuk zona bening, hal ini mengindikasikan bahwa DMSO 10% tidak memiliki pengaruh terhadap aktivitas penghambatan *C. albicans*. Hasil penelitian Kurniawan *et al.* (2015) juga memperlihatkan penggunaan DMSO di bawah konsentrasi 15% tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap *C. albicans*.

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak metanol buah *S. diversifolia* terdiri dari alkaloid, steroid, terpenoid, flavonoid, tanin, dan saponin (Tabel 4). Hasil penelitian Muharini *et al.* (2010) menyatakan buah *S. diversifolia* mengandung senyawa alkaloid, steroid, fenolik, dan flavonoid. Sementara itu, penelitian tumbuhan lain yang termasuk satu famili dengan *S. diversifolia* dilakukan oleh Putriana (2018) terdeteksi beberapa kandungan metabolit sekunder terdiri dari saponin, terpenoid, tanin, alkaloid, dan flavonid pada buah *A. bilimbi*. Hal ini menunjukkan adanya kesamaan kandungan metabolit sekunder dari tumbuhan satu

famili pada kedua tumbuhan tersebut.

Mekanisme penghambatan oleh metabolit sekunder terhadap pertumbuhan jamur dapat melalui empat mekanisme yaitu, penghambatan sintesis dinding kitin dan β -glukan sel jamur, penghambatan dan pengrusakan fungsi permeabilitas membran sel, penghambatan aktivitas sintesis protein struktural maupun fungsional, dan perusakan struktur DNA (Maisarah *et al.*, 2023). Hasil skrining fitokimia menunjukkan terdeteksinya senyawa metabolit alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, dan tanin di dalam ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*S. diversifolia*) (Tabel 4). Mekanisme alkaloid sebagai antifungi yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel dan mengakibatkan lisisnya sel (Tuasikal, 2016). Senyawa fenol yang terdapat pada flavonoid dapat menyebabkan dinding sel mengerut dan kerusakan protein membran sehingga menyebabkan terganggunya permeabilitas membran sel jamur (Ningsih *et al.*, 2023). Senyawa steroid berperan sebagai antifungi karena memiliki sifat lipolitik sehingga menghambat viabilitas spora dan pertumbuhan miselium pada jamur melalui pengrusakan membran lipid yang menyebabkan kebocoran sel (Subaryanti *et al.*, 2022). Terpenoid menghambat pertumbuhan jamur melalui mekanisme pengrusakan membran dan gangguan viabilitas spora jamur dan menghambat kinerja enzim β -1,3-D-glukan sintase sebagai enzim kunci dalam biosintesis (1,3)-D-glukan (Ghannoum *et al.*, 2020). Mekanisme aktivitas fungistatik oleh senyawa saponin terjadi melalui penurunan tegangan permukaan membran sel akibat rusaknya struktur sterol yang memiliki peran krusial dalam sintesis dinding sel jamur (Setiari *et al.*, 2019). Tanin memiliki potensi dalam mengganggu sintesis kitin dinding sel jamur yang diikuti rusaknya membran sel sehingga viabilitas jamur menurun (Hersila *et al.*, 2023). Potensi antifungi ekstrak buah asam kalimbawan masih dapat diteliti lebih lanjut dengan mengoreksi konsentrasi ekstrak dan dapat dilakukan fraksinasi ekstrak sehingga dapat

dilihat potensinya secara komprehensif.

Kesimpulan

Ekstrak metanol buah asam kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia*) diketahui dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* melalui terbentuknya zona bening. Daya hambat ekstrak metanol buah asam kalimbawan pada ketiga konsentrasi termasuk dalam kategori sedang dengan sifat daya hambat fungistatik. Kekuatan daya hambat dari ekstrak metanol buah asam kalimbawan tersebut memiliki 29-28% dibandingkan dengan daya hambat 2% ketokonazol dengan kategori kuat. Metabolit sekunder yang terdeteksi pada ekstrak metanol buah *S. diversifolia* adalah alkaloid, flavonoid, steroid, terpenoid, saponin, dan tanin.

Daftar Pustaka

- Alfiah, R. R., Khotimah, S., & Turnip, M. (2015). Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Protobiont*. 4(1): 52-57.
- Balouiri, M., Moulay, S., & Saad, K. I. (2016). Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. 6: 71-79.
- Bvumbi, C., Chi, G.F., Stevens, M.Y., Mombeshora, M., Mukanganyama, S. (2021). The Effects of Tormentic Acid and Extracts from *Callistemon citrinus* on *Candida albicans* and *Candida tropicalis* Growth and Inhibition of Ergosterol Biosynthesis in *Candida albicans*. *Scientific World Journal*. 21: 8856147. doi: 10.1155/2021/8856147
- Chairunnisa, F., Safithri, M., Bintang, M. (2022). Antibacterial Activity of Ethanol Extract of Red Betel Leaves (*Piper crocatum*) and Its Fractions against *Escherichia coli* pBR322. *Curr. Biochem*. 9(1): 1 - 15.
- Chusniah, I & Muhtadi, A. (2017). Aktivitas Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) sebagai Antibakteri, Antivirus, Antifungal, Larvasida, dan Anthelmintik. *Farmaka*. 15(2): 9-22.

- Ergina., Nuryanti, S., & Pursitasar, I. D. (2014). Uji Kualitatif Senyawa Metabolit Sekunder pada Daun Palado (*Agave angustifolia*) yang Diekstraksi dengan Pelarut Air dan Etanol. *J. Akad. Kim.* 3(3): 165-172.
- Ghannoum, M., Arendrup, M. C., Chaturvedi, V. P., Lockhart, S. R., McCormick, T. S., Chaturvedi, S. (2020). Ibrexafungerp: A novel oral triterpenoid antifungal in development for the treatment of *Candida auris* infections. *Antibiotics.* 9(9): 539.
- Hersila, N., Chatri, M., Vauzia, Irdawati. (2023). Senyawa Metabolit Sekunder Tanin pada Tanaman sebagai Antifungi. *Jurnal Embrio.* 15(1): 16 - 22.
- Hildayati, U., Wardoyo, E. R. P., & Rahmawati. (2020). Pengaruh Ekstrak Bunga Ekor Kucing (*Acalypha hispida* Burm. F) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* (Y116). *Jurnal Protobiont.* 9(2): 175-179.
- Ivanov, M., Ćirić, A., Stojković, D. (2021). Emerging Antifungal Targets and Strategies. *Int J Mol Sci.* 23(5): 2756. doi: 10.3390/ijms23052756
- Kurniawan, D., Khotimah, S., Liana, D.F. (2015). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* Lamk.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro. (Skripsi). Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Lestari, R. (2020). Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K.Schum) terhadap *Malessezia furfur* dan *Microsporum canis*. *Collaborative Medical Journal (CMC).* 3(1).
- Maisarah, M., Chatri, M., Advinda, L., Violita. (2023). Karakteristik dan Fungsi Senyawa Alkaloid sebagai Antifungi pada Tumbuhan. *Serambi Biologi.* 8(2): 231 - 236.
- Maulana, A.R., Triatmoko, B., Hidayat, M.A. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Waru Gunung (*Hibiscus macrophyllus*) dan Fraksinya terhadap *Staphylococcus aureus*. *Pustaka Kesehatan.* 9(1): 48 - 53.
- Minarni, A., Widarti., & Rahman. (2020). Uji Daya Hambat Beberapa Jenis Obat Antijamur pada Jamur yang di Isolasi dari Kuku Kaki. *Jurnal Media Analis Kesehatan.* 11(2).
- Muharini, R., Masriani., & Sartika, R.P. (2010). *Penyidikan Metabolit Sekunder dari Tumbuhan Asam Kalimbawan (Sarcotheca diversifolia (Miq.) Hallier F.) dan Aktifitas Antioksidannya Terhadap DPPH.* Pontianak: Universitas Tanjungpura.
- Mutiawati, V.K. (2016). Pemeriksaan Mikrobiologi pada *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala.* 16(1): 53 - 63.
- Ningsih, I.S., Chatri, M., Advinda, L., Violita. (2023). Flavonoids Active Compounds Found in Plants. *Serambi Biologi.* 8(2): 126 - 132.
- Rahmi, M., Putri, D.H. (2020). Aktivitas Antimikroba DMSO sebagai Pelarut Ekstrak Alami. *Serambi Biologi.* 5(2): 56 - 58.
- Rakhmatullah, H., Saputera, D., & Budiarti, L. Y. (2018). Aktivitas Daya Hambat Ekstrak Daun Belimbing Wuluh dengan Klorheksidin terhadap *Candida albicans* pada Plat Akrilik. *Dentin (Jurnal Kedokteran Gigi).* 2(1): 73 - 78.
- Reiza, I. A., Rijai, L., & Mahmudah, F. (2019). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Nanas (*Ananas comosus* (L.) Merr). *Proceeding of Mulawarman Pharmaceuticals Conferences.*
- Rodiah, S. A., Fifendy, M., & Indriati, G. (2022). Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Beringin (*Ficus benjamina* L.) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* secara in Vitro. *Serambi Biologi.* 7(4): 318-325.
- Sadzali, F. (2018). Efektivitas Ekstrak Buah Belimbing Manis (*Averrhoa carambola* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. [Skripsi]. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Setiari, N. M. N., Ristiati, N. P., & Warpala, I. W. S. (2019). Aktivitas Antifungi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle*) dan Ekstrak Kulit Buah Jeruk (*Citrus reticulata*) untuk Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal Pendidikan Biologi Undiksha.* 6(2): 72 - 82.

- Setiawan, M.H. (2016). Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Kulit Nanas (*Ananas comosus* L. Merr). [Skripsi]. Semarang: Universitas Negeri Semarang.
- Simaremare, E.S. (2014). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd), *Pharmacy*, 11(1): 98 - 107.
- Subaryanti, Melasari, F., Zainuddin, R. (2022). Potensi Antifungi Ekstrak Kulit Buah Pisang Batu (*Musa balbisiana* Cola) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* dan *Candida tropicalis*. *Saintech Farma*. 15(1): 23 - 30.
- Sudarmono. (2015). Asam Kalimbawan (*Sarcotheca diversifolia* (Miq) Hallier F.) dan Asam Paya (*Eleiodoxa conferta* (Griff.) Burret) sebagai Alternatif Pangan dan Konservasinya di Kebun Raya Sambas, Kalimantan Barat. *Seminar Nasional Peran Geografi dalam Mendukung Kedaulatan Pangan*. ISBN: 978-602-9439-60-1.
- Tuasikal, M. (2016). *Daya Hambat Infusa Daging Buah Pala (Myristica fragrans Houtt) terhadap Pertumbuhan Candida albicans Penyebab Sariawan* [Skripsi]. Semarang: Fakultas Ilmu Keperawatan dan Kesehatan Universitas Muhammadiyah.
- Yanti, N., Samingan & Mudatsir. (2016). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Gal Manjakani (*Quercus infectoria*) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Mahasiswa Pendidikan Biologi*. 1(1): 1-9.
- Zeniusa, P. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* secara *In Vitro*. [Skripsi]. Bandar Lampung: Universitas Lampung.