

**UJI AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOLIK PUTRI MALU
(*Mimosa pudica* Linn) TERHADAP *Candida albicans* SECARA *IN VITRO***

**THE ACTIVITY ASSAY ON ANTI-FUNGI ETHANOLIC EXTRACT OF
PUTRI MALU (*Mimosa pudica* Linn) TOWARDS *Candida albicans* BY *IN
VITRO***

Wandra

Pharmacy Study Programme, Faculty of Medical and Health Sciences,
Muhammadiyah University of Yogyakarta

Wandra.mcf@gmail.com

INTISARI

Masih banyak terdapat penyakit infeksi yang disebabkan oleh jamur terutama pada bagian kulit dan kuku pada masyarakat. Salah satu jamur penyebab infeksi tersebut adalah *Candida albicans*. Minat masyarakat untuk memanfaatkan bahan alam untuk pengobatan tradisional cenderung meningkat. Indonesia banyak memiliki tumbuhan yang dapat digunakan untuk pengobatan, salah satunya adalah tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Beberapa penelitian sebelumnya telah menyebutkan bahwa putri malu memiliki kandungan senyawa tanin dan saponin yang diduga aktif sebagai agen antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*.

Proses ekstraksi tumbuhan putri malu dilakukan dengan cara maserasi. Pertama kali dilakukan analisis kandungan senyawa tanin dan saponin secara kualitatif dengan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dalam ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Uji aktivitas antijamur dilakukan dengan metode dilusi cair sebagai uji pendahuluan, dan dilanjutkan dengan metode difusi agar. Kadar uji dari ekstrak yang digunakan yakni 70%, 80%, 90% dan 95% v/v. Setiap kadar yang diujikan dilakukan pengukuran Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang dapat menghambat atau mengganggu pertumbuhan *Candida albicans*.

Hasil uji analisis KLT menunjukkan bahwa ekstrak etanolik putri malu memiliki kandungan senyawa tanin dengan nilai Rf 0,32 dan saponin dengan nilai Rf 0,43. Hasil dari penelitian aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Kata kunci: *Candida albicans*, antijamur, KLT, *Mimosa pudica*.

ABSTRACT

There are still many infection diseases which are caused by fungi, especially on the skin and nails in society. One of the fungies is *Candida albicans*. The society interest to use natural from vegetables for traditional medication trends to be improved. Indonesia has a lot vegetables that can be used for medication, among others is putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Based on some previous studies mentioned that putri malu has contains of tannins and saponins compounds suspected as antifungal agents. This research is purposed to knowing the activity of anti-fungi ethanolic extract of putri malu towards *Candida albicans* by *In Vitro*.

Ethanolic extract of putri malu is made by maceration method. Tannins and saponins content analysis is also done qualitatively using by Thin Layer Cromatography (TLC) method in the ethanolic extract of putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Activity test of this anti-fungi is done by using a liquid dilussion method as a Pre-Test, and continued by the gel diffussion method. The extract contents used are 70%, 80%, 90%, and 95%. Each content which is tested had been measured it's Minimum Inhibitor Concentration (MIC) and Minimum Killing Concentration (MKC), which is able to slow down or disturb the growth of *Candida albicans*.

The result of TLC showed that the ethanolic extract of putri malu (*Mimosa pudica* Linn) has a contact of tannins with Rf 0,32 and saponins with Rf 0,43. The result of the research showed that the ethanolic extract of putri malu (*Mimosa pudica* Linn) does not have the ability to slow down the growth of *Candida albicans*.

Keywords : *Candida albicans*, Anti-fungi, TLC, *Mimosa pudica*.

PENDAHULUAN

Kejadian infeksi di Indonesia masih banyak dialami oleh masyarakat terutama yang disebabkan oleh jamur. Pertumbuhan jamur patogen penyebab penyakit yang berlebihan tentu tidak menguntungkan bagi manusia. Salah satu jamur yang sering menyebabkan penyakit infeksi kulit dan kuku diantaranya adalah *Candida albicans* (Samidjo, 2003).

Munculnya falsafah hidup “*back to nature*” mendorong minat masyarakat Indonesia untuk memanfaatkan kembali bahan alam untuk pengobatan tradisional. Masyarakat mulai menyadari pemakaian bahan obat kimia yang berlebihan sering menimbulkan efek samping yang cukup berbahaya. Indonesia sendiri kaya akan tumbuhan yang dapat digunakan sebagai pengobatan (Dalimartha, 2008). Beberapa tumbuhan tertentu

memiliki kandungan zat antijamur yang dapat dimanfaatkan untuk pengobatan. Umumnya suatu senyawa dikatakan sebagai zat antijamur apabila senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur (Siswandono, 1995)

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan oleh manusia adalah tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Berdasarkan beberapa penelitian sebelumnya telah menyebutkan bahwa tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) memiliki kandungan senyawa tanin dan saponin yang diduga aktif sebagai agen antijamur, sehingga dapat dimanfaatkan untuk pengobatan yang disebabkan oleh jamur.

Ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang berpotensi sebagai agen antijamur dianalisis secara kualitatif kandungan senyawa tanin dan saponin menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Ekstrak putri malu juga akan diuji aktivitas antijamurnya untuk mengetahui secara ilmiah mengenai aktivitas antijamurnya terhadap *Candida albicans*.

Penelitian mengenai uji aktivitas antijamur ekstrak putri malu menunjukkan hasil yang positif terhadap *Aspergillus flavus* dan *Trycophyton rubrum* (Tamiliarasi dan Ananthi, 2012).

METODELOGI

Sampel penelitian yang digunakan adalah ekstrak etanolik tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) sendiri diperoleh di daerah sekitar kampus Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan : etanol 70% (Mandiri Surya/ Grade Teknis), aquadest (Bratachem/ Grade Teknis), ketokonazol tablet 200 mg (PT. Hexpharm Jaya), putri malu, lempeng silika gel GF₂₅₄, asam asetat (Bratachem/ Grade Teknis), n-butanol (Bratachem/ Grade Teknis), kloroform (Bratachem/ Grade Teknis), metanol (Merck/ Grade Teknis), suspensi *Candida albicans*, media *Sabouraud Dextrosa Agar* (SDA), BHI (*Brain Heart Infusion*) cair.

Alat : batang pengaduk (Stainless Steel), Erlenmeyer (Pyrex), oven (Shimadzu), penggaris (Brand), gelas beker (Pyrex), propipet (Glasfirn), *incubator* (Memmert), *Laminar Air Flow* (LAF) (Labconco), *blender* (Philip), tabung reaksi (Pyrex), timbangan elektrik (Casbee), *aluminium foil* (Brand), *centrifuge* (Sorvall), pinset, kertas cakram, lidi kapas steril, gelas bejana, ose steril, rak tabung reaksi.

Pembuatan Ekstrak Putri Malu

Tumbuhan putri malu dikeringkan, dihaluskan dan kemudian diekstraksi dengan cairan penyari etanol 70%. Ekstraksi menggunakan metode maserasi. Maserasi dilakukan selama 2 hari. Setelah 2 hari, sari diserkai lalu ampasnya diperas menggunakan kain flanel. Ekstrak cair yang diperoleh dievaporasi pada suhu 60°C. Untuk mendapatkan ekstrak yang pekat dilakukan penguapan diatas penangas air pada suhu 95°C.

Analisis Kandungan Kimia Metode KLT

Uji kromatografi Lapis Tipis pada penelitian ini menggunakan fase diam lempeng silika gel GF₂₅₄

dengan ukuran 2 x 10 cm. Ekstrak dilarutkan terlebih dahulu dengan etanol, lalu ditotolkan menggunakan pipa kapiler pada jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng silika. Siapkan bejana yang telah terjenuhi dengan fase gerak n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) untuk uji senyawa tanin dan kloroform : metanol (95:5) untuk uji senyawa saponin. Lempeng silika yang berada di dalam bejana didiamkan hingga pelarut mampu mengelusi lempeng silika hingga jarak 8 cm. Hasil diamati dengan cara melihat warna bercak dan nilai Rf yang terbentuk pada lempeng dan dibandingkan dengan pembanding yang telah diketahui di bawah sinar ultraviolet (UV) 254 nm dan 366 nm, bercak dapat diperjelas dengan reaksi penyemprotan.

Pembuatan Suspensi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* diambil sebanyak 1 koloni tunggal dengan menggunakan ose steril dan dimasukkan ke dalam aquadest sebanyak 2 ml dan inkubasi selama 48 jam. Setelah itu larutan suspensi jamur tersebut diambil sebanyak 0,1 ml dan ditambahkan dengan nutrien

BHI dengan perbandingan 0,1 : 9,9 sambil dihomogenkan. Perlakuan tersebut dilakukan dalam kondisi aseptis dalam *Laminar Air Flow*.

Pembuatan Larutan Uji

Ekstrak kental etanolik dari putri malu (*Mimosa pudica* Linn) terlebih dahulu dibuat larutan induk dengan konsentrasi 100% dengan cara melarutkan 35 gram ekstrak kental dengan aquadest hingga volume 35 ml. Larutan uji dibuat sebanyak 4 macam variasi konsentrasi yakni 70%, 80%, 90% dan 95% v/v. Pembuatan 4 macam variasi konsentrasi ini dilakukan dengan cara mengambil sebanyak 7 ml, 8 ml, 9 ml, dan 9,5 ml dari larutan induk lalu masing-masing larutan konsentrasi dilarutkan dengan aquadest hingga volume 10 ml. Tablet ketokonazol sediaan 200 mg yang memiliki bobot total 340 mg. Untuk mendapatkan larutan kontrol positif ketokonazol setara dengan 14 mg/ ml aquadest, maka 1 tablet ketokonazol digerus hingga halus, kemudian ditimbang sebanyak 238 mg lalu dilarutkan ke dalam 10 ml aquadest.

Uji Pendahuluan Metode Dilusi Cair

Uji ini dilakukan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari setiap kadar ekstrak yang akan diuji. Suspensi jamur yang telah dibuat + media BHI sebanyak 0,5 ml lalu dimasukkan ke dalam 1 ml masing-masing kadar ekstrak etanolik putri malu dengan konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% v/v di dalam tabung reaksi dan divortek. Sebagai kontrol positif berisi 0,5 ml suspensi jamur + media BHI dan 0,5 ml larutan ketokonazol, dan kontrol negatif berisi 1 ml suspensi jamur + media BHI. Semua perlakuan dilakukan dalam *Laminar Air Flow*. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Nilai KHM dapat diperoleh dengan cara mengamati ada atau tidaknya kekeruhan pada tabung uji secara visualisasi. Nilai KBM diperoleh dengan cara mengambil sebanyak 1 ose dari masing-masing tabung reaksi yang ditetapkan sebagai KHM. Kemudian digoreskan pada media SDA tanpa penambahan mikroba uji dan diinkubasi pada suhu

37°C selama 48 jam, lalu diamati konsentrasi terendah yang tidak terdapat sama sekali pertumbuhan jamur pada bekas goresan di media tumbuh SDA (Pratiwi, 2008).

Uji Aktivitas Antijamur Metode Difusi Agar

Media SDA (*Sabouraud Dektrosa Agar*) yang telah dibuat diinokulasi dengan 0,1 ml suspensi jamur *Candida albicans* pada permukaan media agar secara merata menggunakan kapas lidi steril. Kertas cakram saring yang telah disterilisasi direndam ke dalam larutan uji dengan berbagai konsentrasi yaitu 70%, 80%, 90%, 95% v/v, dan larutan ketokonazol 14 mg dalam 1 ml aquadest sebagai kontrol positif. Selanjutnya kertas cakram saring diletakkan pada permukaan media SDA yang telah terdapat jamur *Candida albicans*, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Setiap uji dilakukan replikasi sebanyak 3 kali dan dilakukan dalam kondisi aseptik dalam *Laminar Air Flow*. Pengamatan dilakukan dengan cara mengukur diameter daerah hambatan

yang terbentuk di sekitar kertas cakram menggunakan penggaris.

Analisis Data

Analisis kandungan kimia metode KLT diidentifikasi dengan cara membandingkan kesesuaian warna bercak antara sampel uji dengan senyawa pembanding dan nilai Rf antara sampel uji dan senyawa pembanding pada lempeng KLT setelah elusi. Pengamatan lempeng KLT dilakukan di bawah sinar UV λ 245 nm dan λ 366 nm dengan pereaksi semprot. Pada uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan metode dilusi cair menunjukkan positif adanya aktivitas antijamur jika larutan uji jernih dan hasil penggoresan pada media agar tidak terdapat pertumbuhan jamur. Pada uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* dengan metode difusi agar menunjukkan positif apabila terbentuk zona hambatan berupa daerah jernih di sekitar kertas cakram.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tumbuhan Putri Malu (*Mimosa pudica* Linn)

Identifikasi tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn)

dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Hasil yang didapat menunjukkan bahwa sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) yang termasuk ke dalam suku *Mimosaceae*.

Ekstrak Etanolik Putri Malu (*Mimosa pudica* Linn)

Tumbuhan putri malu yang terdiri dari bagian akar, batang, daun, biji serta bunga terlebih dahulu dicuci hingga bersih menggunakan air yang mengalir dengan tujuan untuk menghilangkan kotoran-kotoran yang melekat. Tumbuhan putri malu selanjutnya dikeringkan menggunakan oven pada suhu 60°C selama 4 hari. Tumbuhan putri malu yang telah dikeringkan kemudian digiling hingga menjadi serbuk halus. Hasil dari proses ini diperoleh serbuk kering sebanyak 1.037,80 gram. Proses ekstraksi untuk penarikan senyawa metabolit sekunder dilakukan dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1:7 b/v selama 48 jam. Proses ekstraksi yang telah dilakukan menghasilkan

ekstrak kental etanolik sebanyak 99,95 gram berwarna hitam.



Gambar 1. Ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn)

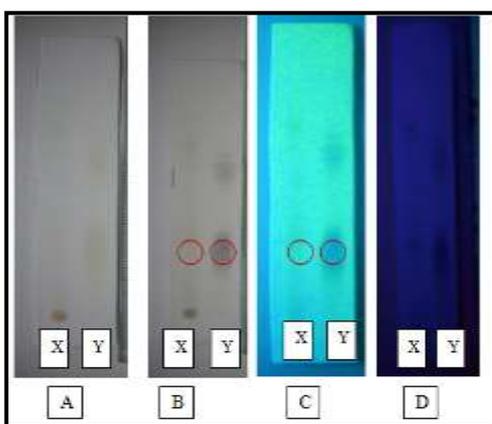
Analisis Kandungan Kimia Dengan Metode KLT

Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) pada penelitian ini dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa tanin dan saponin secara kualitatif. Fase diam yang digunakan untuk identifikasi senyawa tanin dan saponin yakni menggunakan silika gel GF₂₅₄ dengan panjang lempeng 2 x 10 cm. Larutan sampel ditotolkan pada fase diam dengan jarak 1 cm dari tepi bawah lempeng silika gel.

Uji analisis senyawa tanin menggunakan fase gerak campuran antara pelarut n-butanol : asam asetat : air (4:1:5) dengan total larutan sebanyak 5 ml. Pereaksi penampak bercak warna yang digunakan yakni larutan FeCl₃. Berdasarkan penelitian

yang dilakukan oleh Damayanti (2001) tanin akan memberikan bercak warna biru atau ungu kehitaman jika disemprotkan dengan pereaksi FeCl_3 . Perbandingan yang digunakan pada uji analisis senyawa tanin ini adalah asam galat 10 mg dalam 1 ml etanol. Uji identifikasi ini menghasilkan bercak warna biru kehitaman di bawah sinar UV 254 nm dan UV 366 nm setelah disemprot dengan pereaksi FeCl_3 dan nilai Rf yang dihasilkan 0,31.

Hasil ini sesuai dengan perbandingan yang menghasilkan bercak warna biru kehitaman dengan nilai Rf 0,32. Dari identifikasi ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik putri malu mengandung senyawa golongan tanin (Gambar 2).



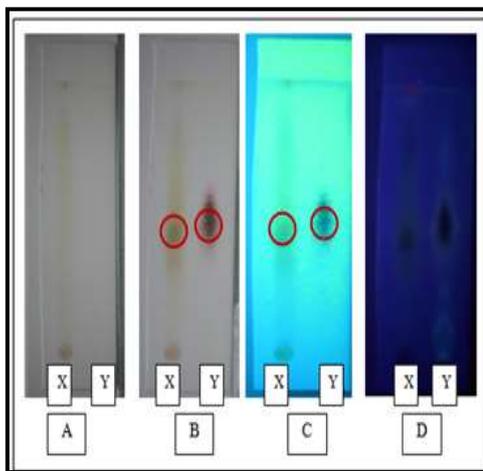
Gambar 2. Hasil uji KLT senyawa tanin

Keterangan: (A) tanin tanpa pereaksi FeCl_3 di sinar tampak, (B) tanin dengan pereaksi FeCl_3 di sinar tampak, (C) tanin dengan pereaksi FeCl_3 di sinar UV 254, (D) tanin dengan pereaksi FeCl_3 di sinar UV 366, (X) perbandingan, (Y) sampel.

Identifikasi selanjutnya yakni mengidentifikasi kandungan senyawa saponin di dalam ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn). Fase gerak yang digunakan yakni campuran antara pelarut kloroform : metanol (95:5) dengan total pelarut sebanyak 5 ml. Pereaksi penampak bercak warna yang digunakan adalah larutan *Liebermann-Burchard*. Pereaksi *Liebermann-Burchard* menurut teori akan memberikan bercak warna coklat sampai violet menandakan adanya saponin triterpenoid sedangkan jika menghasilkan warna biru atau biru kehijauan menunjukkan adanya saponin steroid (Jaya, 2010). Perbandingan yang digunakan pada uji analisis senyawa saponin ini adalah senyawa saponin 10 mg dalam 1 ml etanol.

Uji identifikasi senyawa saponin menghasilkan bercak warna

cokelat di bawah sinar tampak setelah disemprot dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* dan nilai Rf yang dihasilkan adalah 0,45. Hasil ini sesuai dengan senyawa pembanding yang menghasilkan bercak warna cokelat dengan nilai Rf 0,43. Dari hasil identifikasi ini dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanolik putri malu mengandung senyawa golongan saponin. Hasil uji ini dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Hasil uji KLT senyawa saponin

Keterangan: (A) saponin tanpa pereaksi *Liebermann-Burchard*, (B) saponin dengan pereaksi *Liebermann-Burchard*, (C) saponin dengan pereaksi *Liebermann-Burchard* di sinar UV 254, (D) saponin dengan pereaksi

Liebermann-Burchard di sinar UV 366, (X) pembanding, (Y) sampel.

Uji Pendahuluan Aktivitas Antijamur Metode Dilusi Cair

Ekstrak kental etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) dilakukan uji pendahuluan aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair untuk mengetahui apakah ekstrak etanolik tersebut memiliki aktivitas antijamur atau tidak. Pengujian aktivitas antijamur pada penelitian ini menggunakan jamur *Candida albicans* yang disuspensikan pada media cair BHI. Ekstrak kental yang telah diperoleh selanjutnya dibuat kadar konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 95% v/v. Masing-masing dari kadar konsentrasi ekstrak dilakukan replikasi pengujian antijamur sebanyak 3 kali.

Data yang dapat diperoleh dari uji antijamur dengan metode dilusi cair ini adalah nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan cara melihat kekeruhan pada semua kadar konsentrasi ekstrak di dalam tabung reaksi. Penentuan nilai KHM didasarkan pada kadar konsentrasi terendah dari ekstrak yang masih

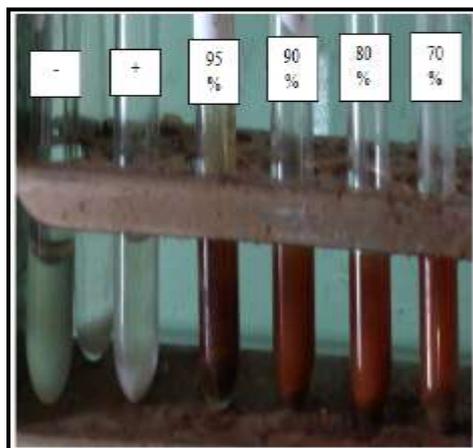
mampu untuk menghambat pertumbuhan jamur yang ditandai dengan kejernihan pada tabung reaksi.

Apabila nilai KHM yang telah diperoleh digoreskan pada media pertumbuhan agar, dan jamur masih bisa tumbuh berarti aktivitas dari ekstrak putri malu pada kadar tersebut dapat menghambat yang berarti didapat KHM. Tetapi jika tidak terdapat lagi pertumbuhan jamur pada media agar tersebut berarti aktivitas ekstrak putri malu dapat membunuh jamur dan diperoleh nilai KBM. Hasil aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair dapat dilihat pada Gambar 4.

Hasil pengamatan ini belum dapat dipastikan apakah kekeruhan yang terjadi pada tabung reaksi disebabkan oleh pertumbuhan jamur atau disebabkan oleh ekstrak kental tumbuhan putri malu itu sendiri. Hal ini dikarenakan ekstrak akhir dari tumbuhan putri malu sudah berwarna coklat-hitam pada tabung reaksi sebelum ditumbuhi jamur.

Berdasarkan Gambar 4 dapat dilihat hasil akhir dari uji dilusi cair ini terjadi kekeruhan pada semua

larutan uji dengan berbagai kadar konsentrasi ekstrak putri malu. Namun pada kontrol positif tidak terjadi kekeruhan, hal ini menandakan kontrol positif yang digunakan pada penelitian ini memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*.

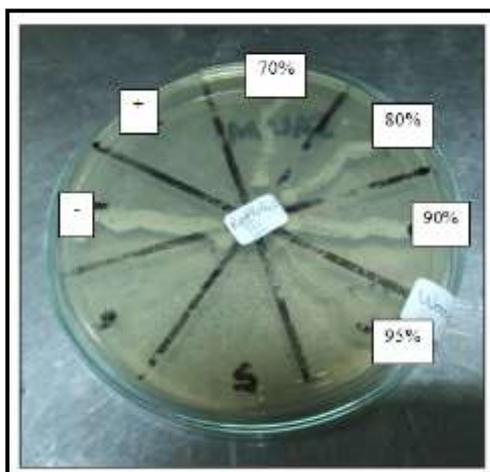


Gambar 4. Hasil uji antijamur metode dilusi cair

Keterangan: (-) suspensi jamur + BHI (+) suspensi jamur + ketokonazol 14 mg/ml.

Untuk memastikan hasil dari uji aktivitas antijamur dengan metode dilusi cair, dilakukan uji penegasan dengan cara menggoreskan dari setiap tabung reaksi ke media agar. Jika masih terdapat pertumbuhan jamur pada media berarti ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*

dan sebaliknya jika tidak terdapat pertumbuhan jamur pada media, berarti ekstrak etanolik putri malu memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Pengamatan hasil penggoresan pada media tumbuh dapat dilihat pada Gambar 5. Berdasarkan Gambar 5 dapat dilihat bahwa pada tiap penggoresan kadar ekstrak masih terdapat pertumbuhan jamur. Hal ini menandakan ekstrak kental putri malu (*Mimosa pudica* Linn) tidak memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*.



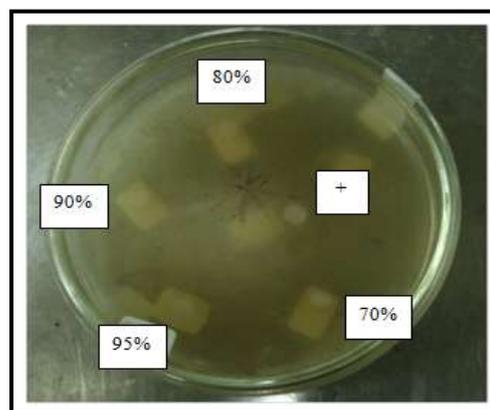
Gambar 5. Hasil penggoresan uji antijamur

Keterangan: (-) suspensi jamur + BHI, (+) suspensi jamur + ketokonazol 14 mg/ml

Uji Aktivitas Antijamur Metode Difusi Agar

Uji aktivitas antijamur selanjutnya diuji dengan metode

difusi agar yang telah diinokulasi dengan jamur *Candida albicans*. Pengujian metode difusi agar menggunakan kadar konsentrasi ekstrak 70%, 80%, 90% dan 95% v/v. Masing-masing dari setiap konsentrasi tersebut dilakukan replikasi pengujian sebanyak 3 kali. Data yang dapat diperoleh dari pengujian ini adalah nilai DDH (Diameter Daerah Hambat) yang menggambarkan kemampuan sampel yang diuji untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* di sekitar kertas cakram. Hasil pengujian ini disajikan pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil uji antijamur metode difusi agar

Berdasarkan Gambar 6 dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik tumbuhan putri malu pada konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 95% v/v tidak menunjukkan adanya

aktivitas antijamur karena masih terdapat pertumbuhan jamur *Candida albicans* di sekitar daerah kertas cakram.

Pembahasan

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas daya hambat putri malu terhadap *Candida albicans*. Langkah awal yang dilakukan dalam penelitian ini adalah menetapkan kebenaran sampel uji yang telah didapat untuk keperluan penelitian dengan menggunakan uji determinasi tanaman. Uji determinasi ini dilakukan untuk memberikan keaslian dari putri malu yang digunakan. Berdasarkan hasil uji determinasi tanaman yang telah dilakukan di Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, dapat diperoleh informasi bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar-benar tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn).

Selanjutnya dilakukan proses pembuatan serbuk tumbuhan putri malu untuk keperluan ekstraksi. Pembuatan serbuk ini dilakukan dengan cara tumbuhan putri malu yang telah diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dengan cara dicuci.

Pencucian bertujuan untuk membersihkan tanaman dari debu serta menghilangkan bahan pengganggu (Dirjen POM, 2000). Selanjutnya, tumbuhan putri malu dikeringkan menggunakan oven dengan suhu 60°C selama 4 hari. Pengeringan pada suhu 60°C dilakukan untuk menghindari kerusakan senyawa kimia yang terkandung dalam putri malu (Dirjen POM, 2000).

Setelah selesai melalui proses pengeringan, dilakukan proses pembuatan serbuk dengan cara diblender hingga halus. Hal ini berfungsi untuk memperluas kontak permukaan antara bahan pelarut dan sampel sehingga memaksimalkan kelarutan senyawa yang akan diisolasi ketika proses ekstraksi (Baraja, 2008).

Ekstraksi putri malu dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan pelarut etanol 70% selama 2 x 24 jam. Etanol digunakan sebagai pelarut karena etanol merupakan pelarut universal yang bersifat semipolar, sehingga dapat digunakan untuk menarik keluar senyawa yang memiliki tingkat

kepolaran dari rendah hingga tinggi di dalam sel (Wulandari, 2011).

Proses ekstraksi dilakukan menggunakan 1.037,80 gram serbuk putri malu yang direndam dalam 7 liter pelarut etanol 70% dengan perbandingan 1 : 7 b/v. Selama proses ekstraksi, dilakukan pengadukan secara berulang-ulang. Pengadukan dilakukan dengan tujuan agar memudahkan pelarut untuk melarutkan senyawa kimia yang ingin diisolasi di dalam sel tanaman (Baraja, 2008).

Ekstrak direndam selama 2 hari kemudian dilakukan pemekatan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Pemekatan dilakukan dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut dan meningkatkan konsentrasi larutan agar lebih tinggi (Voigh, 1995).

Analisis kualitatif ekstrak yang telah diperoleh menggunakan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pengujian KLT senyawa tanin dan saponin menggunakan pembanding senyawa asam galat 10 mg dalam 1 ml etanol untuk uji senyawa tanin dan saponin 10 mg dalam 1 ml etanol untuk uji senyawa saponin. Tujuan

penggunaan pembanding adalah untuk menegaskan adanya senyawa tanin dan saponin di dalam sampel uji berdasarkan nilai Rf yang sama antara sampel dengan pembanding yang telah diketahui. Rf merupakan hasil dari jarak migrasi analit atau sampel uji dari titik awal penotolan dibagi dengan jarak migrasi fase gerak setelah pengembangan atau elusi (Rohman, 2007).

Analisis senyawa tanin pada penelitian ini dilakukan dengan cara ekstrak kental dilarutkan dalam etanol kemudian ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄. Lempeng silika gel GF₂₅₄ menandakan bahwa lempeng mengandung silika yang terdiri dari pengikat *gypsum* dan indikator fluoresensi yang akan berfluoresensi pada sinar UV dengan panjang gelombang (λ) 254 nm.

Lempeng silika dikeluarkan dari bejana setelah rambatan fase gerak telah mencapai batas yang ditentukan. Bercak warna yang dihasilkan digunakan untuk menghitung nilai Rf sebagai parameter keberadaan suatu senyawa. Namun pada lempeng silika tidak terlihat bercak warna di

bawah sinar tampak sehingga perlu dilakukan reaksi penyemprotan untuk memperjelas penampakan bercak. Proses penyemprotan pada uji analisis senyawa tanin ini dilakukan dengan menggunakan reagen FeCl_3 . Sampel dikatakan positif mengandung senyawa tanin apabila terbentuk warna hijau kehitaman atau biru setelah penyemprotan. Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru pada sampel setelah ditambahkan reagen FeCl_3 karena gugus fenol pada tanin yang akan membentuk senyawa kompleks dengan ion Fe^{3+} (Harborne, 1996).

Bercak pada lempeng silika gel dapat dilihat secara visualisasi setelah proses penyemprotan (Gambar 2). Nilai R_f yang diperoleh dari uji senyawa tanin ini adalah 0,31 sedangkan nilai R_f dari senyawa pembanding adalah 0,32.

Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap uji analisis senyawa saponin di dalam ekstrak etanolik putri malu. Untuk senyawa pembanding digunakan larutan saponin 10 mg dalam 1 ml etanol. Fase gerak yang digunakan pada uji

analisis senyawa saponin ini adalah kloroform : metanol (95:5).

Senyawa sampel dan pembanding ditotolkan pada lempeng silika gel GF₂₅₄ yang kemudian dikembangkan dalam bejana yang berisi fase gerak. Hasil akhir pengembangan tidak tampak bercak warna di bawah sinar tampak sehingga dilakukan reaksi penyemprotan dengan *Liebermann-Burchard*.

Pada penelitian ini diperoleh warna coklat setelah penyemprotan pada sinar tampak (Gambar 3). Berdasarkan hasil tersebut dapat dikatakan pada sampel uji positif mengandung senyawa saponin triterpen. Setelah bercak warna terlihat jelas, kemudian dilakukan perhitungan nilai R_f dengan menggunakan alat bantu ukur. Nilai R_f yang diperoleh dari uji senyawa saponin ini adalah 0,45 sedangkan nilai R_f dari senyawa pembanding adalah 0,43.

Pratiwi (2008) berpendapat bahwa mekanisme aktivitas tanin sebagai antijamur yakni tanin bersifat astringen atau zat yang dapat mengkerutkan dinding sel atau

membran jamur sehingga mengganggu permeabilitas sel, akibatnya sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup yang mengakibatkan pertumbuhannya terhambat atau mati. Sedangkan senyawa saponin bersifat surfaktan yang berbentuk polar sehingga akan memecah lapisan lemak pada membran sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel, akhirnya sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2001).

Uji aktivitas antijamur ekstrak putri malu dilakukan terhadap *Candida albicans* dengan metode dilusi cair. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazol 14 mg dalam 1 ml aquadest. Mekanisme ketokonazol dalam mempengaruhi keberlangsungan hidup dari jamur patogen adalah dengan cara menghambat atau menginhibisi enzim sitokrom *Porphyrin* 450 (P-450) lanosterol 14- α -demethylase. Enzim ini mengubah lanosterol jadi ergosterol yang dibutuhkan dalam sistem membran sel jamur. Sehingga dengan terhambatnya pembentukan ergosterol pada jamur akan mengakibatkan rusaknya membran

sel jamur tersebut (Rex dan Arikan, 2003).

Uji aktivitas antijamur dilakukan pada konsentrasi ekstrak 70%, 80%, 90%, 95% v/v. Hasil yang didapat dari pengujian aktivitas antijamur pada kadar konsentrasi 70%, 80%, 90%, 95% v/v menunjukkan bahwa ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas terhadap *Candida albicans*. Hal ini dapat dibuktikan dengan masih adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada bekas goresan di media tumbuh SDA (Gambar 5).

Uji selanjutnya yang dilakukan pada penelitian ini adalah uji aktivitas antijamur dengan metode difusi agar. Uji ini dilakukan sebagai uji penegasan untuk membuktikan apakah hasil yang diperoleh antara uji dilusi cair dan difusi agar dari ekstrak etanolik putri malu tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Hasil uji difusi agar ini dapat dilihat pada Gambar 6.

Berdasarkan Gambar 6 dapat diketahui bahwa ekstrak etanolik putri malu pada konsentrasi 70%, 80%, 90% dan 95% v/v tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap

Candida albicans karena tidak terdapatnya zona bening di sekitar kertas cakram pada media agar. Daerah di sekitar kertas cakram yang berisi ketokonazol sebagai kontrol positif terdapat zona bening yang menandakan adanya aktivitas antijamur di sekitar daerah tersebut.

Tidak terdapatnya aktivitas hambatan pada uji antijamur dengan metode dilusi cair dan difusi agar, dikarenakan dinding sel jamur yang tebal. Dinding sel *Candida albicans* merupakan struktur berlapis yang terdiri dari mikrofibril yang mengandung khitin yang terdapat pada matriks yang terdiri dari polisakarida, protein, lipid, dan pigmen yang menutup skeletal. Mikrofibril pada dinding sel jamur terbentuk atas susunan dari rantai-rantai polisakarida yang saling bersilang membentuk anyaman. Jalinan ini kuat berikatan dengan matriks. Khitin sendiri memiliki bentuk yang padat dan bersifat tidak larut dalam air dan pelarut organik. Khitin juga memiliki sifat yang sukar untuk didegradasi karena dinding selnya dilapisi oleh protein dan lipid.

Berdasarkan sifat dari khitin inilah yang dapat menyebabkan ketidak efektifan dari ekstrak etanolik putri malu. Struktur dinding sel jamur yang banyak mengandung khitin akan mengakibatkan dinding selnya sukar untuk ditembus oleh senyawa-senyawa polar dari ekstrak etanolik putri malu yang memiliki aktivitas antijamur (Firdianita, 2007).

Hal lain yang menyebabkan tidak terdapatnya zona hambatan pada uji aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) terhadap *Candida albicans* juga dikarenakan ketidak efektifan selama proses penarikan zat aktif di dalam sel tanaman. Pada penelitian ini, proses ekstraksi hanya dilakukan selama 48 jam menggunakan etanol 70% tanpa remaserasi. Proses remaserasi tidak dilakukan karena warna cairan penyari atau pelarut sudah berwarna cokelat kehitaman pada hari kedua. Warna cokelat kehitaman pada rendaman putri malu ini menandakan sudah terjadinya proses penarikan senyawa aktif pada ekstrak. Warna cokelat kehitaman yang pekat juga menandakan bahwa telah terjadinya kejenuhan atau

keseimbangan konsentrasi antara zat aktif di dalam dan di luar sel sehingga proses ekstraksi dapat dinyatakan cukup (Voigh, 1995).

Remaserasi yang tidak dilakukan mengakibatkan kurangnya kadar senyawa aktif seperti senyawa tanin dan saponin di dalam ekstrak kental yang telah diperoleh. Kurangnya kadar zat aktif ini dapat mengakibatkan tidak tercapainya potensi terapi yang maksimal di dalam ekstrak. Lamanya suatu proses ekstraksi minimal dilakukan selama 5 hari yang kemudian dilanjutkan dengan prosedur remaserasi selama 2 hari agar hasil lebih optimal (Depkes RI, 1986). Menurut Dirjen POM (2000) menyatakan proses ekstraksi suatu tanaman harus dilakukan secara berulang agar bisa mendapatkan kadar zat aktif yang maksimal sehingga bisa dicapai potensi terapi yang maksimal.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan dari hasil penelitian yang telah diperoleh dari ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) maka dapat disimpulkan bahwa: Ekstrak etanolik

tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) memiliki kandungan senyawa golongan tanin dan saponin. Ekstrak etanolik tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) tidak memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*. Ekstrak etanolik tumbuhan putri malu (*Mimosa pudica* Linn) tidak memiliki nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap *Candida albicans*.

Saran

Perlu dilakukan penelitian aktivitas antijamur ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) terhadap jamur selain *Candida albicans*. Perlu dilakukan uji isolasi dan pemurnian kandungan senyawa yang terdapat di dalam ekstrak etanolik putri malu (*Mimosa pudica* Linn) untuk mendapatkan potensi terapi yang maksimal. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek farmakologis lain seperti efek antipiretik dan hipoglikemik dari ekstrak putri malu (*Mimosa pudica* Linn).

DAFTAR PUSTAKA

- Baraja, M., 2008. Uji Toksisitas Ekstrak Daun *Ficus elastica* Nois ex Blume Terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis, *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta: Surakarta.
- Dalimartha, S., 2008. 1001 Resep Herbal. Jakarta: Penebar Swadaya, Hal. 56 - 57.
- Damayanti, L., 2001. Uji Aktivitas Antibakteri Tumbuhan Patikan Kebo (*Euphorbia hirta* L.) Terhadap *Stapylococcus aureus* ATCC 25923 Dan *Escherichia coli* ATCC 25922 Serta Profil Kromatografi Lapis Tipisnya. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Depkes RI., 1986. Sediaan Galenik. Jakarta: Ditjen POM, Hal 12 - 28.
- Ditjen POM., 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Firdianita, Hanggie., 2007. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Air Daun Binahong (*Anredera Scandens* [L.] Moq) Terhadap *Candida albicans* dan *Tripchophyton mentagrophytes*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada.
- Harborne, J. B., 1996. Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. Terbitan ke-2, a.b. Kosasih Padmawati. Penerbit ITB: Bandung.
- Jaya, A. M., 2010. Isolasi dan Uji Efektivitas Antibakteri Senyawa Saponin Dari Akar Putri Malu (*Mimosa pudica*), *Skripsi*. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim.
- Pratiwi, sylvia. T., 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Erlangga.
- Rex, J. H., Arikan, S., 2003. *Antifungal agents*. di dalam : Murray PR, Baron E.J, Jorgensen J.H, Pfaller M.A, Tenover F.C, Tenover K.C, ed. *Manual of Clinical Microbiology*. Edisi ke 8. Washington DC : ASM Press : 1860 - 1.
- Rohman, Abdul., 2007. Kimia Analisis Farmasi. Yogyakarta: Pustaka Pelajar, 353 - 368.
- Samidjo, Jangkung., 2003. Parasitologi Medik (Mikologi). Bandung: Diktat Kuliah, Politeknik Kesehatan Bandung Jurusan Analis Kesehatan Bandung.
- Siswandono dan Soekardjo, B., 1995. Kimia Medisinal. Surabaya: Universitas Air Langga Press.
- Sugianitri, N. K., 2011. Ekstrak Biji Buah Pinang (*Areca catechu* L.) Dapat Menghambat Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* secara In Vitro pada Resin Akrilik Heat Cured. Program Pascasarjana Program Studi Ilmu Biomedik Universitas Udayana: Bali.
- Tamilarasi, T., dan Ananthi, T., 2012. *Phytochemical Analysis and Anti Microbial of Mimosa pudica* Linn. INDIA: Department of Biochemistry, S.T.E.T womens College, Vol. 2, 72 - 74.

Voight, R., 1995. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, (Soendani N. S., penerjemah). Yogyakarta: UGM Press.

Wulandari, I., 2011. Teknologi Ekstraksi Dengan Metode Maserasi dalam Etanol 70% pada Daun Kumis Kucing (*Orthosiphon stamineus* Benth) di Balai Besar Penelitian dan Pengembangan Tanaman Obat dan Obat Tradisional (B2P2TO-OT) Tawangmangu. Skripsi, Fakultas Pertanian Universitas Sebelas Maret: solo.