Fraksinasi dan uji aktivitas ekstrak akar *Piper sarmentosum* Roxb. ex Hunter terhadap jamur *Candida albicans*

Fractionation and activity assay of the root extract of *Piper sarmentosum* Roxb. ex Hunter against *Candida albicans*

Hartiwi Diastuti ¹⁾, Sadijah Achmad ²⁾ dan Enny Ratnaningsih ²⁾.

¹⁾ Jurusan Kimia, PS MIPA UNSOED, Purwokerto

²⁾ Jurusan Kimia, F MIPA, Institut Teknologi Bandung

Abstrak

Piper sarmentosum Roxb. ex Hunter (sirih duduk) telah lama digunakan masyarakat sebagai obat tradisional, di antaranya untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur khususnya di daerah telapak kaki dan vagina. Penelitian senyawa bioaktif dari akar *P. sarmentosum* belum pernah dilakukan sehingga penelitian ini bertujuan untuk memfraksinasi dan menguji aktivitas ekstrak akar *P. sarmentosum* terhadap jamur *Candida albicans*.

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan beberapa pelarut organik di antaranya metanol, etil asetat, kloroform, benzena, dan *n*-heksana. Uji bioaktivitas dilakukan terhadap jamur *C. albicans*. Ekstrak aktif selanjutnya difraksinasi dengan cara kromatografi kolom.

Dari hasil penelitian diketahui bahwa fraksi etil asetat dari ekstrak metanol akar *P. sarmentosum* memiliki aktivitas terhadap jamur *C. albicans*. Selanjutnya uji fitokimia menunjukkan bahwa fraksi aktif dari ekstrak metanol akar sirih duduk kemungkinan mengandung alkaloid.

Kata kunci : *Piper sarmentosum*, uji aktivitas, *Candida albicans*.

Abstract

Piper sarmentosum Roxb. ex Hunter ("sirih duduk") has long been used as a traditional medicine against fungoid diseases, especially at vagina and foot-sole. The investigation of the bioactive compounds of *P. sarmentosum* roots has not infections been carried yet. This research was then aimed to fractinate and to examine the antifungus activity of the extract of *P. sarmentosum* roots.

The extraction was performed by using organic solvents such as methanol, ethyl acetate, chloroform, benzene, and *n*-hexane. The bioactivity tests were performed against *C. albicans*. The active extracts were then fractionated by coloumn chromatography.

The result showed that the ethyl acetate fraction of methanol extract of *P. sarmentosum* roots have an antifungus activity against *C. albicans*. Phytochemical study showed that the active fractions of the methanol extracts of *P. sarmentosum* roots contained alkaloid.

Key words : *Piper sarmentosum*, activity test, *Candida albicans*.

Pendahuluan

Indonesia merupakan negara tropis yang kaya akan keanekaragaman jenis tumbuhan.

Di wilayah hutan tropis Indonesia terdapat sekitar 30.000 spesies tumbuhan, dan 1000 spesies diantaranya dinyatakan sebagai

tumbuhan yang dapat digunakan sebagai obat. Akan tetapi, hanya sekitar 350 spesies tumbuhan yang benar-benar telah digunakan sebagai bahan baku obat oleh masyarakat dan industri jamu dan obat Indonesia (Muhlisah, 2000). Hal ini mengisyaratkan masih terbukanya peluang usaha penggalian dan pemanfaatan tumbuhan obat untuk kesehatan dan kesejahteraan masyarakat.

Piper sarmentosum Roxb. ex Hunter merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia dari famili *Piperaceae* yang sekarang belum banyak diteliti. Di beberapa bagian negara di Asia, tumbuhan ini telah dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat obat. Air rebusan tumbuhan tersebut dapat digunakan untuk mengobati sakit gigi, asma, batuk, nyeri tulang dan infeksi jamur (Kasahara, 1995). Pada mulanya alasan penggunaan tumbuhan ini hanya berdasarkan pengalaman secara turun-temurun. Setelah dilakukan penelitian, dilaporkan bahwa ekstrak tumbuhan *P. sarmentosum* memiliki aktivitas antimikroba (Masuda, 1991), efek hipoglikemik (Peungvicha, 1998), menghilangkan nyeri otot (Ridtidid, 1998) dan anti-malaria (Rahman, 1999).

Sampai saat ini, kandungan kimia metabolit sekunder tumbuhan *P. sarmentosum* belum banyak diketahui. Pada tahun 1991, Masuda melaporkan bahwa senyawa antimikroba yang ditemukan dalam daun *P. sarmentosum* adalah dari golongan fenil propenoid, walaupun masih ada kemungkinan ditemukannya senyawa lain yang juga memiliki aktivitas antimikroba pada daun atau bagian lain dari tumbuhan ini.

Berdasarkan temuan adanya senyawa antimikroba pada daun *P. sarmentosum*, maka dilakukan penelitian terhadap akar tumbuhan *P. sarmentosum* untuk mengetahui kemungkinan adanya senyawa kimia yang memiliki aktivitas antijamur khususnya terhadap jamur *C. albicans*, Heyne (1987) mengemukakan bahwa akar tumbuhan *P. sarmentosum* juga telah digunakan masyarakat sebagai obat tradisional, diantaranya untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur, khususnya infeksi pada vagina dan telapak kaki.

Oleh karena itu, penelitian ini dimaksudkan sebagai langkah awal bagi pengembangan tumbuhan *P. sarmentosum* yang tidak

hanya berfungsi sebagai tumbuhan obat tradisional, tetapi juga berkembang menjadi tumbuhan obat modern, karena secara ilmiah *P. sarmentosum* dapat dibuktikan mengandung senyawa bioaktif yang berkhasiat sebagai obat dan penggunaannya dapat dipertanggungjawabkan secara medis.

Metodologi

Bahan

Akar *P. sarmentosum* yang diambil dari daerah Arcamanik Bandung; pelarut organik seperti metanol; etil asetat; kloroform; benzena dan n-heksana; Silika gel 60 GF₂₅₄; media pertumbuhan jamur, serta jamur *C. albicans*.

Alat

Rotary evaporator, kolom kromatografi, dan pipet *Eppendorf*.

Jalannya penelitian

Perkolasi dan ekstraksi akar *P. sarmentosum*.

Akar *P. sarmentosum* terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang menempel, di keringkan di tempat terbuka, kemudian digiling halus.

Serbuk kering yang diperoleh (460 g) diperkolasi dengan metanol selama dua hari (48 jam) pada suhu kamar. Untuk mendapatkan hasil maksimum, perkolasi dilakukan berulang-ulang sampai perkolat yang dihasilkan tidak berwarna lagi. Setiap hasil perkolasi yang didapat digabung, kemudian pelarutnya diuapkan dengan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak berupa cairan kental berwarna coklat (9,7 g).

Ekstrak metanol selanjutnya diekstraksi berturut-turut dengan n-heksana, benzena, kloroform, dan etil asetat. Untuk mendapatkan jumlah ekstrak yang maksimum, ekstraksi dengan setiap pelarut dilakukan berulang-ulang. Ekstraksi dengan pelarut bertingkat ini dimaksudkan untuk mendapatkan atau memisahkan ekstrak tumbuhan berdasarkan polaritas senyawanya.

Masing-masing ekstrak yang terlarut dalam n-heksana, benzena, kloroform, etil asetat dan metanol diuapkan pelarutnya, selanjutnya diuji aktivitasnya terhadap *C. albicans*. Ekstrak tumbuhan dari pelarut tertentu yang memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* digunakan untuk tahap penelitian berikutnya. Jumlah ekstrak yang digunakan adalah 10 µl dengan konsentrasi 1 □mg/ml.

Uji aktivitas terhadap *C. albicans*.

Sebelum dilakukan uji aktivitas terhadap *C. albicans*, perlu dibuat larutan media pertumbuhan mikroba. Media yang digunakan adalah media LB

(Luria-Bertani) cair dan media LB (Luria-Bertani) padat.

Media LB cair dibuat dengan melarutkan 1,0 g *bacto-trytone*, 0,5 g *bacto-yeast extract* dan 1,0 g NaCl ke dalam 100 ml akuades. Larutan kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 250°F dan tekanan 15 psi selama 30 menit. Pembuatan media LB padat hampir sama dengan pembuatan LB cair, hanya saja perlu penambahan *bacto-agar* sebanyak 1,5 % (b/v).

Uji aktivitas terhadap *C. albicans* dilakukan dengan metode difusi agar menggunakan *paper disc*.

Prosedur uji aktivitas adalah sebagai berikut. Jamur *C. albicans* ditumbuhkan dalam media LB cair selama 48 jam pada suhu 37 °C. Sebanyak 200 µl kultur *C. albicans* cair disebarakan secara merata di atas media LB padat. Selanjutnya, *paper disc* berukuran 6 mm diletakkan di atas media padat tersebut dan pada *paper disc* diteteskan 10 µl fraksi ekstrak tumbuhan. Kultur diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C. Selanjutnya daerah hambat (daerah bening di sekitar *paper disc*) diukur untuk setiap fraksi ekstrak tumbuhan. Sebagai kontrol positif digunakan tetrasiklin dengan konsentrasi 0,10 mg/ml dan untuk kontrol negatif digunakan pelarut dari fraksi ekstrak tumbuhan.

Fraksinasi dengan kromatografi kolom

Ekstrak akar *P. sarmentosum* yang memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* difraksinasi dengan kromatografi kolom silika gel dengan menggunakan eluen secara bertingkat; yaitu berturut-turut dengan *n*-heksana; *n*-heksana : benzena (1:1); benzena; benzena : kloroform (1:1); kloroform; kloroform : etil asetat (1:1), etil asetat, etil asetat : metanol (1:1) dan metanol.

Setiap 50 ml eluat atau fraksi yang keluar ditampung dalam botol, kemudian masing-masing fraksi diuapkan sampai larutan tinggal 5 ml. Setiap fraksi dianalisis dengan kromatografi lapis tipis, kemudian noda yang muncul dilihat dengan lampu UV. Fraksi yang menunjukkan noda dengan warna dan nilai Rf yang sama digabung. Selanjutnya, setiap fraksi gabungan diuji aktivitasnya. Konsentrasi setiap fraksi yang digunakan untuk uji aktivitas adalah 1 mg/ml sebanyak 10 µl. Fraksi yang memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* digunakan untuk tahap penelitian berikutnya.

Fraksi aktif yang diperoleh, karena masih merupakan senyawa campuran, difraksinasi kembali dengan kromatografi kolom dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (1:2). Setiap 10 ml fraksi ditampung dalam botol, kemudian diuapkan sampai kira-kira tinggal 3 ml, dan masing-masing dianalisis dengan kromatografi lapis tipis. Setiap fraksi yang menunjukkan noda dengan warna dan nilai Rf yang

sama digabung. Selanjutnya, setiap fraksi gabungan diuji aktivitasnya terhadap *C. albicans*.

Uji senyawa alkaloid

Sampel sebanyak 1,0 ml ditambah dengan 2-3 tetes pereaksi Dragendorff, bila bereaksi positif akan menghasilkan endapan jingga. Selanjutnya juga dilakukan uji terhadap pereaksi Mayer dengan menambahkan 2-3 tetes pereaksi Mayer ke dalam 1,0 ml sampel, bila bereaksi positif akan menghasilkan endapan kuning.

Hasil Dan Pembahasan

Ekstraksi dan uji aktivitas terhadap *C. albicans*

Ekstraksi hasil perkolasi dengan sistem pelarut yang ditingkatkan kepolarannya yaitu berturut-turut *n*-heksana; benzena; kloroform; dan etil asetat diperoleh ekstrak *n*-heksana 0,4 g; ekstrak benzena 1,1 g; ekstrak kloroform 1,8 g; ekstrak etil asetat 1,2 g; dan ekstrak metanol 3,4 g.

Masing-masing ekstrak sebanyak 10 µl dengan konsentrasi 1,0 mg/ml diuji aktivitasnya terhadap *C. albicans*. Sebagai kontrol positif digunakan tetrasiklin dan untuk kontrol negatif digunakan pelarut dari masing-masing ekstrak. Hasil uji aktivitas untuk setiap ekstrak disajikan dalam tabel I.

Tabel I. Hasil uji aktivitas ekstrak akar *P. sarmentosum* terhadap *C. albicans*

Sampel / kontrol	Diameter hambat (mm)
Tetrasiklin	10,40 ± 0,49
Etanol	7,00 ± 0,63
Ekstrak <i>n</i> -heksana	6,60 ± 0,49
<i>n</i> -heksana	7,20 ± 0,40
Ekstrak benzena	9,20 ± 0,74
Benzena	7,60 ± 0,49
Ekstrak kloroform	8,00 ± 0,63
Kloroform	7,80 ± 0,75
Ekstrak etil asetat	7,00 ± 0,49
Etil asetat	7,20 ± 0,40
Ekstrak metanol	11,0 ± 0,89
Metanol	7,40 ± 0,40

Dari tabel I diketahui bahwa ekstrak metanol dan ekstrak benzena memiliki aktivitas terhadap *C. albicans*. Hal ini ditunjukkan dengan daerah hambat yang berbeda nyata masing-masing antara ekstrak metanol dan ekstrak

benzena dengan pelarutnya, yaitu lebih besarnya daerah hambat dari ekstrak metanol dan ekstrak benzen terhadap pertumbuhan ketiga bakteri dibandingkan dengan kontrol negatifnya yaitu metanol dan benzen.

Pada penelitian ini, ekstrak metanol digunakan untuk tahap penelitian berikutnya karena selain jumlah ekstrak metanol yang diperoleh lebih besar (3,4 g) dari ekstrak benzen (1,1 g), ekstrak metanol juga memiliki aktivitas yang relatif jauh lebih besar dari ekstrak benzena.

Fraksinasi dan uji aktivitas terhadap *C. albicans*

Ekstrak metanol (3,0 g) yang diketahui memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* difraksinasi melalui kromatografi kolom silika gel berturut-turut dengan eluen yang ditingkatkan kepolarannya, yaitu *n*-heksana, *n*-heksana : benzena (1:1), benzena, benzena : kloroform (1:1), kloroform, kloroform : etil asetat (1:1), etil asetat, etil asetat : metanol (1:1) dan metanol. Fraksinasi dengan menggunakan eluen yang ditingkatkan kepolarannya dimaksudkan agar senyawa organik yang terkandung dalam ekstrak metanol dapat terpisah dengan baik berdasarkan kepolarannya.

Hasil fraksinasi dengan kromatografi kolom di atas menghasilkan 7 fraksi utama. Ketujuh fraksi utama selanjutnya diuji aktivitasnya. Jumlah masing-masing fraksi yang digunakan dalam uji ini adalah 10 µl dengan konsentrasi 1 mg/ml.

Hasil pengamatan daerah hambat tujuh fraksi utama terhadap *C. albicans* diketahui bahwa fraksi 6 menunjukkan aktivitas terhadap *C. albicans*, (Tabel II).

Fraksi 6 (224 mg) selanjutnya difraksinasi kembali dengan kromatografi kolom dengan menggunakan eluen kloroform : metanol (1:2) dan diperoleh 5 fraksi utama. Kelima fraksi tersebut selanjutnya diuji aktivitasnya. Jumlah fraksi yang digunakan dalam uji ini adalah 10 µl dengan konsentrasi 0,10 mg/ml. Hasil uji aktivitas 5 fraksi terhadap *C. albicans* (Tabel III).

Dari Tabel III diketahui bahwa besarnya daerah hambat fraksi 6.3 terhadap *C. albicans* lebih besar dari kontrol negatifnya yaitu metanol. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi 6.3 memiliki aktivitas terhadap *C. albicans*.

Uji senyawa alkaloid

Fraksi 6.3 yang diketahui memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* diuji kandungan alkaloidnya dengan pereaksi Dragendorff dan pereaksi Mayer (Cannel, 1998). Pengujian terhadap fraksi 6.3 menunjukkan hasil yang positif terhadap pereaksi Dragendorff, yaitu dengan terbentuknya endapan berwarna jingga. Juga terhadap pereaksi Mayer, yaitu terbentuknya endapan kuning. Hal ini berarti fraksi 6.3 kemungkinan mengandung alkaloid.

Tabel II. Hasil uji aktivitas fraksi ekstrak metanolik akar *P. sarmentosum* terhadap *C. albicans*.

Sampel / kontrol	Diameter hambat (mm)
Tetrasiklin	10,60 ± 1,02
Etanol	6,80 ± 0,49
Fraksi 1	7,60 ± 0,49
Fraksi 2	7,60 ± 0,80
Fraksi 3	7,40 ± 0,49
Fraksi 4	7,40 ± 0,49
Fraksi 5	8,80 ± 0,40
Fraksi 6	11,80 ± 1,16
Fraksi 7	7,60 ± 0,80
Metanol	7,80 ± 0,40

Tabel III. Hasil uji aktivitas fraksi 6 ekstrak metanolik akar *P. sarmentosum* terhadap *C. albicans*

Sampel / kontrol	Diameter hambat (mm)
Tetrasiklin	10,80 ± 0,79
Etanol	7,40 ± 0,49
Fraksi 6.1	7,40 ± 0,49
Fraksi 6.2	7,40 ± 0,49
Fraksi 6.3	12,00 ± 0,63
Fraksi 6.4	7,40 ± 0,49
Fraksi 6.5	7,60 ± 0,49
Metanol	7,40 ± 0,49

Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat diambil kesimpulan sebagai berikut.

Fraksi etil asetat dari ekstrak metanol akar *P. sarmentosum* memiliki aktivitas terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 1,0 mg/ml. dan kemungkinan mengandung alkaloid.

Daftar Pustaka

- Cannel, R.J.P. 1998. *Natural Product Isolation*. Humana Press. Inc. Totowa. New York.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia*. Jilid II. Badan Litbang Kehutanan. Jakarta. 20-23.
- Kasahara. 1995. *Medical Herb Index in Indonesia*. Edisi 2. Esai Indonesia. Jakarta.
- Masuda, T. 1991. Antimicrobial Phenylpropanoid from *Piper sarmentosum*. *Phytochemistry*. 30 (10): 3227-3228.
- Muhlisah, F. 2000. *Tanaman Obat Keluarga*. Penebar Swadaya. Jakarta. 1-3.
- Peungvicha, P. 1998. Hypoglycemic Effect of The Water Extract of *Piper sarmentosum* in Rats. *J. of Ethnopharmacology*. 60 : 27-32.
- Rahman, A.N. 1999. Antimalarial Activity of Extract of Malaysia Medical Plant. *J. of Ethnopharmacology*. 64 : 249-259.
- Ridtidid, W. 1998. Neuromuscular Blocking Activity of Methanol Extract of *Piper sarmentosum* Leaves in Rat Phrenic Nerve Hemidiaphragm Prepadation. *J. of Ethnopharmacology*. 61: 135-142.