

AKTIVITAS KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH HIJAU DAN BUAH ASAM JAWA TERHADAP *Candida albicans* SECARA MIKRODILUSI

¹Sherlyn Maulita Hidayat, ¹Cikra Ikhda Nur Hamidah Safitri

¹Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo, Jl. Ki Hajar Dewantara 200, Sidoarjo

Email: sherlynmaulita@gmail.com

Abstrak

Daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn) merupakan tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai kesehatan tubuh salah satunya adalah antijamur. Kandungan antijamur dari daun sirih hijau dan buah asam jawa dihasilkan oleh senyawa - senyawa kimia saponin, flavonoid, alkaloid dan tanin. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penelitian ini menggunakan metode eksperimental yang terdiri dari ekstraksi maserasi, skrining fitokimia dan uji aktivitas antijamur secara mikrodilusi. Kelompok uji terdiri dari ekstrak daun sirih hijau, ekstrak buah asam jawa dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dengan buah asam jawa (1:1). Data dianalisis secara deskriptif (KHM) dan (KBM). Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau, ekstrak buah asam jawa dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) memiliki KHM berturut – turut adalah $1,25 \pm 0,0\%$; $1,25 \pm 0,0\%$ dan $0,62 \pm 0,0\%$. Nilai KBM kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) memiliki KBM adalah $20 \pm 0,0\%$. Kesimpulan pada penelitian ini adalah kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) memiliki efek antijamur yang lebih baik dibandingkan ekstrak tunggal. Hal ini diduga terjadi interaksi secara sinergis.

Kata Kunci : Buah Asam Jawa, *Candida albicans*, Daun Sirih Hijau, Ekstrak, Mikrodilusi

1. PENDAHULUAN

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang disebabkan oleh jamur genus *Candida*. Spesies terbanyak penyebab kandidiasis adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan flora normal yang hidup di rongga mulut, saluran pencernaan, dan vagina yang bersifat komensal namun dapat mengakibatkan sifat komensal kandida ini berubah menjadi patogen (Hakim & Ramadhian, 2015). Infeksi *Candida albicans* dapat diterapi dengan penggunaan obat atau sediaan yang fungsinya sebagai anti fungi yang efektif untuk pengobatan mikosis. Kenyataan menunjukkan bahwa jenis antifungi relatif lebih sedikit dan sering menimbulkan efek samping yang cukup berat dan harganya mahal, dengan demikian diperlukan penggalian obat alternatif dari tanaman obat tradisional yang secara empiris (Rahajeng dan Annisaul, 2014).

Daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) merupakan tanaman obat yang dapat dimanfaatkan sebagai kesehatan tubuh. Bagian tanaman sirih yang sering digunakan untuk pengobatan adalah daun. Kandungan antijamur dari daun sirih hijau sebenarnya dihasilkan dari senyawa kimia saponin, flavonoid, alkaloid, tanin dan minyak atsiri. Daun sirih hijau mengandung tanin (0.1-1.3%), alkaloid (Pradhan *et al.*, 2013). Hasil penelitian Chairunnisa (2015), menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih (*Piper betle* Linn) dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada semua konsentrasi yang di ujikan. Dari hasil ini diperoleh nilai kadar hambat minimal (KHM) adalah 10%. Berdasarkan penelitian Yuniarni dan Lukmayani (2016) ekstrak daun sirih hijau memiliki aktivitas anti jamur pada konsentrasi 25 % dengan daya hambat 27,43mm. Penelitian yang dilakukan oleh Mudatsir (2007) Kemampuan terbentuknya zona hambat lebih besar pada konsentrasi 40% dibandingkan dengan perlakuan yang menggunakan antibiotik nistatin.

Tumbuhan lain yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional adalah asam jawa, merupakan salah satu tumbuhan yang banyak dibudidayakan di negara tropis termasuk di Indonesia. Tumbuhan ini biasanya dimanfaatkan sebagai bahan pengobatan tradisional. Bagian tumbuhan *Tamarindus indica* Linn yang biasa digunakan untuk pengobatan antara lain bagian daun, kulit batang, daging buah, dan juga bijinya (Faradiba *et al.*, 2016). Penelitian Susanti (2009) menyatakan bahwa buah asam jawa mengandung beberapa kandungan kimia antara lain

flavonoid, saponin, alkaloid, steroid, antosian, tanin, asam askorbat, β -karoten, komponen volatil. Berdasarkan penelitian Fakhurrizi *et al.*, (2016) ekstrak daun asam jawa memiliki aktivitas anti jamur pada konsentrasi 10% sampai 100%, namun masih adanya koloni yang tumbuh pada konsentrasi 100%. Penelitian Maharani (2015) menyimpulkan bahwa ekstrak buah asam jawa dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan konsentrasi 40% memiliki kadar hambat minimal tertinggi.

Hasil penelitian sebelumnya oleh Miksusanti *et al.*, (2011) campuran ekstrak kulit manggis dan kayu secang memiliki aktivitas antibakteri lebih besar jika dibandingkan dengan ekstrak tunggalnya. Terapi kombinasi tersebut sering digunakan untuk terapi infeksi. Interaksi kombinasi antimikroba dapat berupa antagonis, aditif atau sinergis (Ayoediji *et al.*, 2011). Berdasarkan uraian tersebut maka dilakukan penelitian mengenai kombinasi atau menggabungkan ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan ekstrak buah asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan diharapkan kombinasi kedua ekstrak tanaman ini dapat meningkatkan efek antijamur.

2. METODE PENELITIAN

2.1. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan November 2019 sampai dengan Februari 2020

2.2. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah cawan petri, rotary evaporator, kertas cakram, inkubator, mikroplate, cawan porselen, cawan petri, beaker glass, Laminar Air Flow (LAF), gelas ukur, pembakar spiritus, kertas perkamen, *autoclave*, oven, pipet tetes, jarum ose, tabung reaksi, handscone, masker, batang pengaduk, timbangan analitik, penjepit kayu, erlenmeyer, blender, pinset, corong kaca, kertas saring, aluminium foil.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih hijau, buah asam jawa, *ketconazole* murni pro analisa, *Potato Dextrose Agar* (PDA), *Nutrient Broth* (NB), Aquadest, Etanol 96%.

Mikroba uji yang digunakan adalah jamur *Candida albicans* yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo.

2.3. Pengambilan Sampel

2.3.1. Prosedur pengumpulan data

a. Determinasi Tanaman

Tahap pertama adalah proses determinasi (pengambilan) tanaman daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* Linn.) bertujuan untuk menetapkan kebenaran identitas tanaman, dengan tujuan agar kesalahan dalam pengumpulan bahan yang diteliti dapat dihindari.

b. Persiapan Simplisia

Bahan baku tanaman yang digunakan dibeli dari penjual tanaman di daerah Krian Kabupaten Sidoarjo. Dilakukan sortasi basah untuk memisahkan simplisia dari barang-barang asing seperti tanah, ulat, dan daun-daun yang rusak. Selanjutnya pencucian dilakukan dengan air mengalir hingga bersih kemudian di angin-anginkan. Lalu perajangan dilakukan agar memudahkan pengeringan dan penyerbukan simplisia. Daun sirih dan buah asam jawa dipotong kecil-kecil dengan menggunakan pisau. Dikeringkan di bawah sinar matahari dengan di tutup menggunakan kain hitam atau dengan menggunakan oven. Benda-benda asing yang masih tertinggal dipisahkan. Simplisia kering dilakukan menggunakan blender hingga menjadi serbuk.

c. Proses Pembuatan Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan metode ekstraksi maserasi yaitu metode yang paling sederhana, menggunakan pelarut etanol 96% dengan pengadukan pada temperatur ruangan, berikut tahapan- tahapan ekstraksi :

- 1) Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) dan Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn) yang sudah menjadi serbuk setelah diblender, kemudian di ayak dan di timbang, lalu dilakukan maserasi dengan pelarut etanol 96% dalam wadah tertutup rapat selama 3 hari (dilakukan pengadukan setiap hari).
- 2) Setelah dilakukan proses maserasi didapatkan filtrat dengan cara penyaringan menggunakan kertas saring yang ditampung dalam wadah kaca kemudian hasil filtrat dipekatkan sampai memperoleh ekstrak yang kental dari serbuk Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) dan Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn).

d. Uji Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan agar mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat dalam ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan buah asam jawa (*Tamarindus Indica* Linn)

1) Flavonoid

Masukkan masing – masing ekstrak sebanyak \pm 1ml dengan 3 ml etanol 96% lalu kocok, panaskan, dan kocok lagi, kemudian saring. Kemudian tambahkan hasil filtrat dengan Mg 0.1 g dan 2 tetes HCl pekat. Terbentuknya warna merah pada lapisan etanol menunjukkan adanya flavonoid (Harborne, 1987)

2) Alkaloid

Masukkan masing – masing ekstrak sebanyak \pm 1ml dengan 1 ml amoniak kedalam tabung reaksi, kemudian panaskan diatas penangas air, kocok dan di saring. Hasil filtrat di bagi menjadi tiga bagian ke dalam tabung reaksi dan tambahkan masing-masing tiga tetes asam sulfat 2N, kocok dan diamkan beberapa menit hingga terpisah. Uji hasil teratas dari masing-masing filtrat dengan pereaksi wagner dan dragendrof. Terbentuknya endapan jingga dan coklat pada masing-masing hasil uji menunjukkan adanya alkaloid. (Harborne, 1987)

3) Saponin

Didihkan masing – masing ekstrak Ekstrak \pm 1ml dengan 10 ml air dalam penangas air. Filtrat, kocok, dan di diamkan selama 15 menit. Terbentuknya busa yang stabil (bertahan lama) maka positif mengandung saponin (Harborne, 1987).

4) Tannin

Ekstrak sebanyak \pm 1 mL dididihkan dengan 20 ml air diatas penangas air, lalu disaring. Filtrat yang diperoleh, ditambahkan beberapa tetes (2-3 tetes) FeCl₃ 1%. Terbentuknya warna coklat kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Harborne, 1987).

e. Pembuatan Konsentrasi

Konsentrasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan ekstrak buah asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) sebagai larutan uji adalah masing – masing 40% : 40% = 40 gram/ 100 ml = 4 gram/ 10 ml. Campurkan 4 gram ekstrak kental daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dengan 10 ml aquadest. Campurkan 4 gram ekstrak kental asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) dengan 10 ml aquadest. Konsentrasi mengacu pada penelitian Mudatsir (2007) dan Maharani (2015).

f. Sterilisasi Alat

Sterilisasi yang digunakan ada 2 yaitu pemanasan basah dan pemanasan kering. Pemanasan basah (autoklaf) digunakan pada kebanyakan media yang mengandung air, misalnya media biakan dengan suhu 121°C selama 15 menit. Pemanasan kering (oven)

digunakan alat seperti gelas cawan petri, tabung reaksi, beaker glass dengan suhu 180°C selama 30 menit.

g. Pembuatan Media Padat (Potato Dextrose Agar/PDA)

Timbang PDA sebanyak 10 gram, ukur aquadest sebanyak 250ml. Panaskan aqua hingga mendidih ke dalam beaker glass. Setelah mendidih masukkan PDA ke dalam beaker glass berisi aqua. Aduk PDA sampai mendidih lagi. Sterilisasi dengan autoklaf. Siapkan cawan petri 5 buah dalam LAF yang telah dibersihkan dengan etanol swab. Angkat PDA yang sudah siap dan tuang ke dalam cawan petri dengan ukuran masing – masing petri ±50 ml. Diamkan selama ±24 jam hingga memadat/menjadi agar. Simpan pada kulkas.

h. Pembuatan Media Cair (Nutrient Broth/NB)

Timbang NB sebanyak 0,75 gram. Ukur aquades 65 ml. Masukkan aquadest pada beaker glass panaskan hingga mendidih. Masukkan NB aduk sampai larut dan homogen. Setelah mendidih masukkan NB pada enlemeyer, tutup dengan kapas dan aluminium foil, dirapatkan dengan tali. Sterilisasi dengan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C. Setelah selesai angkat dan letakkan pada LAF. NB siap digunakan pada proses KHM.

i. Persiapan Inokulum *Candida albicans*

Candida albicans diambil dari botol ke NB pada suhu 37 °C. Inokulum dibuat dari kultur 24 jam, dan kekeruhan suspensi sel diukur sampai kepekatan tertentu sesuai dengan standar Mc Farland 0,5 yaitu 1 x 10⁸ CFU/ml.

j. Pembuatan Larutan Kontrol Positif

Larutan kontrol positif (+) yang digunakan yaitu *ketoconazole* murni pro analisa dengan konsentrasi 1mg/1ml. Larutan ini dibuat dengan cara ditimbang dan dilarutkan dalam ±1ml aquades.

k. Pengujian Aktivitas Antijamur

1) Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Aktivitas antijamur ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa ditentukan dengan metode mikrodilusi menggunakan microplate. Metode mikrodilusi merupakan metode yang direkomendasikan oleh Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Microplate terdiri dari 96 sumur, terdiri dari 12 kolom dan 8 baris. Kolom pertama, kolom ke 11-12, baris pertama, dan baris terakhir atau 8 diisi aquadest. Masukkan media cair atau NB pada lubang yang tidak diisi aquades. Masukkan ekstrak sirih pada lubang B2 – 9 secara pengenceran. Masukkan ekstrak asam jawa pada lubang C2 – 9 secara pengenceran. Masukkan ekstrak kombinasi sirih hijau dan asam jawa pada lubang D2 – 9 secara pengenceran. Masukkan ekstrak sirih hijau pada lubang E2 – 9 Secara pengenceran. Masukkan ekstrak asam jawa pada lubang F2 – 9 secara pengenceran. Masukkan ekstrak kombinasi sirih hijau dan asam jawa pada lubang G2 – 9. Masukkan kontrol positif pada lubang 10 (kolom 10). Masukkan kontrol negatif pada lubang 11 (kolom 11). Masukkan suspensi jamur pada lubang B2 – 11, C2 – 11, D2 – 11. Masukkan media cair pada lubang E2 – 11, F2 – 11, G2 – 11. Inkubasi mikroplate pada inkubator dengan suhu 30°C selama 24 jam. Semua proses dilakukan 5 kali replikasi untuk perbandingan.

2) Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Keluarkan mikroplate dari LAF setelah 24 jam. Amati seluruh area, analisa lubang yang jernih dan keruh. Goreskan isian lubang yang akan ditentukan KBMnya pada cawan petri berisi PDA yang telah dibagi ruangnya. Lakukan proses inkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C.

3) Penentuan Pengamatan Hasil Pengujian

Hasil pengujian adanya aktivitas antijamur dari ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak buah asam jawa dapat dilihat berapa banyak koloni yang tumbuh dari hasil apusan yang merupakan petunjuk kepekaan jamur terhadap ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Determinasi Tanaman Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) dan Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn)

Determinasi tanaman pada penelitian ini dilakukan di Akademi Farmasi Mitra Sehat Mandiri Sidoarjo, berdasarkan No.34/SK/Det/AFMSMS/V/2020 dan No. 35/SK/Det/AFMSMS/V/2020 bertujuan untuk mencocokkan ciri morfologi yang ada pada tanaman yang diteliti..

3.2. Ekstraksi Tanaman Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) dan Tanaman Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn)

Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi dingin yaitu maserasi diperoleh ekstrak kental berwarna merah kecoklatan berbau khas dan berasa pahit.

Penelitian ini menggunakan daun sirih hijau dan buah asam jawa yang diperoleh dari pasar Krian Kabupaten Sidoarjo. Pembuatan ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa dengan metode maserasi yang bertujuan agar tidak merusak senyawa-senyawa yang tidak tahan terhadap panas atau *termolabil*. Prinsip kerja maserasi pelarut akan masuk kedalam dinding sel, isi sel akan larut karena adanya perbedaan tekanan antara didalam dan diluar sel sehingga senyawa metabolit sekunder yang ada didalam sitoplasma akan keluar dan terlarut dalam pelarut organik.

Penelitian (Vifta, 2017) Hasil rendemen ekstrak daun sirih hijau sebesar 14,16% sedangkan pada penelitian (Imrawati, 2016) buah asam jawa memiliki persen rendemen 40,65%. Ekstraksi yang dihasilkan dari pemekatan daun sirih hijau menggunakan menghasilkan rendemen sebesar 29,56 % dan ekstrak buah asam jawa menghasilkan rendemen sebesar 5,69 %. Hasil yang diperoleh peneliti bahwa ekstrak buah asam jawa dengan nilai yang rendah hal ini menunjukkan ekstrak memiliki kualitas yang baik. Karena semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan menandakan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak, namun semakin tinggi nilai rendemen yang dihasilkan maka semakin rendah mutu yang diperoleh.

3.3. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle* Linn) dan Ekstrak Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn)

Skrining fitokimia ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) yang dilakukan dapat diketahui bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle* Linn) dan buah asam jawa (*Tamarindus indica* Linn) sama – sama mengandung senyawa aktif Alkaloid, Flavonoid, Saponin dan Tanin.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia

No	Zat Aktif	Hasil Uji Terbetuk	Kesimpulan
1.	Alkaloid	Endapan Coklat Terbetuk Endapan Coklat Terbetuk Endapan Coklat	Mengandung alkaloid Mengandung alkaloid Mengandung alkaloid
2.	Flavonoid	Terbetuk warna merah	Mengandung flavonoid
3.	Saponin	Terbetuk busa	Mengandung saponin
4.	Tanin	Terbetuk warna coklat kehijauan	Mengandung tanin

Terbentuknya endapan pada uji Mayer, Wagner dan Dragendorff berarti dalam ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa terdapat alkaloid. Hasil positif alkaloid pada uji Wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Wagner, iodin bereaksi dengan ion I⁻ dari kalium iodida menghasilkan ion I₃⁻ yang berwarna coklat. Pada uji Wagner, ion logam K⁺ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap (Marliana dkk., 2005).

Hasil positif alkaloid pada uji Dragendorff juga ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada uji alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, nitrogen digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan K⁺ yang merupakan ion logam (Marliana dkk., 2005).

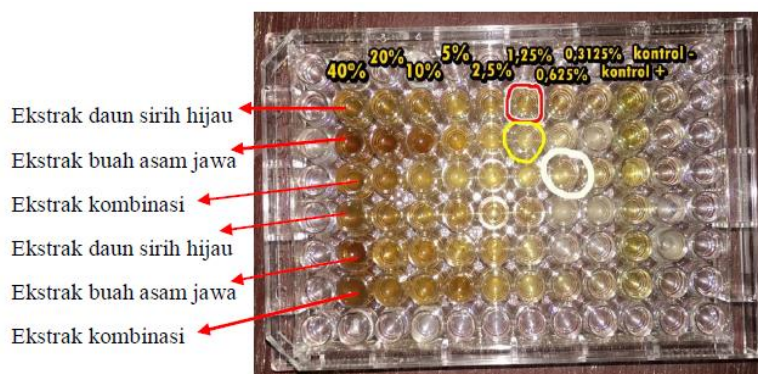
Hasil uji flavonoid pada ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa diidentifikasi menggunakan Mg dan HCl pekat yang menghasilkan warna merah. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa positif mengandung flavonoid yang ditunjukkan dengan perubahan warna oranye karena terbentuknya garam flavilium (Marlinda, 2012).

Hasil uji saponin menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa berbentuk seperti busa saat dilakukan pengocokan hal ini dikarenakan saponin mengandung senyawa yang memiliki gugus polar dan non polar yang akan bersifat aktif permukaan sehingga saat dikocok dengan air dapat membentuk busa (Sangi dkk., 2008).

Hasil uji tanin menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa positif mengandung tanin. Hal ini diketahui dari perubahan warna yang terjadi pada saat penambahan larutan FeCl₃ 1% yaitu warna hijau kehitaman. Pada identifikasi tanin, perubahan warna disebabkan oleh reaksi penambahan FeCl₃ dengan salah satu gugus hidroksil yang ada pada senyawa tanin. Penambahan FeCl₃ menghasilkan warna hijau kehitaman yang menunjukkan adanya tanin terkondensasi (Sangi dkk., 2008). Terbentuknya warna hijau kehitaman atau biru tinta pada ekstrak setelah ditambahkan dengan FeCl₃ karena tannin akan membentuk senyawa kompleks dengan FeCl₃ (Halimah, 2010). Maka dari hasil identifikasi yang dilakukan, kandungan kimia ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin.

3.4. Hasil Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Konsentrasi Hambat Minimum adalah konsentrasi terkecil dimana tidak ada pertumbuhan mikroba pada sumur yang digunakan, dan diperoleh dengan pengamatan secara visual dari perbedaan kejernihan sumur jika dibandingkan dengan kontrol (Kurniati, 2017).



Gambar 1. Penentuan KHM

Keterangan : Lingkaran warna merah (KHM sirih hijau 1,25 %), Lingkaran warna kuning (KHM asam jawa 1,25 %) & Lingkaran warna putih (KHM kombinasi sirih hijau & asam jawa 0,625 %)

Pengujian ketiga ekstrak dilakukan terhadap jamur *Candida albicans*. Konsentrasi terendah yang menunjukkan hambatan pertumbuhan dengan jelas dan baik dapat dilihat secara visual. Dilihat dari kejernihan lubang mikropate, hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih hijau memiliki nilai KHM $1,25 \pm 0,0\%$, ekstrak buah asam jawa memiliki KHM $1,25 \pm 0,0\%$ dan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) $0,62 \pm 0,0\%$. Hasil pengujian penentuan KHM dari masing-masing ekstrak terhadap mikroba uji dapat dilihat pada gambar 1 dan tabel 2.

Tabel 2. Data KHM untuk ekstrak dan pembanding terhadap jamur uji

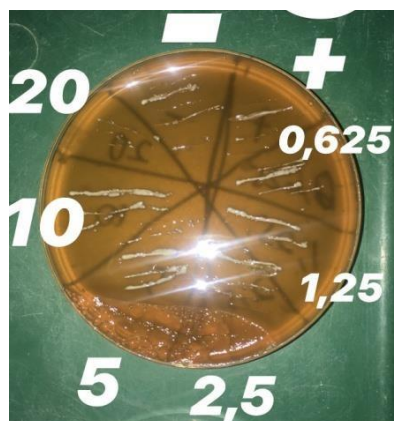
NO.	Senyawa	Konsentrasi (%)								KHM (%)
		40%	20%	10%	5%	2,5%	1,25%	0,625%	0,3125%	
1.	Sirih Hijau	-	-	-	-	-	+	+	+	1,25
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	+	+	+	
2.	Asam Jawa	-	-	-	-	-	+	+	+	1,25
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	-	+	+	
		-	-	-	-	-	+	+	+	
3.	Kombinasi Sirih Hijau dan Asam Jawa	-	-	-	-	-	+	-	+	0,625
		-	-	-	-	-	-	-	+	
		-	-	-	-	-	-	-	+	
		-	-	-	-	-	-	-	+	
		-	-	-	-	-	+	-	+	

Keterangan : - : Jernih/ bening menandakan tidak ada pertumbuhan *Candida albicans*
+ : Keruh menandakan ada pertumbuhan *Candida albicans*

Hal ini berarti bahwa ekstrak kombinasi memiliki nilai KHM lebih rendah dibanding ekstrak tunggalnya. Ekstrak kombinasi memiliki nilai KHM juga pada konsentrasi 1,25% namun dilihat dari hasil pengamatan terlihat adanya kontaminasi yang mengakibatkan 2 replikasi masih ditumbuhi jamur, sehingga nilai KHM yang diambil adalah 0,62%. Nilai KHM berlawanan dengan sensitivitas mikroba yang diuji. Semakin rendah nilai KHM dari sebuah antimikroba, sensitivitas dari jamur akan semakin besar.

3.5. Hasil Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM)

Konsentrasi bunuh minimum (KBM) adalah konsentrasi terkecil dimana tidak ada pertumbuhan mikroba pada media agar yang menunjukkan visualisasi kejernihan (Kurniati, 2017).



Gambar 2. Penentuan KBM dan pengamatan

Penentuan Konsentrasi Bunuh Minimum dilakukan sebanyak 5 replikasi pada masing – masing ekstrak. Penentuan KBM dilakukan berdasarkan semua perbenihan cair pada penentuan KHM atau diambil dari microplate yang menunjukkan adanya KHM. Penelitian ini fokus pada ekstrak kombinasi daun sirih hijau dan buah asam jawa, sehingga nilai KHM yang diambil untuk dilakukan KBM adalah pada microplate ekstrak kombinasi pada konsentrasi 20%, 10%, 5%, 2.5%, 1.25%, 0.625%, 0.3125%. Nilai KBM kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa (1:1) memiliki KBM adalah $20 \pm 0,0$ %. Hasil pengujian penentuan KHM dari masing-masing ekstrak terhadap mikroba uji dapat dilihat pada gambar 2 dan tabel 3.

Tabel 3. Data KBM untuk ekstrak dan perbandingan terhadap jamur uji

NO.	Senyawa	Konsentrasi (%)						KBM (%)
		20%	10%	5%	2,5%	1,25%	0,625%	
1.	Kombinasi Sirih Hijau dan Asam Jawa	-	+	+	+	+	+	20
		-	+	+	+	+	+	
		-	+	+	+	+	+	
		-	+	+	+	+	+	
		-	+	+	+	+	+	

Keterangan : - : Jernih/ bening menandakan tidak ada pertumbuhan *Candida albicans*
 + : Keruh menandakan ada pertumbuhan *Candida albicans*

Dari hasil penelitian diatas menunjukkan bahwa kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa dapat menghambat *Candida albicans* pada konsentrasi 0,625 % serta membunuh *Candida albicans* pada konsentrasi 20 %. Aktivitas kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa bersifat sinergis atau lebih baik dari ekstrak tunggalnya. Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa bersifat menghambat pertumbuhan jamur (bakteriostatik) dan membunuh pertumbuhan jamur (bakterisid). Hal ini dikarenakan kandungan metabolit sekunder kedua tanaman yaitu flavonoid mengakibatkan kerusakan dinding sel (Fitriani *et al.*, 2013), alkaloid yang dapat mengganggu peptidoglikan dalam sel jamur (Widodo, 2007), saponin yang merusak membran sel jamur (Ainurrochmah *et al.*, 2013) dan tanin mengganggu proses metabolisme patogen tersebut hingga sel mati (Ikalinus *et al.*, 2015).

4. KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak buah asam jawa dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* lebih baik dibanding ekstrak tunggalnya, dengan nilai: 1) Kadar Hambat Minimum pada ekstrak daun sirih hijau yaitu 1,25%, 2) Ekstrak buah asam jawa 1,25% dan, 3) Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa yaitu 0,625%, 4) Sedangkan nilai Kadar Bunuh Minimum KBM kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa adalah 20%, 5) Kombinasi antara ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak buah asam jawa terhadap jamur *Candida albicans* menunjukkan aktivitas antijamur yang sinergis atau lebih baik daripada ekstrak tunggalnya.

Penelitian ini masih belum sempurna, sehingga pada penelitian berikutnya disarankan dilakukan penelitian dengan replikasi lebih dari 5x. Disarankan juga agar penelitian berikutnya ekstrak daun sirih hijau dan buah asam jawa harus dimurnikan/fraksinasi dan dapat dikembangkan menjadi suatu sediaan.

5. DAFTAR PUSTAKA

- Ainurrochmah, A., Ratnasari, E., & Lisdiana, L. (2013). Efektivitas Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia*) terhadap Penghambatan Pertumbuhan Bakteri *Shigella flexneri* dengan Metode Sumuran. *Lentera Bio*, 2(3).
- Ayodeji, A. A., Attama A & Momoh M. (2011). Evaluation of the antimicrobial activities of crude extract of *Cryptolepis sanguinolenta* and *Crateva adansonii* leaves and their interactions. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 10:85-89.
- Chairunnisa Siti, et al., (2015). Inhibition Of Betel Leaf Extract (*Piper Betle* Linn) Against *Candida albicans*. *Jurnal Ilmiah Kedokteran, Vol.2 No.3*. Tadulako University.
- Fakhrurrazi, Erdi Rahmat, Razali, Erina, Zakiah Heryawati Manaf, dan Hamdani. (2016). Isolation of *Staphylococcus aureus* Causing Bumble Foot on Joints and Sole of Cocks in Lambaro Market. *Jurnal Medika Veteriner*, 10 (2), 131-132, E-ISSN : 2503-1600.
- Faradiba, Anggi. (2016). Daya Antibakteri Infusa Daun Asam Jawa (*Tamarindus indica* Linn) terhadap *Streptococcus mutans*. *E-Jurnal Pustaka Kesehatan*. Vol 4. (1), Hal 55-60.
- Fitriani, A., et al. (2013). The exploration of *Ketosynthase Gene* on *Endophytic Bacterial Root of Vetiveria zizanioides* L. *International Journal of Basic and Applied Sciences IJBAS-IJENS*, 13 (4), 112-119.
- Hakim L., Ramadhian M. R. (2015). Kandidiasis oral. *Jurnal* volume 4 nomor 8. Lampung :Bagian mikrobiologi FK universitas lampung.
- Halimah, N. (2010). Uji Fitokimia dan Uji Toksisitas Ekstrak Tanaman AntingAnting (*Acalypha indica* Linn.) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach. *Skripsi* Diterbitkan. Malang: Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Harborne, J.B., (1987). *Metode Fitokimia*, Edisi ke dua. ITB, Bandung.
- Ikalinus, R., Widyastuti, S. K., Luh, N., & Setiasih, E. (2015). Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*, 4(1), 71– 79.
- Imrawati dkk. 2016. “Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daging Buah (*Tamarindus indica* Linn) Asal Kota Bima Nusa Tenggara Barat Dengan Metode DPPH.” *Journal Of Pharmaceutical And Medicinal Sciences* 1(2):75-78.
- Kurniati Neng Fisheri., Deden Winda Suwandi., Safira Yuniati. (2017). Aktivitas Mukolitik Kombinasi Ekstrak Etanol Daun Kemangi dan Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah. Institut Teknologi Bandung, Jawa Barat, Indonesia. Universitas Garut, Jawa Barat, Indonesia. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 5(1), 7-13.
- Maharani, Kristika. (2015). Pengaruh Ekstrak Buah Asam Jawa (*Tamarindus indica*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Pada Plat Gigi Tiruan Resin Akrilik. Universitas Gadjah Mada Fakultas Kedokteran Gigi Yogyakarta.
- Marliana, S.D., Suryanti, V. dan Suyono. (2005). Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*. 3 (1): 26-31.
- Marlinda, M., Sangi, M.S., dan Wuntu, A.D. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*.1 (1) 24-28.

- Miksusanti., Fitrya., Nike Marfinda. (2011). *Aktivitas Campuran Ekstrak Kulit Manggis (Garcinia mangostana L.) dan Kayu Secang (Caesalpina sappan L.) terhadap Bacillus cereus*. Universitas Sriwijaya, Sumatera Selatan, Indonesia.
- Mudatsir., Susianti dan Hafnati Rahmatan. (2007). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper Betle L*) Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro. *JURNAL KEDOKTERAN SYIAH KUALA* Volume 7 Nomor 3 Desember 2007.
- Pradhan D, Suri KA, Pradhan DK, Biswasroy P. (2013). *Golden heart of the nature : Piper betle L. J. of Pharmacognosy and Phytochem.* 1 (6) : 147-167.
- Rahajeng Putriningrum, Annisaul Khoiriyah. (2014). Analisis Tingkat Pengetahuan Pada Ibu Hamil Trimester iii Menuju Proses Menyusui. *Jurnal Kesehatan Kusuma Husada (Jurnal KesMaDaSka)* STIKes Kusuma Husada Surakarta
- Sangi, M., M.R.J. Runtuwene., H.E.I. Simbala., V.M.A. Makang. (2008). Analisis Fitokimia Tumbuhan Obat di kabupaten Minahasa Utara. *Chem. Prog.* 1(1):47-53.
- Susanti, Ai. (2009). Inhibisi Ekstrak Air Dan Etanol Daun Asam Jawa Dan Rimpang Kunci Pepet Terhadap Lipase Pankreas Secara In Vitro. Departemen Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Pertanian Bogor.
- Vifta, R. L. Dkk. 2017. Perbandingan Total Rendemen Dan Skinning Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Sirih Hijau (*Piper Betle Linn*) Secara Mikrodilusi. *Journal of Science and Applicative Technology*, no. 2:2017.
- Widodo, N. 2007. Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Alkaloid yang Terkandung Dalam Jamur Tiram Putih (*Pleurotus ostreatus*). Semarang: Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Yuniarni, Umi dan Yani Lukmayani. (2016). Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Beluntas. Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.