

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK METANOL *Auricularia nigricans* TERHADAP *Candida* spp.***Inhibitory Test of Methanol Extract of Auricularia nigricans Against Candida spp***

Afina Indrawati¹, Amelya Dyah Pertiwi¹, Audry Ridho Ayuningtyias¹, Hilda Widianingtyas Subroto¹, Mufidhatul Nur Azizah¹, Tutik Handayani¹, Surahmida¹, Kinanti Ayu Puji Lestari¹, Floreta Fiska Yuliarni^{1*}

¹Akademi Farmasi Surabaya

* Email: floreta.fiska@gmail.com

Abstract

Candida was a fungus that can cause candidiasis infection. Candidiasis could occur of the skin, nails, mucous membranes and the gastrointestinal. The study aims to examine whether *Auricularia nigricans* methanol extract has the ability to inhibit the growth of *Candida albicans*, *C. glabrata*, and *C. parapsilosis*. Soxhletation was used as the extraction method, and the inhibitory test method involved diffusion paper disk and wells methods. The concentration variations used were 0.2 g/ml, 0.25 g/ml and 0.3 g/ml with 10% DMSO as a negative control. The research results obtained were that no inhibition zones were formed at concentrations of 0.2 g/ml, 0.25 g/ml and 0.3 g/ml so that they were included in the inactive category.

Keywords: *Auricularia nigricans*, *Candida*, soxhlet method, methanol extract, paper disc and wells method.

Abstrak

Candida merupakan jamur golongan khamir yang dapat menyebabkan infeksi kandidiasis. Kandidiasis tersebut dapat terjadi pada kulit, kuku, membran mukosa dan saluran cerna. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak metanol *Auricularia nigricans* dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*, *C. glabrata* dan *C. parapsilosis*. Metode ekstraksi yang digunakan adalah sokletasi selama 10 jam dan metode uji daya hambat antifunginya secara difusi cakram dan sumuran. Variasi konsentrasi yang digunakan adalah 0,2 g/ml, 0,25 g/ml dan 0,3 g/ml dengan DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian yang diperoleh adalah tidak terbentuknya zona hambat pada konsentrasi 0,2 g/ml, 0,25 g/ml dan 0,3 g/ml sehingga termasuk dalam kategori tidak aktif.

Kata kunci: *Auricularia nigricans*, *Candida*, metode sokletasi, ekstrak metanol, metode difusi cakram dan sumuran.

PENDAHULUAN

Candida adalah jamur golongan khamir yang dapat membentuk sel ragi dan hifa yang semu. *Candida* merupakan flora normal pada tubuh manusia, namun dapat berubah menjadi patogen dan menyebabkan penyakit kandidiasis (Rodrigues et al., 2014). Kandidiasis merupakan infeksi yang disebabkan oleh berbagai spesies *Candida* yang bersifat akut dan pada umumnya dapat menginfeksi kulit, kuku, membran mukosa, saluran cerna dan menyebabkan penyakit sistemik (Widasmara et al., 2011).

Terapi yang sering digunakan untuk mengobati kandidiasis adalah obat-obat antijamur golongan azol seperti ketokonazol, mikonazol dan klotrimazol yang memiliki mekanisme kerja menghambat sintesis ergosterol pada jamur sehingga dapat menyebabkan kerusakan membran sel jamur. Obat-obat antijamur yang berbentuk salep atau krim sangat mudah digunakan, namun tidak jarang menimbulkan efek yang merugikan seperti rasa gatal serta panas pada daerah yang terinfeksi (Arifin et al., 2018). Adanya efek samping tersebut menjadi penyebab perlunya mencari alternatif pengobatan dari bahan alam, salah satunya jamur kuping hitam (*A. nigricans*).

Jamur kuping hitam merupakan jamur golongan Basidiomycota yang mengandung berbagai metabolit sekunder diantaranya alkaloid, flavonoid dan monoterpen yang berfungsi dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme (Afiukwa et al., 2013). Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Triani et al. (2017), ekstrak metanol jamur kuping hitam dengan konsentrasi 0,40 g/ml berpotensi sebagai antifungi karena rata-rata diameter zona hambat yang terbentuk sebesar 33,36 mm.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak jamur kuping hitam dengan pelarut metanol dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, *Candida glabrata* dan *Candida parapsilosis*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat soklet, blender, nampan, batang pengaduk, sendok tanduk, gelas ukur, gelas beker, kertas saring, *rotary evaporator*, pipet tetes, tabung reaksi, kaca arloji, timbangan analitik, kertas perkamen, tali, erlenmeyer, bunsen, pemantik, *hot plate*, pipet volume, kawat ose, inkubator, autoklaf, oven, cawan petri, cawan porselen,

plastik *wrap*, pinset, botol vial, kertas cakram, *cotton swab*, mikropipet, *yellow tip*, *blue tip*, labu ukur 10 ml dan jangka sorong.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*), *Potato Dextrose Broth* (PDB), *Potato Dextrose Agar* (PDA), *C. albicans*, *C. glabrata*, dan *C. parapsilosis*, DMSO 10%, metanol, alkohol 70% dan akuades.

Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat gelas yang memiliki akurasi rendah seperti erlenmeyer, cawan petri dan gelas beker disterilisasi menggunakan oven dengan suhu 180°C selama 2 jam. Alat-alat gelas yang memiliki akurasi tinggi seperti gelas ukur, pipet ukur dan juga media pertumbuhan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 hingga 20 menit. Pinset dan kawat ose disterilisasi menggunakan api bunsen.

Pembuatan Serbuk Jamur Kuping Hitam

Jamur kuping hitam berasal dari tempat budidaya jamur di Malang, Jawa Timur. Jamur tersebut dideterminasi terlebih dahulu di Badan Riset dan Inovasi Nasional (BRIN) di Cibinong, Jawa Barat. Jamur yang didapatkan berupa jamur kuping hitam kering. Jamur tersebut disortasi kemudian dipotong kecil-kecil lalu dihaluskan menggunakan blender. Setelah menjadi serbuk kemudian diayak menggunakan ayakan 40 mesh untuk mendapatkan serbuk yang lebih halus.

Pembuatan Ekstrak Jamur Kuping Hitam

Serbuk jamur kuping hitam halus ditimbang sebanyak 50 gram kemudian dibungkus menggunakan kertas saring dan dimasukkan ke dalam timbal alat soklet. Pelarut metanol sebanyak 250 ml dimasukkan dalam labu alas bulat. Air es digunakan untuk mendinginkan kondensor. Ekstraksi dilakukan selama 10 jam dengan suhu 50°C dan dilakukan sebanyak empat kali. Hasil ekstraksi diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu yang sama untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Ekstrak di oven selama 7x24 jam hingga didapatkan ekstrak kental jamur kuping hitam.

Persiapan Jamur Uji

Jamur uji *Candida albicans*, *Candida glabrata* dan *Candida parapsilosis* diperoleh dari Balai Besar Laboratorium Surabaya, Jawa Timur. *Candida* di subkultur pada media PDA miring dalam tabung reaksi kemudian diinkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator dengan suhu 28°C. Jamur yang telah tumbuh di media PDA

miring diambil sebanyak 1 ose lalu diinokulasi ke dalam media cair PDB dan diinkubasi selama 24 jam menggunakan inkubator dengan suhu 28°C.

Pembuatan Variasi Konsentrasi

Penelitian ini menggunakan kontrol negatif berupa *Dimethyl sulfoxide* (DMSO) 10%. Konsentrasi ekstrak jamur kuping hitam yang digunakan adalah 0,2 g/ml, 0,25 g/ml dan 0,3 g/ml. Penentuan konsentrasi tersebut berdasarkan Triani, et. al. (2017).

Konsentrasi pertama yang dibuat adalah konsentrasi 0,3 g/ml yang merupakan konsentrasi paling tinggi kemudian dilanjutkan dengan pembuatan konsentrasi 0,25 g/ml dan 0,2 g/ml. Konsentrasi 0,25 g/ml dan 0,2 g/ml dibuat dengan cara mengambil dari konsentrasi 0,3 g/ml.

Konsentrasi 0,3 g/ml dibuat dengan cara menimbang 3 gram ekstrak kental jamur kuping hitam menggunakan kaca arloji kemudian dimasukkan ke dalam labu ukur 10 ml dan ditambahkan DMSO 10% hingga tanda batas lalu dikocok hingga homogen. Konsentrasi 0,25 g/ml dibuat dengan cara mengambil 2,5 ml ekstrak dari konsentrasi 0,3 g/ml dan ditambahkan 0,5 ml DMSO 10% lalu dimasukkan ke dalam botol vial. Konsentrasi 0,2 g/ml dibuat dengan cara mengambil 2 ml ekstrak dari konsentrasi 0,3 g/ml dan ditambahkan 1 ml DMSO 10% lalu dimasukkan ke dalam botol vial.

Uji Daya Hambat

Pengujian daya hambat dilakukan dengan 2 metode difusi yaitu cakram dan sumuran. Pengujian ini dilakukan 5 kali ulangan.

Metode difusi cakram dilakukan dengan cara media PDA sebanyak 20 ml dituangkan ke dalam masing-masing cawan petri sebanyak 5 buah lalu ditunggu hingga menjadi padat. *Candida* yang telah dibiakkan dalam media PDB diambil menggunakan *cotton swab* kemudian diratakan di atas media PDA di cawan petri. Masing-masing konsentrasi ekstrak dipipet sebanyak 25 µl kemudian diteteskan di atas kertas cakram lalu diletakkan di atas media PDA di cawan petri. Media yang telah diberi kertas cakram diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam di inkubator.

Metode difusi sumuran dilakukan dengan mengambil biakan *Candida* pada media PDB

sebanyak 1 ml lalu dimasukkan ke dalam cawan petri. Media PDA sebanyak 20 ml dimasukkan ke dalam cawan petri tersebut lalu digoyang membentuk angka 8 sehingga *Candida* dan media tercampur. Media dibiarkan hingga memadat. Pada media dibuat 4 lubang sumuran. Masing-masing konsentrasi ekstrak diambil sebanyak 75 µl dan dimasukkan ke lubang sumuran. Biakan tersebut diinkubasi pada suhu 28°C selama 2 x 24 jam.

Diameter zona hambat yang terbentuk dari aktivitas antifungi ekstrak *Auricularia nigricans* terhadap mikroba uji *C. albicans*, *C. glabrata*, dan *C. parapsilosis* diukur menggunakan jangka sorong dan hasil pengukuran dibandingkan dengan kategori zona hambat berdasarkan penelitian Mirfat et al. (2014).

Tabel 1. Kategori Zona Hambat

Zona Hambat	Kategori
- (Tidak ada)	Tidak aktif
<9 mm	Lemah
9-12 mm	Sedang
13-18 mm	Kuat
>18 mm	Sangat kuat

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang dikirim adalah jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*). Ekstrak jamur kuping hitam yang didapatkan sebanyak 5,45 gram, berwarna ungu pekat, bau khas jamur dan berbentuk kental dengan persentase rendemen sebesar 2,725%. Berdasarkan hasil tersebut, nilai rendemen termasuk dalam kategori kecil (Sulistyanto, 2016).

Hasil Uji Daya Hambat

Hasil pengamatan uji daya hambat ekstrak metanol jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) terhadap mikroba uji *Candida* spp. dengan metode cakram dan sumuran setelah diinkubasi selama 2x24 jam dapat dilihat pada Tabel 2 dan Tabel 3. Uji daya jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) terhadap mikroba uji *C. parapsilosis* dengan metode cakram dan metode sumuran dapat dilihat pada Gambar 1.

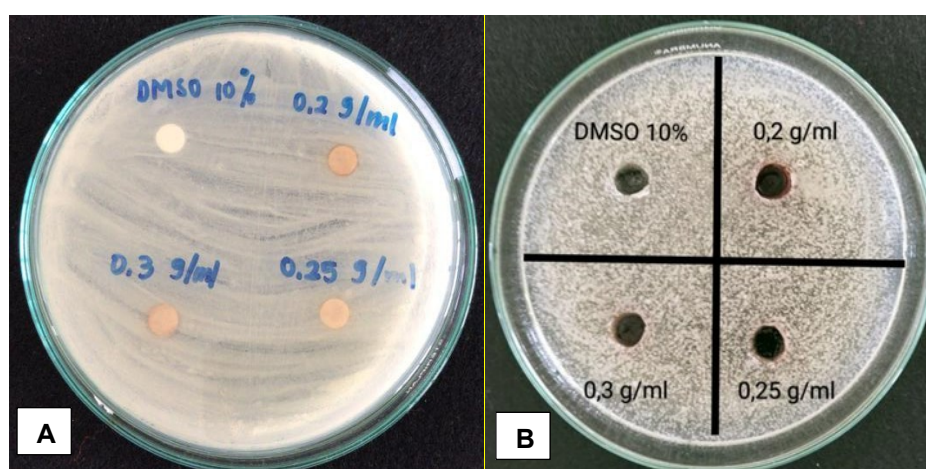
Tabel 2. Rata-rata Diameter Zona Hambat Jamur Kuping Hitam (*Auricularia nigricans*) Terhadap *Candida* spp. dengan Metode Cakram.

Jenis jamur	Diameter zona hambat (mm) pada konsentrasi			
	Kontrol negatif	0,2 g/ml	0,25 g/ml	0,3 g/ml
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-

Tabel 3. Diameter Zona Hambat Jamur Kuping Hitam (*Auricularia nigricans*) Terhadap *Candida* spp. Dengan Metode Sumuran.

Jenis jamur	Diameter zona hambat (mm) pada konsentrasi:			
	Kontrol negatif	0,2 g/ml	0,25 g/ml	0,3 g/ml
<i>C. albicans</i>	-	-	-	-
<i>C. glabrata</i>	-	-	-	-
<i>C. parapsilosis</i>	-	-	-	-

Ket: (-) Zona Hambat Tidak Aktif

**Gambar 1.** Uji daya hambat Jamur Kuping (*A. nigricans*) terhadap *Candida parapsilosis* dengan metode cakram (A); dan metode sumuran (B).

Berdasarkan hasil uji daya hambat menunjukkan bahwa ekstrak metanol *Auricularia nigricans* tidak dapat menghambat pertumbuhan *Candida* spp. karena tidak terbentuk zona hambat pada semua konsentrasi dan kontrol negatif sehingga dapat dikategorikan tidak aktif.

Faktor-faktor yang diduga mempengaruhi zona hambat tidak terbentuk antara lain lama waktu yang diperlukan untuk ekstraksi, habitat jamur kuping hitam, dan sifat jamur uji.

Lama waktu yang diperlukan untuk ekstraksi

Lama ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah selama 10 jam, sedangkan waktu ekstraksi yang digunakan oleh penelitian sebelumnya adalah 12 jam dengan hasil zona hambat yang terbentuk sebesar $15,6 \pm 1,5$ mm terhadap *Candida albicans* (Avci et al., 2016). Waktu ekstraksi yang lebih pendek dapat memberikan hasil nilai rendemen yang lebih rendah karena tidak semua komponen senyawa

dapat terekstrak. Semakin lama waktu ekstraksi maka waktu sampel untuk dapat berkontak langsung dengan pelarut juga semakin lama (Achmad & Sugiarto, 2019).

Habitat jamur kuping hitam

Sampel jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) yang digunakan berasal dari tempat budidaya jamur Desa Wonorejo Kabupaten Malang, Jawa Timur sedangkan penelitian sebelumnya menggunakan sampel jamur kuping hitam yang berasal dari hutan Desa Simpang Alur Kabupaten Landak dan hasil penelitian menunjukkan terbentuknya zona hambat pada mikroba uji *Aspergillus flavus* (Triani et al., 2017).

Jamur yang tumbuh liar memiliki serat dan senyawa metabolit yang lebih tinggi karena mengalami banyak tekanan atau stress lingkungan selama proses pertumbuhannya. Tekanan atau stress lingkungan yang dialami oleh jamur liar dapat meningkatkan kandungan

senyawa metabolit sekunder yang dimilikinya. Jamur liar menjadi lebih kuat dan tahan terhadap lingkungan sekitar apabila dibandingkan dengan jamur budidaya yang tumbuh pada lingkungan yang dilindungi dan dijaga dengan baik. Hal tersebut menyebabkan senyawa metabolit yang dihasilkan jamur budidaya menjadi lebih sedikit (Srikram & Supapvanichb, 2017).

Sifat jamur uji

Candida spp. mudah membentuk biofilm saat ditanam di media yang mengandung konsentrasi lipid atau glukosa tinggi (Munawaroh, 2018). Mikroba yang dapat membentuk biofilm memiliki ketahanan yang lebih besar terhadap agen antimikroba (Purbowati, 2018).

KESIMPULAN

Ekstrak jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) tidak dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* baik dengan metode cakram ataupun sumuran. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antifungi jamur kuping hitam (*Auricularia nigricans*) dengan mempertimbangkan faktor penyebab tidak terbentuknya zona hambat.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Akademi Farmasi Surabaya yang menyediakan fasilitas Laboratorium Farmakognosi dan Laboratorium Mikrobiologi sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Z., & Sugiarto, B. (2019). Pengaruh Waktu Ekstraksi Antosianin Dari Biji Alpukat (*Persea americana*) Sebagai Pewarna Alami. *Simposium Nasional RAPI XVIII FT UMS*, 16–20.
- Afiukwa, C. A., Ugwu, Okechukwu, P. C., Ebenyi, L. N., Oketa, H. A., Idenyi, J. N., & Ossai Emmanuel, C. (2013). Phytochemical analysis of two wild edible mushrooms, *Auricularia polytricha* and *Pleurotus ostreatus*, common in ohaukwu area of ebonyi state, nigeria. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 4(2), 1065–1070.
- Arifin, Z., Khotimah, S., & Rahmayanti, S. (2018). Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.)

- Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro. *Jurnal Cerebellum*, 4(3), 1114.
- Avci, E., Cagatay, G., Alp Avci, G., Suicmez, M., & Coskun Cevher, S. (2016). An Edible Mushroom with Medicinal Significance; *Auricularia polytricha*. *Hittite Journal of Science and Engineering*, 3(2), 111–116. <https://doi.org/10.17350/hjse19030000040>
- Mirfat, A. H. S., Vikineswary, S., Ahmad, M., Salahuddin, H., Abdullah, N., & Sabaratnam, V. (2014). Antimicrobial Activities of Split Gill Mushroom *Schizophyllum commune* Fr. *American Journal of Research Communication*, 2(7), 113. www.usa-journals.com
- Munawaroh, U. (2018). Identifikasi Keberadaan Jamur *Candida* Pada Feses Anak Autiism Spectrum Disorder (ASD) yang Menjalani Diet Karbohidrat. In *Skripsi*.
- Purbowati, R. (2018). Hubungan Biofilm dengan Infeksi: Implikasi pada Kesehatan Masyarakat dan Strategi Mengontrolnya. *Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma*, 5(1), 1. <https://doi.org/10.30742/jikw.v5i1.1>
- Rodrigues, C. F., Silva, S., & Henriques, M. (2014). *Candida glabrata*: A Review of Its Features and Resistance. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 33(5), 673–688. <https://doi.org/10.1007/s10096-013-2009-3>
- Srikram, A., & Supapvanichb, S. (2017). Pertanian dan Sumber Daya Alam Artikel Asli Komposisi Proksimat dan Senyawa Bioaktif Dari Jamur Liar dan Budidaya Yang Dapat Dimakan Dari Thailand Timur Laut. 50(2016), 432–436.
- Sulistyanto, S. R. & wibowo. (2016). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Som Jawa Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Media Farmasi Indonesia Vol 11 No 2 UJI*, 11(2), 1067–1074.
- Triani, Rahmawati, & Turnip, M. (2017). Aktivitas Antifungi Ekstrak Metanol Jamur Kuping Hitam (*Auricularia polytricha* (Mont.) Sacc.) terhadap *Aspergillus flavus* (UH 26). *Jurnal Labora Medika*, 1(2), 14–20.
- Widasmara, D., Suyoso, S., & Murtiastutik, D. (2011). Profil Spesies *Candida* dari Kandidiasis Vulvovaginalis pada Pasien HIV / AIDS yang Mendapat Antibiotik Sistemik (*Candida* Species Profile of Vulvovaginal Candidiasis in HIV / AIDS Patients Treated with Systemic Antibiotic). *Vulvo*, 202–205.