

SIFAT ANTI CENDAWAN *Trichophyton mentagrophytes* DAN *Candida albicans* DARI ZAT EKSTRAKTIF KAYU PELANJAU (*Pentaspadon motleyi*)**FATHUL YUSRO^{1*}, WASRIN SYAFII² & EKO SUGENG PRIBADI³**¹Program Studi Ilmu dan Teknologi Hasil Hutan, Departemen Teknologi Hasil Hutan IPB, Bogor²Departemen Teknologi Hasil Hutan, Fakultas Kehutanan IPB, Bogor³Bagian Mikrobiologi Medik, Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesmavet, Fakultas Kedokteran Hewan IPB, Bogor**ABSTRACT**

Pelanjau wood (P. motleyi) extractives traditionally used as medicine for skin infection such as scabies (tinea) and rash caused by fungal T. mentagrophytes and C. albicans. The aim of this research was to identify the effectiveness of pelanjau wood extractives on growth inhibitory of fungal T. mentagrophytes and C. albicans, isolate and identify extract compounds which have antifungal properties. Extraction and fractionation process yielded 7.04% of ethanol extract consisting of 0.28%, 1.28%, 1.19% and 4.29% of n-hexane, diethyl ether, ethyl acetate and residue fractions, respectively. Antifungal activity of pelanjau wood extract more effective on C. albicans growth inhibition than T. mentagrophytes fraction ethyl acetate at (0.03 and 0.06 mg/ml of MIC and MFC, respectively). Isolation of ethyl acetate fraction was resulted dominant compound EA6a and EA6c. NMR and GC MS analysis of compound EA6a indicate 2-Hidroxy octadecanoic acid, Hexadecanoic acid, Ethyl oleate, Octadecanoic acid, Vanilin and phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl) as the possibly main component belonged to fatty acid and phenol group. Compound EA6c indicate Phenol, 4-(1,1 dimethylpropyl), Nonylphenol isomer, Phenol, 4-(1,1,2,2-tetramethylbutyl), Nonyl-phenol mix isomer dan 4-Nonylphenol as the possibly main component in belong to phenol group.

Keywords: *Extractives, Pentaspadon motleyi Hook.f, antifungal, Trichophyton mentagrophytes, Candida albicans.*

*Penulis untuk korespondensi: Telp./Fax. +62-251-8621285; E-mail: thh_yuskayu@yahoo.com

PENDAHULUAN

Pemanfaatan zat ekstraktif sebagai bahan obat-obatan untuk mengatasi berbagai macam penyakit, seperti infeksi pernapasan, diabetes, malaria, atau penyakit-penyakit yang disebabkan oleh virus, bakteri ataupun cendawan telah lama dilakukan oleh masyarakat dan terus berlangsung sampai sekarang. Zat ekstraktif sebagai bahan obat telah digunakan untuk mengobati penyakit kulit yang disebabkan oleh Dermatofita, seperti *T. mentagrophytes* yang menginfeksi kulit kepala (*tinea capitis*), kuku (*tinea*

unguam), wajah (*tinea barbae*), tangan (*tinea manuum*), lipatan paha (*tinea cruris*) dan sela-sela jari kaki (*tinea pedis*) (Al Hasan *et al.*, 2004), ataupun oleh *C. albicans* yang menginfeksi kulit, kuku, mulut, vagina, dan paru-paru (Molero, 1998).

Salah satu tanaman yang digunakan untuk mengatasi penyakit kulit tersebut adalah pohon pelanjau (*Pentaspadon motleyi* Hook.f). Zat ekstraktif dari kayu teras pohon pelanjau digunakan sebagai obat untuk mengatasi penyakit kudis (*tinea*) dan ruam-ruam ganas (Heyne, 1987; Wiart, 2006). Namun

penggunaan zat ekstraktif pohon pelanjau selama ini masih bersifat tradisional, secara ilmiah belum diketahui seberapa besar efektivitasnya dalam menghambat pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes* dan *C. albicans*. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian tentang efektivitas, isolasi dan identifikasi senyawa bioaktif yang terdapat pada zat ekstraktif kayu pelanjau yang berpotensi menghambat pertumbuhan cendawan penyebab penyakit kulit. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui (i) kandungan zat ekstraktif kayu pelanjau (*Pentaspadon motleyi* Hook.f) secara kuantitatif, dan (ii) efektivitas zat ekstraktif sebagai anticendawan.

BAHAN DAN METODE

Bahan dan alat penelitian

Penelitian ini dilakukan di Bagian Kimia Hasil Hutan Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan, Bagian Mikrobiologi Medik Departemen Ilmu Penyakit Hewan dan Kesehatan Masyarakat Veteriner Fakultas Kedokteran Hewan, Laboratorium Kimia Organik Departemen Kimia Fakultas MIPA Institut Pertanian Bogor, Pusat Penelitian Kimia Serpong dan Pusat Laboratorium Forensik Mabes Polri Jakarta. Waktu pelaksanaan penelitian bulan Agustus 2008 - Februari 2009.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah kayu pelanjau yang berasal dari daerah Batang Tarang, Kalimantan Barat dan pelarut etanol, n-heksan, dietil eter, etil asetat, kloroform serta air suling. Cendawan *T. mentagrophytes* dan *C. albicans*, bahan pembuatan media Sabouraud dextrose agar (SDA) yaitu Peptone, Dextrose dan Agar, obat anti cendawan Itrakonazol dan larutan McFarland's I. Untuk kolom kromatografi dipergunakan silika gel 60 F₂₅₄, *glasswool* dan untuk kromatografi lapis tipis (KLT) dipergunakan lempeng silika gel GF₂₅₄.

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain mesin penggiling, saringan berukuran 40-60 mesh, spatula, labu erlenmeyer, penguap putar, corong pisah, timbangan analitik, oven, gelas piala, cawan petri, tabung reaksi, inkubator, micropipet, kaliper dan kolom kromatografi. Untuk mengidentifikasi komponen kimia digunakan Spektrometri Proton dan Karbon NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) serta GC MS (*Gas Chromatography - Mass Spectroscopy*).

Metode penelitian

Persiapan contoh

Kayu pelanjau digiling menjadi serbuk menggunakan mesin penggiling dan dilewatkan pada *mesh screen* berukuran 40-60 mesh, kemudian dikering-udarkan sampai kadar air sekitar 15%.

Ekstraksi serbuk kayu

Sebanyak ± 2.000 gram serbuk kayu pelanjau dimasukkan ke dalam stoples dan direndam dengan pelarut etanol sehingga seluruh serbuk terendam dengan perbandingan serbuk dan pelarut adalah 1 : 5. Campuran ini diaduk sesering mungkin menggunakan spatula dan setelah 48 jam larutan ekstraksi tersebut disaring dengan kertas saring. Perlakuan tersebut dilakukan hingga diperoleh larutan ekstrak jernih sehingga dianggap semua zat ekstraktif sudah diperoleh. Selanjutnya, larutan ekstrak disimpan dalam wadah tertutup rapat.

Ekstrak etanol yang diperoleh selanjutnya diuapkan dengan penguap putar (*vacuum rotary evaporator*) pada suhu maksimum 40°C hingga diperoleh volume sebanyak 1 liter. Dari jumlah tersebut diambil 10 ml dan dimasukkan ke dalam labu erlenmeyer yang kering dan telah diketahui beratnya kemudian diuapkan dengan penguap putar hingga kering. Selanjutnya dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu 40-60°C. Kandungan ekstrak etanol

dihitung berdasarkan persentase berat padatan ekstrak etanol dengan berat kering tanur serbuk.

Dari 990 ml larutan ekstrak etanol yang tersisa, diambil sebanyak 500 ml dan diuapkan dengan penguap putar hingga diperoleh volume sebanyak 100 ml. Larutan ekstrak etanol yang kental tersebut selanjutnya dimasukkan ke dalam corong pisah (*funnel separator*), kemudian ditambahkan air suling sebanyak 20 ml dan pelarut n-heksan sebanyak 75 ml. Campuran ini selanjutnya dikocok dan dibiarkan sampai terjadi pemisahan antara pelarut etanol dengan n-heksan. Setelah terjadi pemisahan, fraksi terlarut n-heksan dipisahkan dari residu dan selanjutnya dimasukkan ke dalam botol dan ditutup rapat-rapat. Residu hasil fraksinasi dengan n-heksan yang tertinggal dalam corong pisah selanjutnya ditambahkan lagi dengan pelarut dietil eter sebanyak 75 ml, dikocok dan dibiarkan sampai terjadi pemisahan seperti halnya fraksinasi dengan n-heksan. Setelah terjadi pemisahan, fraksi terlarut dietil eter dipisahkan dan disimpan pada botol yang tertutup rapat.

Tahapan terakhir dari fraksinasi bertingkat ini adalah dengan menggunakan pelarut etil asetat. Residu hasil fraksinasi dengan pelarut dietil eter selanjutnya difraksinasi dengan pelarut etil asetat sebanyak 75 ml. Fraksinasi ini dilakukan sama seperti fraksinasi dengan tiga pelarut sebelumnya.

Larutan hasil fraksinasi bertingkat diuapkan pelarutnya dengan penguap putar pada suhu 40°C. Fraksi-fraksi yang diperoleh dikeringkan dengan oven pada suhu 40-60°C. Secara lebih jelas skema ekstraksi dan fraksinasi serbuk kayu pelanjau dapat dilihat pada Gambar 1.

Penentuan kadar zat ekstraktif

Kandungan zat ekstraktif pada tiap-tiap fraksi dihitung terhadap bobot kering oven berdasarkan rumus :

$$\text{Kadar Zat Ekstraktif} = \frac{W_a}{W_b} \times 100\%$$

Keterangan :

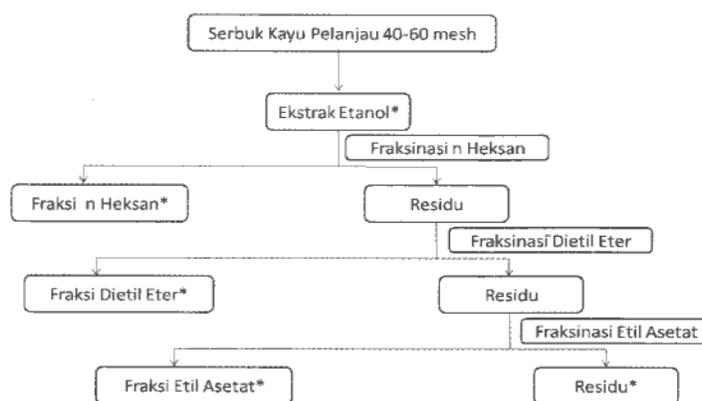
W_a = Berat padatan ekstrak (g)

W_b = Berat kering oven serbuk (g)

Uji aktivitas anti cendawan

a. Penentuan zona hambat

Aktivitas anti cendawan ekstrak kayu pelanjau dapat diketahui dengan metode difusi agar untuk penentuan zona hambat (Reezal *et al.*, 2002; Koselac *et al.*, 2005). Sebanyak 25±2 ml SDA sucihama disiapkan pada suhu 45-50°C agar tetap mencair. Media SDA tersebut dimasukkan ke dalam cawan petri (diameter 9 cm) dan kemudian diinokulasikan dengan satu mililiter dari suspensi 1-5 x 10⁶ CFU/ml *C. albicans* dan struktur miselia *T. mentagrophytes*. Satu percobaan dilakukan dalam cawan petri untuk



* Dilakukan uji terhadap cendawan *T. mentagrophytes* dan *C. albicans*

Gambar 1. Skema ekstraksi dan fraksinasi serbuk kayu pelanjau

satu jenis cendawan. Kerapatan inokulum diukur atau dibandingkan dengan larutan baku McFarland's I yang mempunyai kerapatan kira-kira 3×10^8 sel/ml.

SDA yang telah diinokulasi kemudian dibiarkan pada suhu ruangan selama maksimum 30 menit hingga agar memadat. Kemudian dibuat lubang berdiameter enam milimeter menggunakan tabung reaksi dan diisi dengan 60 μ l zat ekstrak kayu pelanjau dengan tingkat konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25 dan 30 mg/ml. Media diinkubasi pada suhu 4°C selama satu jam dan diinkubasi kembali pada suhu 25 - 27°C selama 48 jam untuk sel khamir *C. albicans* dan tujuh hari untuk *T. mentagrophytes*. Setelah masa inkubasi tercapai, zona hambat diukur dalam satuan milimeter.

b. Penentuan konsentrasi daya hambat minimum (*Minimum Inhibitory Concentration*, MIC) dan konsentrasi anti cendawan minimum (*Minimum Fungicidal Concentration*, MFC)

Konsentrasi daya hambat minimum (MIC) dan konsentrasi anti cendawan minimum (MFC) ditentukan dengan metode serial *two-fold dilution* (pengenceran ekstrak kelipatan dua secara berturut-turut) dalam SDA (Koselac *et al.*, 2005). Pada metode serial *two-fold dilution*, 10-15 ml SDA sucihama (yang disiapkan pada suhu 45-50°C agar tetap mencair) dimasukkan ke dalam cawan petri dan kemudian diinokulasi dengan satu mililiter dari suspensi $1-5 \times 10^6$ CFU/ml sel khamir *C. albicans* dan struktur miselia *T. mentagrophytes*. Satu percobaan dilakukan dalam cawan petri untuk satu jenis cendawan dan satu tingkat konsentrasi. Ke dalam cawan tersebut ditambahkan zat ekstrak kayu pelanjau pada beberapa tingkat konsentrasi yang dimulai dari konsentrasi 1.000 mg/ml sampai konsentrasi terendah yang hanya mengijinkan pertumbuhan cendawan tidak lebih dari 20%. Seluruh media yang diinokulasi diinkubasi pada suhu

25 - 27°C selama 48 jam untuk sel khamir *C. albicans* dan tujuh hari untuk *T. mentagrophytes*.

MIC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah zat ekstraktif yang menyebabkan pertumbuhan cendawan tidak lebih dari 20%. MFC didefinisikan sebagai konsentrasi terendah dari zat ekstraktif yang menghambat penuh pertumbuhan cendawan. Hasil yang diperoleh kemudian dibandingkan dengan obat baku anti cendawan.

Isolasi fraksi teraktif ekstrak kayu pelanjau dengan kolom kromatografi

Fraksi yang efektif sebagai anti cendawan untuk selanjutnya dilakukan pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 F₂₅₄ yang mempunyai ukuran partikel 0,063 sampai 0,200 mm. Sebelum pelaksanaan kromatografi kolom, dilakukan terlebih dahulu kromatografi lapis tipis (KLT) untuk mendapatkan eluen yang akan digunakan pada kromatografi kolom. KLT dilakukan dengan menggunakan lempeng silika gel GF₂₅₄. KLT dilakukan dengan menggunakan beberapa pelarut.

Kolom yang sudah dibersihkan dipasang pada statif secara tegak lurus. Kolom diberi *glasswool* pada bagian bawahnya dan diisi dengan sepertiga pelarut yang akan digunakan sebagai eluen. Kemudian dimasukkan silika gel yang telah direndam dengan eluen. Campuran silika gel tersebut dimasukkan ke dalam kolom sedikit demi sedikit agar diperoleh lapisan yang seragam. Eluen dibiarkan mengalir sehingga silika gel di dalam kolom menjadi padat dan permukaannya rata. Kolom digetar-getarkan untuk meningkatkan kepadatan dan penyebaran silika dalam kolom merata.

Ekstrak dilarutkan dalam pelarut yang digunakan sebagai eluen sebelum ekstrak dimasukkan ke dalam kolom. Campuran tersebut diaduk rata, kemudian campuran sedikit demi sedikit dimasukkan ke dalam

kolom sehingga merata di dalam suspensi silika gel. Eluen dialirkan ke dalam kolom. Masing-masing fraksi ditampung sebanyak 10 ml di dalam tabung reaksi. Pada fraksi yang diperoleh dilakukan pengecekan bercak atau spot menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Bila hasil pada lempeng KLT tidak kelihatan bercaknya, maka dilihat dengan menggunakan sinar UV (merk Heraeus). Fraksi yang mempunyai bercak kromatogram yang sama digabung menjadi satu. Apabila telah memperoleh bercak tunggal dan terbentuk kristal selanjutnya dilakukan identifikasi.

Identifikasi komponen kimia

Identifikasi dilakukan dengan menggunakan spektrometri Proton dan Carbon NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*, Resonansi Magnet Inti) untuk menentukan kedudukan hidrogen dan Carbon serta menggunakan GC MS (*Gas Chromatography - Mass Spectroscopy*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kandungan zat ekstraktif

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kandungan ekstrak etanol dari 1.855,98 gram serbuk kayu pelanjau (2.000 gram serbuk dengan kadar air 7,76%) adalah 130,6 gram atau 7,04%. Hasil dari fraksinasi tersebut secara lengkap tersaji pada Tabel 1. Kandungan zat ekstraktif kayu pelanjau ditentukan berdasarkan kelarutannya dalam pelarut yang digunakan untuk mengekstrak. Berdasarkan klasifikasi kelas komponen kimia kayu Indonesia (Anonim, 1976) kandungan zat ekstraktif kayu pelanjau yang larut dalam pelarut etanol termasuk tinggi, yaitu diatas 4%.

Tingginya kandungan zat ekstraktif kayu pelanjau diduga karena penggunaan pelarut etanol dalam proses ekstraksi. Menurut Phongpaichit *et al.* (2004)

etanol merupakan pelarut terbaik. Pelarut etanol secara efisien berpenetrasi ke dalam membran sel, sehingga diperoleh komponen endoseluler yang menyebabkan rendemen menjadi tinggi. Etanol melarutkan terutama senyawa-senyawa metabolit polar bersama-sama dengan senyawa dengan polaritas medium dan rendah (Silva *et al.*, 1998). Selain itu menurut Filho (2006) ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol sangat efektif dalam mengisolasi senyawa-senyawa bioaktif. Senyawa-senyawa yang dapat diikat oleh pelarut etanol antara lain *fixed oils*, lemak, lilin, alkaloid, lectin, quassinoid, flavon, poliphenol, tanin, saponin, aglikon dan glikosida (Houghton & Raman, 1998; Filho, 2006).

Tabel 1. Kandungan zat ekstraktif hasil fraksinasi ekstrak etanol kayu pelanjau

Jenis Fraksi	Berat Padatan Ekstrak (gram)	Kadar Ekstrak (%)
Fraksi n-Heksan	5,24	0,28%
Fraksi Dietil Eter	23,73	1,28%
Fraksi Etil Asetat	22,25	1,19%
Fraksi Residu	79,39	4,29%
Ekstrak Etanol	130,60	7,04%

Dari Tabel 1 terlihat bahwa fraksinasi ekstrak etanol kayu pelanjau memberikan hasil yang beragam. Fraksi residu (fraksi yang tidak larut dalam n-heksan, dietil eter dan etil asetat) memberikan hasil yang paling besar, diikuti oleh fraksi dietil eter, fraksi etil asetat dan fraksi n-heksan. Keragaman hasil fraksinasi tersebut dipengaruhi oleh pelarut serta keterlarutan senyawa-senyawa dalam pelarut yang digunakan. Fraksi n-heksan mengandung senyawa lemak, lilin dan *fixed oils (volatil oils)*, fraksi dietil eter mengandung senyawa lemak, lilin, alkaloid, terpena, terpenoid, caumarin, asam lemak, minyak, resin, asam resin, sterol, aglikon, alkohol alifatik tinggi dan fraksi etil asetat mengandung senyawa alkaloid, flavanoid, terpenoid, aglikon dan glikosida (Achmadi, 1990; Houghton dan Raman, 1998; Filho,

2006). Tingginya fraksi residu mengindikasikan bahwa ekstrak etanol kayu pelanjau lebih bersifat polar.

Aktivitas anti cendawan

Cendawan T. mentagrophytes

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu pelanjau dan fraksi-fraksinya (dietil eter, etil asetat dan residu) terkecuali fraksi n-heksan dapat menghambat pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes* (Gambar 2). Dari Gambar 2 terlihat bahwa fraksi residu memiliki daya hambat yang lebih tinggi yang ditunjukkan dengan zona hambatnya yang berkisar antara 2,2 - 5,3 mm, diikuti oleh fraksi dietil eter 2,23 - 4,73 mm dan fraksi etil asetat 2,21 - 3,47 mm, sedangkan untuk fraksi n-heksan pada seluruh tingkat konsentrasi yang diberikan tidak menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes*. Jika dibandingkan dengan obat baku anti cendawan Itrakonazol yang memiliki kisaran daya hambat antara 12,90 - 16,90 mm, maka seluruh fraksi ekstrak etanol kayu pelanjau mempunyai daya hambat yang rendah.

Efektivitas suatu zat ekstraktif dalam menghambat pertumbuhan cendawan ditentukan oleh nilai

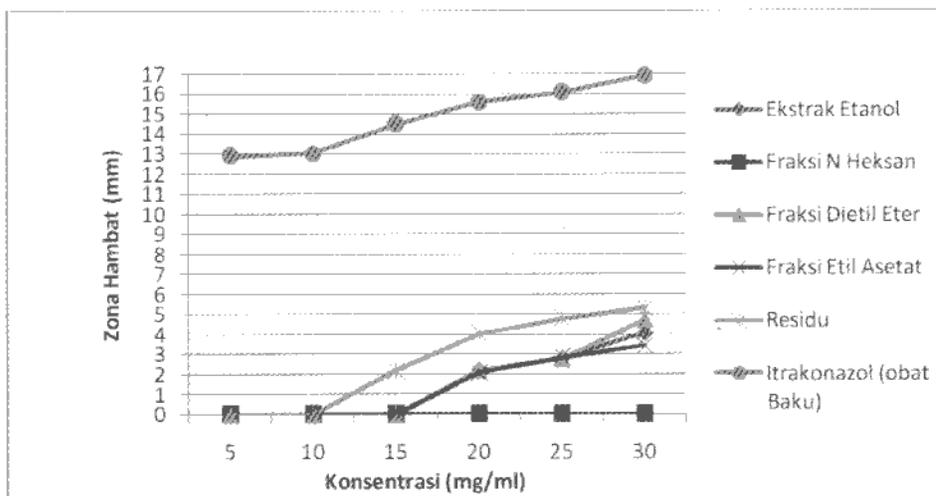
konsentrasi daya hambat minimum (MIC) dan konsentrasi anti cendawan minimum (MFC). Zat ekstraktif tergolong memiliki efektivitas tinggi jika nilai MIC berada dibawah 0,5 mg/ml, efektivitas sedang 0,6 - 1,5 mg/ml dan efektivitas rendah diatas 1,6 mg/ml (Tsuzuki *et al.*, 2007). Besarnya nilai MIC dan MFC dari masing-masing fraksi ekstrak etanol kayu pelanjau dalam menghambat pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes* disajikan pada Tabel 2.

Dari Tabel 2 tersebut terlihat bahwa fraksi residu memiliki nilai MIC dan MFC yang lebih rendah, diikuti oleh fraksi dietil eter dan etil asetat yang memiliki nilai yang sama, namun untuk fraksi n-heksan tidak dilakukan pengukuran dikarenakan pada skrining awal (uji daya hambat) tidak menunjukkan pengaruh dalam menghambat pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes*. Dikarena-

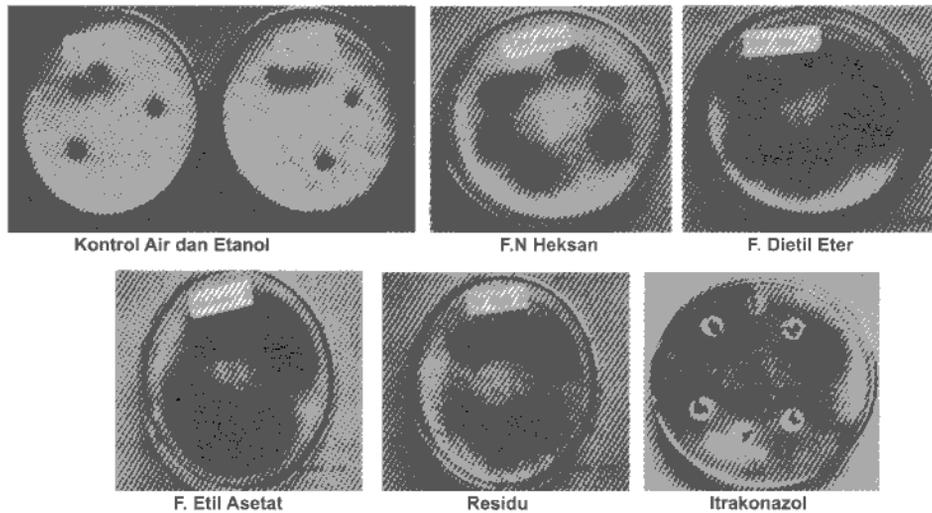
Tabel 2. MIC dan MFC ekstrak kayu pelanjau terhadap cendawan *T. mentagrophytes*

Cendawan	Fraksi	MIC (mg/ml)	MFC (mg/ml)
<i>T. mentagrophytes</i>	Ekstrak Etanol n Heksan	-	-
	Dietil Eter	3,91	7,81
	Etil Asetat	3,91	7,81
	Residu	1,95	3,91
	Itrakonazol*	0,49	0,98

*Obat baku anti cendawan



Gambar 2. Grafik zona hambat ekstrak kayu pelanjau terhadap cendawan *T. mentagrophytes*



Gambar 3. Zona hambat ekstrak kayu pelanjau terhadap cendawan *T. mentagrophytes* pada media SDA

kan fraksi residu memiliki nilai MIC dan MFC yang lebih rendah dari fraksi yang lain maka fraksi residu merupakan fraksi teraktif dari ekstrak etanol kayu pelanjau dalam menghambat pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes*, walaupun tergolong memiliki efektivitas yang rendah dengan nilai MIC yang lebih besar dari 1,6 mg/ml. Jika dibandingkan dengan obat baku anti cendawan Itrakonazol, nilai MIC dan MFC untuk setiap fraksi dari ekstrak etanol kayu pelanjau masih lebih tinggi.

Mekanisme utama dari zat ekstraktif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes* adalah dengan mempengaruhi secara langsung membran sel dan permeabilitasnya yang mengarah pada bocornya senyawa intraseluler (Latta *et al.*, 2003). Menurut Phongpaichit *et al.* (2004), pemberian zat ekstraktif terhadap cendawan mengakibatkan perubahan berupa berkerut dan rusaknya bentuk morfologi hifa dan makrokonidia cendawan tersebut. Fenomena ini dapat terjadi karena bocornya dinding sel atau mungkin beberapa perubahan pada permeabilitas membran yang mengakibatkan terjadinya kehilangan sitoplasma.

Komponen utama struktur dinding sel cendawan adalah (1,3)- β - dan (1,6)- β -glucan, khitin dan

manoprotein (Zacchino *et al.*, 2003). Sel cendawan dibungkus oleh dinding sel berkarbohidrat sebagai batas pelindung sel yang sangat penting bagi pertumbuhan dan kelangsungan hidup cendawan sedangkan manoprotein mungkin memainkan peran yang berbeda yaitu untuk menjaga keseluruhan arsitektur dinding sel (Latta *et al.*, 2003). (1,3)- β -glucan sangat penting untuk pertumbuhan normal dan perkembangan cendawan. Polimerisasi (1,3)- β -glucan dikatalis dengan bantuan enzim sintase (1,3)- β -glucan. Diperkirakan senyawa yang terdapat dalam suatu zat ekstraktif dapat menghambat sintesis polimer dinding sel dengan menghambat kerja enzim sintase (1,3)- β -glucan (Zacchino *et al.*, 2003).

Diduga senyawa yang terkandung dalam fraksi residu mempunyai kemampuan yang lebih besar jika dibandingkan dengan fraksi dietil eter maupun fraksi etil asetat untuk mempengaruhi membran sel cendawan *T. mentagrophytes* yang berdampak pada terganggunya permeabilitas membran sel dan hilangnya sitoplasma, atau menghambat kerja enzim sintase (1,3)- β -glucan untuk melakukan polimerisasi membentuk (1,3)- β -glucan yang sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan normal

cendawan sehingga pertumbuhan cendawan *T. mentagrophytes* menjadi terhambat.

Cendawan *C. albicans*

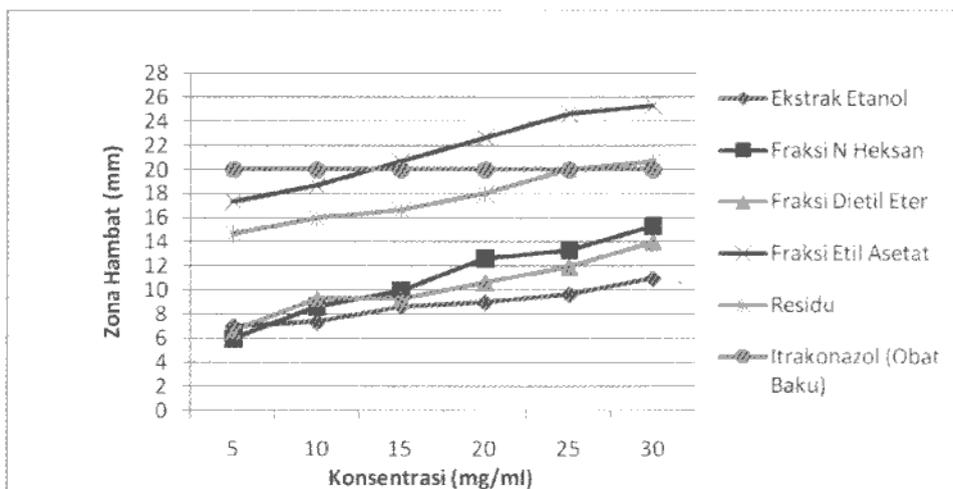
Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu pelanjau dan fraksi-fraksinya memberikan daya hambat terhadap pertumbuhan cendawan *C. albicans* (Gambar 4). Dari Gambar 4 terlihat bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi ekstrak maka semakin besar pengaruhnya dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans*. Fraksi etil asetat memberikan pengaruh yang paling besar dengan zona hambat berkisar antara 17,33 - 25,33 mm, diikuti oleh fraksi residu 14,67 - 20,67 mm, fraksi n-heksan 6,00 - 15,33 mm dan fraksi dietil eter 6,67 - 14 mm. Jika dibandingkan dengan obat baku anti cendawan Itrakonazol yang memiliki zona hambat yang sama pada setiap konsentrasi (20 mm), maka fraksi etil asetat dan fraksi residu dapat menyamai zona hambat Itrakonazol pada konsentrasi 15 dan 25 mg/ml, dan zona hambatnya menjadi lebih tinggi seiring dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak yang diberikan. Untuk fraksi n-heksan dan fraksi dietil eter daya hambat terhadap pertumbuhan cendawan *C. albicans* jauh di bawah obat baku.

Besarnya nilai konsentrasi daya hambat minimum (MIC) dan konsentrasi anti cendawan minimum (MFC) dari masing-masing fraksi ekstrak etanol kayu pelanjau dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans* secara lengkap disajikan pada Tabel 3. Dari Tabel 3 terlihat bahwa fraksi etil asetat memiliki nilai MIC dan MFC yang lebih rendah jika dibandingkan dengan fraksi residu, fraksi n-heksan maupun fraksi dietil eter. Secara keseluruhan, setiap fraksi dari ekstrak etanol kayu pelanjau memiliki efektivitas yang tinggi dikarenakan nilai MIC-nya lebih rendah dari 0,5 mg/ml dan fraksi etil asetat merupakan fraksi teraktif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans* dengan nilai MIC dan MFC terendah. Jika dibandingkan dengan obat baku anti cendawan Itrakonazol, fraksi etil asetat dan fraksi residu memiliki nilai MIC dan MFC yang lebih rendah sedangkan fraksi n-heksan dan dietil eter masih lebih tinggi.

Tabel 3. MIC dan MFC ekstrak kayu pelanjau terhadap cendawan *C. albicans*

Cendawan	Fraksi	MIC (mg/ml)	MFC (mg/ml)
<i>C. albicans</i>	Ekstrak Etanol	0,98	1,95
	n Heksan	0,49	0,98
	Dietil Eter	0,49	0,98
	Etil Asetat	0,03	0,06
	Residu	0,06	0,12
	Itrakonazol*	0,25	0,49

*Obat baku anti cendawan



Gambar 4. Grafik zona hambat ekstrak kayu pelanjau terhadap cendawan *C. albicans*

Hasil penelitian menunjukkan bahwa *C. albicans* merupakan khamir yang sangat sensitif jika dibandingkan dengan *T. mentagrophytes* yang merupakan dermatofita. Menurut Wolski dan Glowniak (2003) keragaman dalam sensitifitasnya mungkin dikarenakan beragamnya permeabilitas dari dinding spora atau miselia dari cendawan yang diuji, namun diduga zat ekstraktif bertindak sebagai zat inhibitor karena kemampuannya untuk berpenetrasi ke dinding sel cendawan. Menurut Chuang *et al.* (2007), senyawa yang terkandung dalam zat ekstraktif menyebabkan pecahnya membran sitoplasma sel cendawan sehingga komponen intraseluler mengalami kerusakan, namun komponen intraseluler tersebut tidak keluar dari dalam membran sel. Senyawa yang terkandung dalam zat ekstraktif berinteraksi dengan dua lapisan lipid yang terdapat dalam membran mengarah pada terpisahnya membran menjadi dua yaitu membran luar dan membran dalam. Selanjutnya air masuk ke dalam sel yang menyebabkan sel menjadi mengembang dan mengarah pada kematian sel cendawan.

Selain itu, seperti telah dijelaskan pada bagian cendawan *T. mentagrophytes*, secara umum komponen utama dari struktur dinding sel cendawan adalah (1,3)- β - dan (1,6)- β -glucan, khitin dan manoprotein. (1,3)- β -glucan sangat penting untuk pertumbuhan normal dan perkembangan cendawan karena polimerisasi (1,3)- β -glucan dikatalisir dengan bantuan enzim sintase (1,3)- β -glucan. Diperkirakan bahwa senyawa yang terdapat dalam suatu zat ekstraktif dapat bertindak menghambat sintesis polimer dinding sel dengan menghambat kerja enzim sintase (1,3)- β -glucan (Zacchino *et al.*, 2003).

Diduga senyawa yang terkandung dalam fraksi etil asetat mempunyai kemampuan yang lebih besar dibandingkan dengan fraksi residu, fraksi n-heksan dan fraksi dietil eter untuk memecah membran sito-

plasma sel cendawan *C. albicans* yang menyebabkan masuknya air ke dalam sel sehingga sel menjadi mengembang yang berdampak pada matinya sel cendawan atau menghambat kerja enzim sintase (1,3)- β -glucan untuk melakukan polimerisasi membentuk (1,3)- β -glucan yang sangat penting bagi pertumbuhan dan perkembangan cendawan sehingga pertumbuhan cendawan *C. albicans* menjadi terhambat.

Isolasi dan identifikasi fraksi teraktif

Isolasi fraksi teraktif etil asetat

Penentuan fraksi teraktif berdasarkan pada efektivitas dari ekstrak etanol kayu pelanjau dalam menghambat pertumbuhan cendawan *T. Mentagrophytes* dan *C. albicans*. Dari hasil penelitian terlihat bahwa ekstrak etanol kayu pelanjau lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans* daripada cendawan *T. mentagrophytes* dengan fraksinya etil asetat.

Isolasi fraksi teraktif etil asetat menggunakan kolom kromatografi. Fraksi etil asetat yang dipisahkan sebanyak 2 gram dengan eluen n-heksan-etil asetat. Pemisahan ini menghasilkan sembilan fraksi yang dinamakan dengan senyawa EA1-EA9. Pada fraksi 6 (senyawa EA6), menghasilkan warna kecoklatan (warna lebih dominan), namun menghasilkan 2 bercak atau spot kromatogram sehingga dilakukan pemisahan kembali dengan eluen kloroform-etil asetat. Pemisahan ini menghasilkan tiga fraksi yang dinamakan dengan senyawa EA6a-EA6c dan dari hasil KLT menunjukkan bercak kromatogram tunggal. Dari ketiga fraksi tersebut, fraksi 1 (senyawa EA6a) dan fraksi 3 (senyawa EA6c) lebih dominan sehingga kedua fraksi tersebut untuk selanjutnya dilakukan identifikasi menggunakan interpretasi spektrum proton dan karbon NMR serta GC MS.

Penentuan senyawa fraksi EA6a

Berdasarkan identifikasi dengan menggunakan spektrum proton (^1H NMR) dan Carbon (^{13}C NMR), diduga komponen utama dari fraksi EA6a adalah Asam 2-Hidroksioktadekanoat ($\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_3$) dengan berat molekul 300. Adapun struktur molekulnya disajikan pada Gambar 5. Hasil interpretasi spektrum GC MS menggunakan NIST (*National Institute of Standard and Technology*) Library menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi EA6a bukan senyawa tunggal melainkan terdiri dari beberapa senyawa yang didominasi oleh senyawa asam lemak dan sebagian kecil senyawa fenol yang secara lebih jelas disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Beberapa senyawa asam lemak dan fenol yang terdapat dalam fraksi EA6a hasil identifikasi GC MS

No	Nama Senyawa	Berat Molekul	Waktu Retensi
1	Vanilin	152	3,15
2	Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)	164	3,52
3	Hexadecanoic acid	284	7,39
4	Ethyl oleate	310	8,46
5	Octadecanoic acid	312	8,63



Gambar 5. Struktur molekul senyawa Asam 2-Hidroksioktadekanoat ($\text{C}_{18}\text{H}_{36}\text{O}_3$)

Dari hasil interpretasi spektrum resonansi magnet inti Proton (Hidrogen) (^1H NMR), Carbon (^{13}C NMR) dan GC MS menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi EA6a (senyawa EA6a) adalah Asam 2-Hidroksioktadekanoat, Asam Oktadekanoat, Asam Heksadekanoat dan Etyl Oleat yang merupakan senyawa dari golongan asam lemak, Vanilin dan Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl) yang merupakan senyawa dari golongan fenol.

Ekstrak dari daun *Excoecaria agallocha* (*blind-your-eye Mangrove*) yang kandungan utamanya

adalah asam lemak mempunyai aktivitas terhadap beberapa jenis cendawan *Candida*, seperti *C. albicans*, *Candida crusei*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis* (Agoromoorthy *et al.*, 2007). Menurut Deak (2008), vanilin dapat menghambat pertumbuhan mikroba, yang pada konsentrasi 0,2% dapat menghambat pertumbuhan khamir seperti *Saccharomyces cerevisiae*, *Zygosaccharomyces bailii*, *Zygosaccharomyces rouxii* dan *Debaryomyces hansenii*. Selain itu, sifat umum dari senyawa fenol sederhana adalah sebagai bakterisida, antiseptik dan anthelmentika dan senyawa fenol itu sendiri digunakan sebagai baku untuk agen antimikroba (Pengelly, 1999).

Dari beberapa ekstrak tanaman lain yang mempunyai aktivitas anti mikroba dengan kandungan utama asam lemak maupun fenol, maka diduga senyawa asam lemak dan fenol yang terkandung dalam ekstrak kayu pelanjau juga efektif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans*. Adanya senyawa Asam 2-Hidroksioktadekanoat, Asam Oktadekanoat, Asam Heksadekanoat dan Etyl Oleat yang merupakan senyawa dari golongan asam lemak diduga menyebabkan lingkungan dalam sistem membran cendawan menjadi lebih asam. Menurut Sayuti *et al.* (2006), keadaan asam pada sistem membran menyebabkan pertumbuhan cendawan menjadi terhambat. Selain itu adanya penggunaan senyawa fenol sebagai baku antimikroba, maka diduga senyawa Vanilin dan Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl) yang merupakan senyawa dari golongan fenol berperan besar dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. Albicans*.

Penentuan senyawa fraksi EA6c

Hasil spektrum resonansi magnet inti Proton (^1H NMR) dan Carbon (^{13}C NMR) pada fraksi EA6c hanya menunjukkan satu puncak pergeseran sehingga hasilnya tidak dapat diinterpretasikan.

Hasil interpretasi spektrum GC MS menggunakan NIST (*National Institute of Standard and Technology*) Library menunjukkan bahwa senyawa yang terkandung dalam fraksi EA6c bukan senyawa tunggal melainkan terdiri dari beberapa senyawa yang didominasi oleh senyawa fenol (Tabel 5).

Tabel 5. Beberapa senyawa fenol yang terdapat dalam fraksi EA6c hasil identifikasi GC MS

No	Nama Senyawa	Berat Molekul	Waktu Retensi
1	Phenol, 4-(1,1 dimetylpropyl)	164	5,07
2	Nonylphenol isomer	220	5,74
3	Phenol, 4-(1,1,2,2-tetrametyl-butyl)	206	5,32
4	Nonylphenol mix isomer	220	5,79
5	4-Nonylphenol	220	5,40

Kelompok senyawa fenol dan polifenol dengan sifat anti cendawan yang ditemukan di dalam tanaman obat, antara lain fenol sederhana, asam fenol, quinon, flavonoid, flavon, flavonol, tanin dan caumarin (Sthayeh *et al.*, 2003; Abad *et al.*, 2007). Beberapa tumbuhan, seperti *Baseonema acuminatum*, *Lycium chinense*, *Pulicaria odora*, *Croton hutchinsonianus* dan *Pinus pinaster* yang mengandung senyawa fenolik sederhana dan asam fenol, mempunyai aktivitas dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans* (Abad *et al.*, 2007). Dengan adanya aktivitas anti cendawan dari beberapa tanaman lain yang mengandung senyawa fenol dan penggunaan fenol sebagai baku antimikroba maka diduga senyawa fenol yang terdapat di dalam ekstrak kayu pelanjau (*Pentaspadon motleyi*) juga efektif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans*.

Diketahuinya senyawa fenol lain berupa *Vanilin*, *Phenol, 2-methoxy-4-(1-propenyl)*, *Phenol, 4-(1,1 dimetylpropyl)*, *Nonylphenol isomer*, *Phenol, 4-(1,1, 2,2-tetrametylbutyl)*, *Nonyl-phenol mix isomer* dan *4-Nonylphenol* menambah daftar senyawa fenol yang terkandung dalam kayu pelanjau yang selama ini

mungkin belum teridentifikasi. Untuk kayu pelanjau (*Pentaspadon motleyi* Hook.f) sudah teridentifikasi satu senyawa, yaitu *Asam 2-Hepta-decyl-6-hidroksibenzoat* ($C_{24}H_{36}O_3$) dengan berat molekul 372,266 (Anonim, 2006).

Menurut Wiart (2006), famili Anacardiaceae yang terdiri dari 60 genus dan 600 spesies diketahui menghasilkan tanin dan senyawa fenol, seperti kayu *Anacardium melanorrhoea* dan *Gluta rhengas* dengan komponen bioaktifnya adalah senyawa phenol urushiol, cardol dan asam anacardic. Teridentifikasinya senyawa fenol dalam kayu pelanjau yang merupakan famili Anacardiaceae menunjukkan bahwa famili Anacardiaceae merupakan penghasil senyawa fenol dan diduga sebagai komponen bioaktif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans*.

KESIMPULAN

1. Kayu pelanjau (*Pentaspadon motleyi*) mengandung 7,04% ekstrak etanol yang terdiri dari 0,28% fraksi n-heksan, 1,28% fraksi dietil eter, 1,19% fraksi etil asetat dan 4,29% fraksi residu.
2. Dari hasil pengujian aktivitas anti cendawan menunjukkan bahwa ekstrak etanol kayu pelanjau lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan cendawan *C. albicans* dibandingkan cendawan *T. mentagrophytes* dengan fraksinya etil asetat. Adapun zona hambat, MIC dan MFC-nya yaitu 17,33 - 25,33 mm (0,03 dan 0,06 mg/ml).
3. Hasil isolasi dan identifikasi fraksi teraktif etil asetat mendapatkan senyawa EA6a yang diduga berkomponen utama golongan asam lemak dan fenol berupa *Asam 2-Hidroksioktadekanoat*, *Asam Oktadekanoat*, *Asam Heksadekanoat*, *Etyl Oleat*, *Vanilin* dan *Phenol, 2-methoxy-4-(1-*

propenyl) dan senyawa EA6c yang diduga berkomponen utama golongan fenol berupa *Phenol*, *4-(1,1 dimetylpropyl)*, *Nonylphenol isomer*, *Phenol,4-(1,1,2,2-tetrametylbutyl)*, *Nonyl-phenol mix isomer* dan *4-Nonylphenol*.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmadi SS. 1990. Kimia Kayu. Departemen Pendidikan dan Kebudayaan Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat Antar Universitas Ilmu Hayat IPB, Bogor. 13-14 hlm.
- Abad MJ, Ansuategui M, & Bermejo P. 2007. Active Antifungal Substances from Natural Sources. *Arkivoc* 7: 116-145.
- Agoromoorthy G, Chandrasekaran M, Venkatesalu V, & Hsu MJ. 2007. Antibacterial and Antifungal Activities of Fatty Acid Methyl Ester of the Blind-Your-Eye Mangrove from India. *Brazilian Journal of Microbiology* 38:739-742.
- Al Hasan M, Fitzgerald SM, Saoudian M, & Krishnaswarny. 2004. Dermatology for the Practicing Alergist : Tinea Pedis and its complications. *BioMed Central, Clinical and Molecular Allergy* 2 : 1-11
- Anonim. 1976. Vademikum Kehutanan Indonesia. Departemen Pertanian Direktorat Jendral Kehutanan, Jakarta. 45 hlm
- Anonim. 2006. Dictionary of Natural Product on CD Rom Version 14:2. Chapman and Hall/CRC
- Chuang PH, Lee CW, Chou JY, Murugan M, Shieh BJ, & Chen HM. 2007. Antifungal Activity of Crude Extracts and Essenstial oil of *Moringan oleifera* Lam. *Bioresource Technology* 98: 232-236
- Deak T. 2008. Handbook of Spoilage Yeasts. CRC Press, Boca Raton. 123 hlm
- Filho M. 2006. Bioactive Phytocompounds : New Approaches in the Phytosciences. *Dalam* Modern Phytomedicine. Iqbal Ahmad, Farrukh Aqil dan Mohammad Owais (Ed). Wiley-VCH, Germany
- Houghton PJ & Raman A. 1998. Laboratory Handbook for the Fractionation of Natural Extracts. Chapman & Hall, London. 39-44 hlm
- Heyne K. 1987. Tumbuhan Berguna Indonesia Jilid II. Jakarta : Badan Litbang Kehutanan.1233-1244 hlm
- Koselac I, Pepeljnjak S, & Kustrak D. 2005. Antifungal Activity of Fluid Extract and Essensial Oil from Anise Fruit (*Pimpinella anisum* L., Apiaceae). *Acta Pharm.* 55: 377:385
- Latta PG, Abraham A, Suja SR, & Rajasekharan S. 2003. Current State and Future Directions in Plant-Derived Antimycotics. *Dalam* Plant-Derived Antimycotics Current trends and Future Prospect. Mahendra Rai dan Donatella Mares (Ed). Food Product Press, New York. 223-228 hlm
- Molero G, Rosalía DO, Federico NG, Lucía M, Jesús P, Concha G, Miguel SP, & César N. 1998. *Candida albicans*: genetics, dimorphism and pathogenicity. *Internatl Microbiol.* 1:95-106
- Pengelly A. 1999. The Constituents of Medicinal Plants an Introduction to the Chemistry and Therapeutics of Herbal Medicine. Sunflower Herbal, England. 7-19 hlm
- Phongpaichit S, Pujenjob N, Rukachaisirikul V, & Ongsakul M. 2004. Antifungal Activity from Leaf Extracts of *Cassia alata* L., *Cassia fistula* L. and *Cassia tora* L. *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, 26(5) : 741-748
- Reezal, Somchit MN, & Rahim MA. 2002. In Vitro Antifungal Properties of *Cassia alata* (Gelanggang Besar). Proceeding of the Symposium on Environment and Natural Resources Malaysia. 1 : 654-659
- Sayuti I, Martina A, & Sukma GE. 2006. Kepekaan Jamur Trichophyton Terhadap Obat Salep Krim dan Obat Tingtur. *Jurnal Biogenesis* 2(2): 51-54
- Silva GL, Lee IK, & Kinghorn AD. 1998. Special Problems with the Extraction of Plants. *Dalam* Natural products Isolation. Richard J P Cannell (Ed). Humana Press Inc, New Jersey. 343-364 hlm
- Sthayeh MSA, Zayed RAG, & Jamous RMF. 2003. Palestinian Plant as a Source of Antimycotics. *Dalam* Plant-Derived Antimycotics Current trends and Future Prospect. Mahendra Rai dan Donatella Mares (Ed). Food Product Press, New York. 399-428 hlm
- Tsuzuki JK, Svidzinski TIE, Shinobu CS, Silva LFA, Filho ER, Cortez DAG, & Ferreira ICP. 2007. Antifungal Activity of the Extracts and Saponin from *Sapindus saponaria* L. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias* 79(44): 577-583
- Wuart C. 2006. Medicinal plants of Asia and the Pacific. CRC Press, Boca Raton. 177-182 hlm

Zacchino SA, Yunes RA, Filho VC, Enriz RD, Kouznetsov V, & Ribas JC. 2003. The Need for New Antifungal Drugs: Screening for Antifungal Compounds with a Selective Mode of Action with Emphasis on the Inhibitors of the Fungal Cell Wall. *Dalam* Plant-Derived Antimycotics Current trends and Future Prospect. Mahendra Rai dan Donatella Mares (Ed). Food Product Press, New York. 1-48 hlm