

AKTIVITAS ANTIFUNGI FLAVONOID DARI EKSTRAK DAUN *Citrus aurantifolia* KALIMANTAN SELATAN TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans*

Siska Musiam*, Fitria Ulfah, Imam Agus Faisal, Eka Kumalasari, Riza Alfian,
Akademi Farmasi ISFI Banjarmasin

*E-mail: siska.musiam@gmail.com

ABSTRAK

Candida albicans adalah jamur paling mudah menginfeksi yang menyebabkan banyak penyakit seperti infeksi mulut, infeksi saluran kemih, dan infeksi saluran pencernaan. Salah satu alternatif untuk menyembuhkan penyakit jamur adalah menggunakan ramuan herbal yang mengandung senyawa flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan strain *Candida albicans*. *Citrus aurantifolia* adalah salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai penambah nafsu makan, antipiretik, diare, menurunkan berat badan, antiinflamasi, dan antibakteri. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kandungan senyawa flavonoid yang ada pada daun *Citrus aurantifolia* dan kemampuannya untuk menghambat pertumbuhan strain *Candida albicans* menggunakan metode in-vitro. Pada penelitian ini, senyawa flavonoid dalam daun *Citrus aurantifolia* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Penentuan kadar flavonoid dilakukan menggunakan spektrofotometri UV-Visible dengan panjang gelombang 417 nm dan diperoleh kadar 34,42% (b/v). Kelompok perlakuan aktivitas antifungi menggunakan ekstrak etanol daun *Citrus aurantifolia* dengan konsentrasi 50%; 60%; 70%; 80%; 90%; dan 100%. Uji daya hambat *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan metode difusicakram. Hasil penelitian menunjukkan konsentrasi 80%, 90% dan 100% memiliki aktivitas antifungi dengan rata-rata zona hambat masing-masing 3,36 mm; 4,08 mm; dan 8,30 mm.

Kata kunci: aktivitas antifungi, flavonoid, *Citrus aurantifolia*, *Candida albicans*

ABSTRACT

Candida albicans is considered as the most infectious fungal that cause many disease such as oral infections, urinary tract infections, and gastrointestinal infections. One of the alternative to cure fungal disease is using herbal ingredients which contains flavonoid compounds that can inhibits the growth of *Candida albicans* strain. *Citrus aurantifolia* is one of the medicinal plants which used as an appetite enhancer, antipyretic, diarrhea, lose weight, antiinflammatory, and antibacterial. The aim of this research is to find out the content of flavonoid compounds that exist in *Citrus aurantifolia* leaves and its capability to inhibit the growth of *Candida albicans* strain using in-vitro method. In this study, flavonoid compounds in *Citrus aurantifolia* leaves extracted by maseration method using ethanol as solvent. Determination of flavonoid levels was carried out using UV-Visible spectrophotometry with a wavelength of 417 nm and obtained levels of 34.42%(b/v). The treatment group of antifungal activity were used concentration of 50%; 60%; 70%; 80%; 90%; and 100% of ethanol extract of *Citrus aurantifolia* leaves. Inhibition capability tests was done

using disc diffusion method. The result shows the concentration of 80%, 90% and 100% have antifungal activity with average inhibit zone respectively 3.36 mm; 4.08 mm; and 8.30 mm.

Keywords: antifungal activity, flavonoid, *Citrus aurantifolia*, *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Indonesia adalah salah satu negara yang memiliki keanekaragaman hayati terbesar di dunia. Dari 40.000 jenis flora yang ada di dunia, ada 30.000 spesies yang ditemukan di Indonesia dan 940 di antaranya dikenal berkhasiat sebagai obat dan telah digunakan dalam pengobatan tradisional selama beberapa generasi oleh berbagai kelompok etnis di Indonesia^{1,2}. Setiap tanaman obat memiliki berbagai zat kimia. Ini sangat banyak dipengaruhi oleh berbagai faktor, beberapa di antaranya adalah daerah asal tanaman dan kondisi untuk menanam tanaman³. Faktor-faktor ini perlu diperhitungkan untuk memastikan kualitas tanaman obat yang diinginkan⁴.

Citrus aurantifolia Swingle adalah salah satu tanaman obat keluarga yang digunakan di masyarakat, baik untuk rempah-rempah dan untuk obat-obatan. Untuk pengobatan, *Citrus aurantifolia* digunakan sebagai penambah nafsu makan, antipireutik, diare, drainase tubuh, anti-inflamasi, dan antibakteri⁵.

Penggunaan daun *Citrus aurantifolia* sebagai obat tradisional berkaitan erat dengan bahan aktifnya⁶. Salah satu bahan aktif yang dimiliki oleh daun *Citrus aurantifolia* adalah flavonoid⁷. Daun *Citrus aurantifolia* diketahui memiliki flavonoid yang berbeda pada daun muda, sedang dan tua⁸. Hasanudin et al. (2012) melaporkan bahwa intensitas sinar matahari, nutrisi dan usia panen mempengaruhi kandungan fenolik dan flavonoid tanaman⁹.

Indonesia juga dikenal sebagai negara tropis dengan udara lembab dan panas, di mana jamur akan berkembang pesat dibandingkan dengan iklim lainnya. Infeksi jamur mudah menyerang jika kebersihan dan kesehatan tidak diperhatikan. Salah satu jamur yang mudah menyerang adalah *Candida albicans*¹⁰. *Candida albicans* adalah jamur yang paling sering menyebabkan penyakit seperti infeksi mulut, infeksi saluran kemih, infeksi saluran pencernaan, dan infeksi kulit¹¹. Jika tidak segera diobati, infeksi dari jamur *Candida albicans* dapat menjadi mutasi sel baru sehingga dapat menyebabkan perkembangan

kanker¹². Salah satu cara alternatif untuk mengobati jamur adalah dengan menggunakan obat tradisional. Saat ini masyarakat mulai memprioritaskan penggunaan jamu. Beberapa penelitian tentang antifungi alami yang efektif melawan infeksi jamur telah dilakukan. Salah satu tanaman yang telah diteliti adalah *Citrus aurantifolia*¹³. Berdasarkan penelitian Jumar (2013) pada uji efektivitas ekstrak etanol *Citrus aurantifolia* dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231 secara in-vitro menyatakan bahwa ekstrak memiliki efektifitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*¹⁴.

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antifungi potensial senyawa flavonoid dari ekstrak etanol daun *Citrus aurantifolia* pada pertumbuhan *Candida albicans* menggunakan metode in-vitro. Penentuan kadar flavonoid dilakukan dengan menggunakan spektrofotometri UV-Visible dengan kuersetin sebagai larutan standar dan panjang gelombang 417 nm. Uji daya hambat dilakukan dengan menggunakan metode difusi cakram dan dibandingkan dengan ketokonazol sebagai standar.

METODE PENELITIAN

Ekstraksi Flavonoid dari Daun *Citrus aurantifolia* Kalimantan Selatan

Sekitar 1 kg daun *Citrus aurantifolia* segar dicuci dan dikeringkan, kemudian dijemur di bawah terik matahari dengan kain hitam untuk mendapatkan simplisia kering. Sebanyak 180 gram bubuk simplisia daun *Citrus aurantifolia* dimasukkan ke dalam bejana maserasi, tambahkan 720 mL etanol 96% pelarut. Serbuk simplisia daun *Citrus aurantifolia* direndam selama 6 jam pertama sambil diaduk, lalu diamkan selama 18 jam. Kemudian proses penyaringan dilakukan menggunakan corong Buchner. Residu yang diperoleh diremaserasi sampai pelarut yang digunakan jenuh. Filtrat yang diproduksi dengan cara maserasi dan remaserasi dikumpulkan dan diuapkan menggunakan *vacuum rotary evaporator* pada suhu pemanasan 40-50°C sampai diperoleh ekstrak cair. Ekstrak cair kemudian dikentalkan menggunakan *waterbath*¹⁵.

Untuk menguji bahwa semua pelarut etanol yang terkandung dalam ekstrak telah diuapkan maka dilakukan uji keberadaan etanol. Sebanyak 2 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung

reaksi, ditambahkan KCl dan H₂SO₄ pekat. Jika warna hijau terbentuk menunjukkan bahwa etanol masih ada. Ekstrak diuapkan lagi untuk menghilangkan kandungan etanol yang masih ada. Kemudian uji kualitatif flavonoid dilakukan untuk melihat apakah senyawa flavonoid berhasil diekstraksi. Sebanyak 2 ml sampel ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 3-5 tetes HCl dan Pb asetat pekat. Jika warna hijau terbentuk menunjukkan adanya flavonoid¹⁶.

Uji Kuantitatif Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun *Citrus aurantifolia* Kalimantan Selatan

Larutan kuersetin 1000 ppm digunakan sebagai standar. Larutan tersebut kemudian diencerkan menjadi 20; 40; 60; 80; dan 100 ppm, masing-masing ditambahkan 3 ml etanol 70%, AlCl₃ 0,2 ml, asam asetat 0,2 ml, dan air suling 5,6 ml. Panjang gelombang serapan maksimum dari larutan kuersetin diukur dengan spektrofotometer UV-Visibel dalam kisaran 300 - 600 nm¹⁷. Penentuan *operating time* dilakukan dengan mengukur absorbansi larutan setiap 1 menit sampai diperoleh nilai absorbansi yang stabil. Hasil pengukuran serapan seri larutan standar kemudian dibuat kurva dengan

nilai konsentrasi sebagai sumbu x dan serapan sebagai sumbu y¹⁸. Dari kurva standar diperoleh persamaan regresi linier $y = bx + a$ yang akan digunakan dalam menentukan kadar flavonoid.

Untuk penentuan kadar flavonoid dibuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 100 ppm, dipipet sebanyak 1 ml, ditambahkan 3 ml etanol 70%, 0,2 ml AlCl₃, 0,2 ml asam asetat 1 M, dan 5,6 ml akuades. Larutan kemudian diinkubasi selama *operating time* dan absorbansi diukur pada panjang gelombang maksimum. Nilai absorbansi yang diperoleh dimasukkan sebagai nilai y dalam persamaan regresi linier sehingga kadar flavonoid diperoleh sebagai nilai x.

Uji Daya Hambat Flavonoid dari Ekstrak Etanol Daun *Citrus aurantifolia* terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* dengan Metode in-vitro

Alat gelas disterilkan menggunakan oven pada suhu 150°C selama 120 menit. Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dibuat dengan melarutkan 6,5 gram bubuk SDA ke dalam 100 mL akuades steril dan disterilkan pada 121°C selama 15 menit. Setelah itu media dituang sebanyak 20 mL ke dalam cawan petri

dan dibiarkan mengeras. Kultus biakan murni *Candida albicans* diambil sebanyak 2 ose dan disuspensikan dengan 2 mL akuades steril untuk membentuk kekeruhan menurut standar kekeruhan Mc Farland.

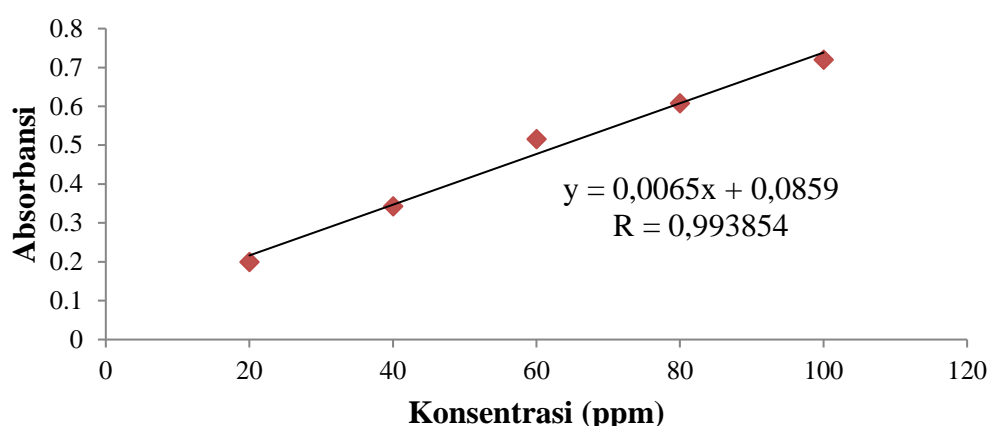
Sebanyak 0,1 ml suspensi *Candida albicans* didistribusikan secara homogen ke media SDA. Kertas cakram direndam dalam ekstrak dengan konsentrasi 50; 60; 70; 80; 90; 100 ppm; kontrol negatif akuades steril; dan kontrol positif ketokonazol. Setiap perlakuan ditempatkan pada media yang telah disebarkan dengan *Candida albicans*, diinkubasi selama 24 jam pada suhu 30°C. Zona bening yang terbentuk di sekitar cakram kertas diukur sebagai diameter zona hambatan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses pengeringan daun *Citrus aurantifolia* untuk memperoleh simplisia kering berlangsung selama 2 hari. Simplisia kering yang diperoleh adalah 520 gram dari total 1 kg sampel basah. Setelah melalui proses penyerbukan diperoleh serbuk simplisia sebanyak 180 gram. Proses ekstraksi senyawa flavonoid daun *Citrus aurantifolia* dilakukan hingga 3 kali remaserasi. Hasil maserasi dari perendaman pertama hingga ketiga

dikumpulkan dan diperoleh filtrat sebanyak 1700 mL. Penguapan filtrat dengan *vacuum rotary evaporator* menghasilkan ekstrak cair 500 mL yang kemudian diuapkan lagi menggunakan waterbath pada 50°C untuk mendapatkan ekstrak kental dengan berat 27 gram. Dari hasil ini dapat dihitung rendemen ekstrak etanol daun *Citrus aurantifolia* dengan metode maserasi adalah 15%.

Identifikasi keberadaan etanol dalam ekstrak menunjukkan hasil negatif yang berarti bahwa dalam ekstrak tidak ada residu etanol yang tersisa. Uji kualitatif flavonoid menghasilkan warna hijau, yang berarti flavonoid berhasil diekstraksi dalam sampel. Penentuan panjang gelombang serapan maksimum dilakukan dengan menggunakan larutan kuersetin 60 ppm dan panjang gelombang maksimum diperoleh pada 417 nm dengan nilai absorbansi 0,582. Hasil pengukuran *operating time* diperoleh nilai absorbansi yang stabil pada menit ke-19 hingga ke-21. Kurva baku diperoleh seperti yang ditunjukkan pada Gambar 1. Pengukuran kandungan flavonoid dalam ekstrak daun *Citrus aurantifolia* dilakukan 3 kali dan hasilnya dapat dilihat pada Tabel 1.



Gambar 1. Kurva baku kuersetin

Tabel 1. Hasil perhitungan kadar flavonoid pada ekstrak daun *Citrus aurantifolia* Kalimantan Selatan

Absorbansi	Kadar flavonoid (mg ekuivalen kuersetin (QE)/g ekstrak)	Kadar flavonoid rata-rata (mg ekuivalen kuersetin (QE)/g ekstrak)	Standar Deviasi
0,299	32,785	34,426	1,429
0,316	35,400		
0,314	35,092		

Kertas cakram direndam dalam setiap konsentrasi perlakuan, kontrol negatif, dan kontrol positif selama ± 30 menit. Pengukuran zona hambat

dilakukan 4 kali. Setelah proses inkubasi, diameter zona hambat diperoleh seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil pengukuran diameter zona hambat ekstrak etanol *Citrus aurantifolia* Kalimantan Selatan terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

Kelompok sampel	Diameter zona hambat (mm)				Rata-rata
	1	2	3	4	
Konsentrasi ekstrak 50%	-	-	-	-	-
Konsentrasi ekstrak 60%	-	-	-	-	-
Konsentrasi ekstrak 70%	-	-	-	-	-
Konsentrasi ekstrak 80%	3,10	3,55	3,52	3,30	3,36
Konsentrasi ekstrak 90%	4,57	4,57	3,70	3,50	4,08
Konsentrasi ekstrak 100%	8,65	8,20	8,45	7,90	8,30
Kontrol negatif (akuades steril)	-	-	-	-	-
Kontrol positif (ketoconazole)	17,25	18,57	15,50	15,00	16,50

Pada konsentrasi ekstrak 50; 60; 70% tidak menunjukkan penghambatan karena *Candida albicans* memiliki aktivitas yang lebih kuat daripada kandungan flavonoid dalam ekstrak daun *Citrus aurantifolia*. Sehingga konsentrasi hambat minimum ekstrak daun *Citrus aurantifolia* pada pertumbuhan *Candida albicans* adalah pada konsentrasi 80%. Zona hambat yang terbentuk pada semua kelompok perlakuan dari ekstrak etanol daun *Citrus aurantifolia* menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak, semakin banyak kandungan flavonoid sehingga daya hambatnya juga lebih kuat. Aktivitas antifungi dari penelitian ini termasuk dalam kategori sedang. Kategori ini lebih tinggi daripada penelitian serupa yang menggunakan tanaman dari daerah lain. Ini karena wilayah dataran tinggi Kalimantan Selatan menghasilkan kandungan flavonoid yang lebih tinggi pada tanaman, sehingga aktivitas antidungi juga lebih kuat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian didapatkan bahwa kadar flavonoid di dalam ekstrak etanol daun *Citrus aurantifolia* adalah $34,4426 \pm 1,429$ mg QE/g ekstrak. Ekstrak etanol daun

Citrus aurantifolia Kalimantan Selatan dengan konsentrasi 80%, 90%, dan 100% memiliki diameter zona hambat rata-rata 3,36; 4,08; and 8,30 mm, sedangkan konsentrasi 70%, 60%, dan 50% tidak memiliki zona hambat. Oleh karena itu konsentrasi hambat minimum dari ekstrak daun *Citrus aurantifolia* terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah pada konsentrasi 80%.

REFERENSI

1. Azimah, A. and Jusuf, H. (2015) 'PERANCANGAN REPOSITORY PENGETAHUAN TUMBUHAN OBAT BERBASIS ONTOLOGY MENGGUNAKAN PROTÉGÉ 4.3.0', *Jurnal Teknologi Technoscientia*, 8(1), pp. 10–15.
2. Herlina, T. and Supratman, U. (2016) 'Kuersetin dari Daun *Erythrina poeppigiana* (leguminosae)', *Jurnal Natur Indonesia*, 17(1), pp. 1–4.
3. Saefudin, Marusin, S. and Chairul (2013) 'AKTIVITAS ANTIOKSIDAN PADA ENAM JENIS TUMBUHAN STERCULIACEAE (Antioxidan Activity on Six Species of Sterculiaceae Plants)', *Jurnal Penelitian Hasil Hutan*, 31(2), pp. 103–109.
4. Loizzo, M. R. *et al.* (2012) 'Evaluation of *Citrus aurantifolia* peel and leaves extracts for their chemical composition, antioxidant and anti-cholinesterase activities', *Journal of the Science of Food and*

- Agriculture*, 92(15), pp. 2960–2967.
5. Razak, A., Djarnal, A. and Revilla, G. (2013) 'Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Padjadjaran', *Jurnal Kesehatan Andalas*, 2(1), pp. 5–8.
 6. Widowati, A. K. (2011) *Efek Antipiretik Ekstrak Daun Jeruk Nipis (Citrus aurantifolium) pada Tikus Putih (Rattus norvegicus)*. Universitas Sebelas Maret.
 7. Musiam, S., Armianti, M., & Putra, A. (2018). UJI BIOLARVASIDA EKSTRAK METANOL DAUN JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia*) TERHADAP LARVA NYAMUK *Aedes aegypti* L., *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 55-63.
 8. Kharismawati, M., Utami, P. I. and Wahyuningrum, R. (2009) 'PENETAPAN KADAR TANIN DALAM INFUSA DAUN SALAM (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp)) SECARA SPEKTROFOTOMETRI SINAR TAMPAK', *Pharmacy*, 6(1), pp. 22–27.
 9. Hasanudin, K., Hashim, P. and Mustafa, S. (2012) 'Corn Silk (*Stigma Maydis*) in Healthcare: A Phytochemical and Pharmacological Review', *Molecules*, 17(8), pp. 9697–9715.
 10. Wardani, R. P., Kholifa, M. and Yuletnawati, S. E. (2017) '**PENGARUH** EKSTRAK ETANOL KULIT JERUK NIPIS (*Citrus aurantifolia* (Christm.) Swingle) TERHADAP PENYEMBUHAN ULKUS TRAUMATIK PADA *Rattus norvegicus* STRAIN WISTAR', *Jurnal Ilmu Kedokteran Gigi*, 1(1), pp. 23–27.
 11. Shehu, A. *et al.* (2016) 'Antifungal Properties of Malaysian Tualang Honey and Stingless Bee Propolis against *Candida albicans* and *Cryptococcus neoformans*', *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(2), pp. 044–050.
 12. Kadosh, D. and Lopez-Ribot, J. L. (2013) 'Candida albicans: Adapting to Succeed', *Cell Host Microbe*, 14(5), pp. 483–485.
 13. Bhaskara, G. Y. (2012) *Uji Daya Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium Polianthum [Wight] walp.) Terhadap Candida Albicans Atcc 10231 Secara In Vitro*. Universitas Muhammadiyah Surakarta. Available at: <http://eprints.ums.ac.id/id/eprint/22008>.
 14. Jumar, M. (2013) *UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL BUAH JERUK NIPIS (CITRUS AURANTIFOLIA)*. Universitas Syiah Kuala.
 15. Kumalasari, E., & Musiam, S. (2019). PERBANDINGAN PELARUT ETANOL-AIR DALAM PROSES EKSTRAKSI DAUN BAWANG DAYAK (*Eleutherine palmifolia* Linn) TERHADAP AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DENGAN METODE DPPH. *Jurnal Insan Farmasi Indonesia*, 2(1), 98-107.
 16. Febrianti, D., & Musiam, S. (2019). POTENSI KOMBINASI KAPUR SIRIH DAN DAUN KUMPAI MAHUNG (*Eupatorium inulifolium* H.B&K.) SEBAGAI ALTERNATIF SALEP ANTI INFLAMASI. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 4(2). 323-330.

17. Sari, A., Alfian, R., Musiam, S., Prasdianto, P., & Renny, R. (2018). PENETAPAN KADAR FENOLIK DAN FLAVONOID TOTAL EKSTRAK METANOL KAYU KUNING (*Arcangelisia flava* Merr) DENGAN METODE SPEKTROFOTOMETRI UV-VISIBEL. *Jurnal Insan Farmasi Indonesi*, 1(2), 210-217.
18. Musiam, S., Alfian, R. (2017). VALIDASI METODE SPEKTROFOTOMETRI UV PADA ANALISIS PENETAPAN KADAR ASAM MEFENAMAT DALAM SEDIAAN TABLET GENERIK. *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2(1), 31-43.