

**Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Biji Bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) terhadap
Pertumbuhan Jamur *Candida albicans***

Fania Putri Luhurningtyas⁽¹⁾, Rissa Laila Vifta⁽²⁾, Siti Khusnul Khotimah⁽³⁾

⁽¹⁾Program Studi S1-Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

⁽²⁾Klinik Kurnia Sehat, Ambon, Maluku

⁽³⁾Program Studi S1-Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan, Universitas Ngudi Waluyo

e-mail: faniaputriluhurningtyas@gmail.com

ABSTRAK

Submit: :
27 Februari 2018

Revisi :
2 Maret 2018

Accepted :
9 Maret 2018

Tanaman bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) merupakan tanaman yang termasuk di dalam famili *Cucurbitae* atau sejenis labu. Khasiat tradisional bligo secara turun menurun adalah sebagai laksatif, diuretik, dispepsia, dan anti inflamasi. Telah dilakukan uji aktivitas antijamur ekstrak etanol biji bligo terhadap *Candida albicans* untuk mengetahui aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur dan identifikasi golongan metabolit sekundernya. Penelitian ini dilakukan beberapa tahap, yaitu ekstraksi senyawa bioaktif menggunakan refluks, skrining fitokimia dan uji aktivitas antijamur dengan metode mikrodilusi. Ekstrak etanol biji bligo mempunyai aktivitas antijamur yang lemah dengan nilai konsentrasi hambat minimum (MIC) sebesar 250 mg/mL dan konsentrasi bunuh minimum (MFC) sebesar > 500 mg/mL. Hasil identifikasi metabolit sekunder menunjukkan ekstrak etanol biji bligo positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan saponin.

Kata kunci : Bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.), biji, antifungi, *Candida albicans*

Bligo plant (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) is a plant belonging to the Cucurbitae family or pumpkin family. The traditional properties of bligo were as a laxative, diuretic, dyspepsia, and anti-inflammatory. The antifungal activity test of bligo seeds ethanol extract against *Candida albicans* has been done to determine the inhibitin growth of the fungus and the identification of its secondary metabolite group. This research was done in several stage, that were the extraction of bioactive compounds used reflux, phytochemical screening and antifungal activity test by microdilution method. Bligo seeds ethanol extract has weak antifungal activity with minimum inhibitory concentration (MIC) of 250 mg / mL and minimum killing concentration (MFC) of > 500 mg / mL. The result of Bligo ethanol extraxt secondary metabolite identification showed positive containing alkaloids, flavonoids, and saponins.

Keywords: Bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.), Seeds, antifungal, *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Iklim tropis dan kelembapan yang tinggi menjadi faktor penyebab infeksi jamur kulit di Indonesia (Kemenkes RI, 2013). Kandidiasis merupakan infeksi jamur pada kulit disebabkan oleh spesies *Candida* pada manusia. Jamur *Candida* secara normal dapat ditemukan pada mukosa mulut, vagina dan saluran gastrointestinal dengan jumlah yang kecil (Arthur, 2010). Di dalam tubuh, sistem imunitas akan menjaga mikroba normal tersebut. Apabila daya tahan tubuh menurun, mikroba normal termasuk *Candida* mudah menyebabkan infeksi pada jaringan target (Pfaller *et al*, 2007).

Candida sp. dapat menyebabkan dua jenis infeksi yaitu pertama, infeksi superfisial antara lain : kandidiasis pada mulut dan vagina. Kedua infeksi sistemik, yang dapat mematikan (Calderone *et al*, 2012). Insiden kandidiasis merupakan penyebab infeksi ke empat di beberapa Rumah Sakit di Amerika Serikat, dengan tingkat kematian hingga 50% (Pfaller *et al*, 2010).

Data epidemiologi menunjukkan peningkatan infeksi yang disebabkan oleh spesies jamur resisten, terutama *Candida sp.* yang resisten terhadap golongan antijamur flukonazol (Apsari *et al*, 2013). Hal ini dapat menyebabkan terjadinya infeksi invasive dan membahayakan jiwa, disebut *emerging fungi* (Canuto *et al*, 2002). Sehingga perlu adanya pencegahan untuk mengatasi meluasnya infeksi jamur dengan mengembangkan obat anti jamur baru, terapi kombinasi obat anti jamur, dan penggunaan imunoterapi (Odds, 2004).

Menurut *World Health Organization* (WHO), obat herbal telah digunakan sebagai pelengkap pengobatan primer. Faktor keamanan dan pertimbangan harga menjadi nilai jual peningkatan penggunaan obat herbal (WHO, 2013).

Buah bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) adalah tanaman merambat sejenis labu yang merupakan famili *Cucurbitaceae*. Buah berbentuk seperti buah buni, bulat memanjang,

berdaging, panjang 15-20 cm, warna hijau keputih-putihan. Bagian yang banyak digunakan adalah buah dan bijinya (Zaini *et al*, 2011). Kandungan senyawa aktif buah dan biji bligo antara lain alkaloid, flavonoid, glikosida, vitamin, mineral, beta sitosterin (Babul *et al*, 2002). Bagian buahnya secara tradisional dapat digunakan sebagai laksatif, diuretik, dyspepsia, dan mengatasi demam peradangan (Ali, 2013). Buah bligo telah terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* (Natarajan *et al*, 2003).

Berdasarkan kajian tersebut, maka perlu diuji secara ilmiah aktivitas biji bligo sebagai antifungi terhadap jamur *Candida albicans*. Sehingga dapat dikembangkan sebagai alternatif pencegahan dan pengobatan infeksi jamur.

METODE PENELITIAN

Alat yang digunakan adalah kertas saring, microplet, seperangkat alat gelas, timbangan analitik, timbangan gram, blender, mikropipet, jarum ose, oven (Binder), autoclave (SMIC), kassa steril, Waterbath, inkubator (Memmert), lampu spiritus, kondensor, labu alas bulat, klem, statif.

Bahan yang digunakan antara lain ekstrak etanol biji bligo dengan konsentrasi 500 mg/mL, 250 mg/mL, 125 mg/mL, 62,5 mg/mL, dan 32,5 mg/mL, suspensi jamur *Candida albicans*, etanol 70%, aquadest, media SDA, media PGB, larutan Dimethylsulfoxide (DMSO) 1%, ketokonazol.

Tahapan Penelitian

Pengumpulan dan Penyiapan Bahan

Tanaman bligo yang didapatkan berasal dari daerah Ambarawa, Jawa Tengah yang telah dideterminasi di Fakultas MIPA Laboratorium Biologi Universitas Diponegoro Semarang.

Buah bligo yang sudah masak, diambil bagian bijinya. Biji dibersihkan dari sisa kotoran menggunakan air mengalir, kemudian dilakukan pengeringan bahan di dalam oven pada suhu 40-

60°C. Sampel yang telah kering, kemudian diserbukkan menggunakan *blender*.

Ekstraksi

Ekstrak etanol biji bligo dibuat menggunakan metode refluks. Serbuk biji bligo dilarutkan ke dalam pelarut etanol 70% dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Ekstraksi dilakukan pada temperatur 70°C selama 6 jam. Hasil ekstraksi disaring, filtrat yang diperoleh dipekatkan di atas penangas air sampai bobot konstan.

Skrining Fitokimia (Kualitatif)

Pengujian golongan metabolit sekunder yang terdapat di dalam ekstrak etanol biji bligo menggunakan metode uji tabung secara kualitatif, berdasarkan perubahan warna atau pengendapan (Harborne, 2006). Golongan metabolit sekunder yang diteliti adalah alkaloid, flavonoid, saponin, dan tannin.

Pembuatan Medium *Sabouroud's Dextrose Agar* (SDA) dan *Peptone Glucose Broth* (PGB)

Sebanyak 65 gram serbuk media Sabouraud Dextrose Agar (SDA) dicampurkan dengan 1L akuades, dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. 250 mL media Peptone Glucose Broth dihomogenkan dengan 100 mL akuades, dipanaskan selama 20 menit sampai homogen. Kemudian, media disterilisasi di dalam autoklaf 121°C selama 15 menit.

Peremajaan Biakan Murni

Satu ose biakan *Candida albicans* dimasukkan dalam 1 mL media SDA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.

Pembuatan Inokulum Jamur *Candida albicans*

Koloni *Candida albicans* yang berumur 18-24 jam diambil menggunakan jarum ose steril, kemudian dimasukkan ke dalam 10 mL larutan NaCl 0,9% steril. Kekekruhan yang didapat lalu disetarakan dengan standar larutan Mc Farland 0,5, yaitu setara dengan jumlah pertumbuhan $1-2 \times 10^8$ CFU/mL (Dalynn, 2014).

Penentuan MIC dengan Metode Mikrodilusi

Metode mikrodilusi dalam penentuan konsentrasi hambat minimum (KHM/MIC) menggunakan *microplate 96-wells* berdasarkan metode dari *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI). Penentuan MIC terdiri dari kontrol pertumbuhan jamur, kontrol pelarut (DMSO 1%), kontrol pembanding (Ketokonazol), dan ekstrak uji. Pengujian dilakukan secara *triplo*. Sebanyak 100µl media SDB dimasukkan ke dalam tiap sumuran.

Kontrol pertumbuhan berisi media SDB dan suspensi jamur *Candida*. Pada ekstrak uji, dimasukkan larutan ekstrak sebanyak 100µl ke dalam sumur kolom ke 12 yang berisi media. Dari sumur ke 12, campuran larutan dipindahkan ke sumur 11 sebanyak 100µl. Pengenceran dilakukan bertingkat ke arah kolom terkecil hingga didapatkan seri pengenceran sampel dengan 5 nilai seri konsentrasi berbeda di tiap sumuran (500, 250, 125, 62,5, 32,5 mg/mL). Sumur kolom yang terkecil yang berisi konsentrasi terendah kemudian dibuang larutannya sebanyak 100µl, tujuannya agar volume di tiap sumuran sama. Kontrol pelarut (DMSO 1%), setelah sumuran dimasukkan media, kemudian ditambahkan DMSO sebanyak 100µl. Dimasukkan sebanyak 100µl larutan Ketokonazol ke dalam sumuran kontrol pembanding.

Sebanyak 100µl suspensi jamur ditambahkan ke masing-masing sumuran, lalu dihomogenkan. *Microwell-plate* diinkubasi pada suhu 37°C selama jangka waktu tertentu, selanjutnya diamati bagian yang jernih. Konsentrasi terendah yang tidak keruh ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (MIC). Terbentuknya koloni dalam larutan (keruh) pada mikroplate setelah diinkubasi menandakan adanya pertumbuhan jamur.

Penentuan KFM

Sebanyak 5 µL alikuot dari setiap bagian yang jernih di tanam pada media SDA dan diinkubasi pada suhu yang sesuai dan waktu tertentu kemudian diamati. Pengujian dilakukan secara triplo. Konsentrasi terkecil dimana tidak terlihat pertumbuhan fungi ditetapkan sebagai KFM (CLSI, 2012).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengukuran Nilai MIC dan MFC

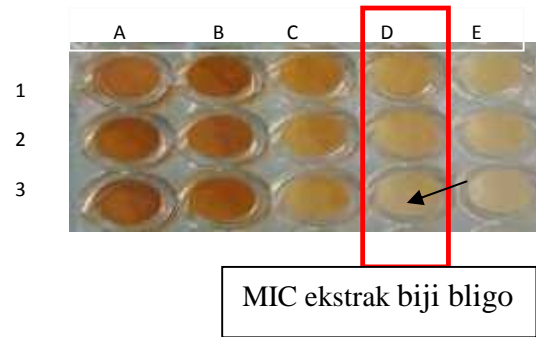
Pengujian MIC ekstrak etanol biji bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Prinsip metode mikrodilusi adalah sejumlah sampel antifungi dibuat seri konsentrasi dan dimasukkan ke dalam sumuran yang berisi media yang telah diinokulasikan standar fungi uji. Larutan pada kadar terendah yang terlihat jernih ditetapkan sebagai MIC. Larutan yang ditetapkan sebagai MIC, dikultur ulang pada media tanpa penambahan fungi uji ataupun sampel ekstrak dan diinkubasi selama 24 jam. Media yang tetap jernih tanpa ada pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai MFC (Jawetz *et al*, 2013).

Penentuan MIC menggunakan mikrodilusi cair memberikan hasil sensitivitas tinggi dan membutuhkan sampel yang sedikit. Mikrodilusi merupakan salah satu metode yang direkomendasikan oleh *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) untuk pengujian sensitivitas mikroorganisme (Balouiri, 2016).

Nilai MIC dan MFC ekstrak etanol biji bligo terhadap jamur *Candida albicans* disajikan pada Tabel 1 di bawah ini

Tabel 1. Hasil penentuan nilai MIC dan MFC larutan uji

Bahan Uji	Nilai MIC	Nilai MFC
Ekstrak uji	250 mg/mL	>500 mg/mL
Ketokonazol (kontrol positif)	0,008 mg/mL	0,032 mg/mL



Gambar 1. Hasil pengamatan MIC ekstrak etanol biji bligo dengan mikrodilusi

Keterangan :

- 1A-3A : konsentrasi 32,5 mg/mL
- 1B-3B : konsentrasi 62,5 mg/mL
- 1C-3C : konsentrasi 125 mg/mL
- 1D-3D : konsentrasi 250 mg/mL
- 1E-3E : konsentrasi 500 mg/mL

Hasil menunjukkan ekstrak etanol biji bligo mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi minimum (MIC) sebesar 250 mg/mL. Aktivitas antifungi dapat ditingkatkan dari efek menghambat menjadi membunuh jamur, dengan meningkatkan konsentrasi sampel uji diatas nilai MIC. Hasil pengamatan MFC ekstrak etanol biji bligo masih terdapat pertumbuhan koloni pada konsentrasi tertinggi yaitu 500 mg/mL. Sehingga ekstrak etanol biji bligo bersifat fungistatik, dimana kandungan metabolit sekundernya hanya mampu menahan pertumbuhan jamur, tetapi belum dapat mematikannya. Kontrol pelarut DMSO 1%, kontrol pertumbuhan tidak menunjukkan mempunyai aktivitas antijamur, karena warna sumuran yang keruh menandakan adanya pertumbuhan koloni.

Kontrol pembanding (Ketokonazol) memiliki efek fungistatik (menghambat) dan fungisidal (membunuh) yang lebih tinggi dibandingkan ekstrak uji, yaitu MIC dan MFC berturut-turut sebesar 0,008 mg/mL dan 0,032 mg/mL

Buah timun suri (*Cucumis melo* L.) merupakan tanaman satu genus dengan buah bligo. Bagian bijinya telah diteliti aktivitasnya sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* dengan MIC sebesar 125 mg/mL. Kombinasi antifungi biji timun suri dan biji bligo dengan perbandingan komposisi ekstrak 2:1 dapat menghambat pertumbuhan jamur pada MIC sebesar 125 mg/mL (Saputra, 2018). Sehingga aktivitas antikandidiasis ekstrak biji timun suri masih lebih tinggi dibandingkan ekstrak biji bligo, baik secara penggunaan tunggal maupun kombinasinya.

Skrining Fitokimia

Hasil analisa skrining fitokimia menggunakan uji tabung menunjukkan ekstrak etanol biji bligo positif mengandung alkaloid (Pereaksi Meyer), flavonoid, dan saponin. Berikut adalah tabel pengujian skrining golongan metabolit sekunder biji bligo.

Tabel 2. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak biji bligo

Uji	Pereaksi	Hasil	Kesimpulan
Alkaloid	Mayer	Endapan putih	Positif
Flavonoid	Mg+HCl pekat	Warna kuning	Positif
Tanin	FeCl ₃ 1%	Warna putih	Negatif
Saponin	Air + HCl	Busa stabil	Positif

Keterangan :

Positif : mengandung senyawa metabolit sekunder

Negatif : tidak mengandung senyawa metabolit sekunder

Metabolit sekunder ekstrak biji bligo tersebut berhubungan dengan aktivitas farmakologisnya, termasuk toksisitasnya pada mikroorganisme. Senyawa – senyawa bioaktif tersebut dapat menyebabkan penghambatan fungsi membran sel, asam nukelat, dinding sel, mikrotubulus

pada sel jamur. Sehingga akibat terjadinya gangguan tersebut mengakibatkan terhentinya pertumbuhan dan kematian sel jamur (Rajendra et al, 2016).

SIMPULAN

Ekstrak etanol biji bligo (*Benincasa hispida* (Thunb.) Cogn.) mempunyai aktivitas antifungi yang lemah terhadap *Candida albicans*, dengan nilai MIC dan MFC berturut-turut sebesar 250 mg/mL dan >500 mg/mL. Golongan metabolit sekunder yang terkandung di dalam biji bligo adalah alkaloid, flavonoid, dan saponin

DAFTAR PUSTAKA

Ali, E, 2013, ‘The pharmacological importance of benincasa hispida. A review’, *International Journal of Pharma Sciences and Research*, vol 4, no. 12.

Apsari, AS, Adiguna, MS, 2013, ‘Resistensi antijamur dan strategi untuk mengatasi’, *MDVI*, vol. 40, no.2.

Arthur, G, 2010, *Microbiology and Immunology*, Medical Microbiology, University of South Carolina School Medicine.

Babul SC, Ilavarasaran R, Thambi, R, Thameemul, & Kumar, 2003, ‘Preliminary pharmacological screening of benincasa hispida Cogn’, *Journal of Natural Remedies*, vol.3, no. 2, hh. 143-147.

Balouiri, M, 2016, ‘Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review’, *Journal of Pharmaceutical Analysis*, vol. 6, hh. 71-79.

Canuto MM, Rodero FG, 2002, ‘Antifungal drug resistance to azoles polyenes’, *The Lancet Infectious Diseases*, vol. 2, hh. 550-560.

CLSI, 2012, *Performance standards for antimicrobial susceptibility testing*, 22th ed, Clinical Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

- Dalynn, 2014, *Mc Farland Standard- for in vitro use only-*, Dalynn Biologicals.
- Harborne JB, 2006, *Metode fitokimia*, Edisi ke-2, Terjemahan Kosasih Padmawinata & Iwang Soediro, ITB, Bandung.
- Jawetz., Melnick., Adelberg., 2013, *Medical microbiology*, 26 th ed, USA : Appleton & Lange.
- Kemenkes RI, 2013, *Riset kesehatan dasar*, RISKESDAS, Balitbang Kemenkes RI, Jakarta.
- Saputra, A, 2018, *Uji aktivitas antifungi kombinasi ekstrak biji bligo dan biji timun suri terhadap jamur Candida albicans secara in vitro*, Skripsi, Universitas Ngudi Waluyo, Ungaran.
- Natarajan, D, Lavarasan, RJ, Chandara, BS, Sahib, MACS, Refai, T, & Thameemuk, ALH, 2003, 'Antimicrobial studies on methanolic extract of benincasa hispida', *Ancient Science of Life*, vol. 12, hh 98-100.
- Odds F, 2004, 'The evolution of antifungal resistance in Candida spesies', *Microbiology Today*, vol. 31, hh.166.
- Pfaller, MA, Diekema DJ, 2010, 'Epidemiology of invasive mycoses in North America', *Crit Rev Microbial*, vol. 36, hh, 1-53.
- Pfaller, MA, Diekema DJ, 2007, 'Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem.', *Clin Microbiol Rev*, vol. 20, hh. 133-163.
- Rajendra, P, Abdul, HS, & Manpreet, KR, 2016, 'Antifungal: mechanism of action and drug resistance', *Springer International Publishing Switzerland*, hh. 327-349.
- WHO, 2013, *WHO Traditional Medicine Strategy 2014-2023*, World Health Organization.
- Wijayakusuma, C. H., 2010, *Sifat kimia dan fisika buah bligo dan pepaya di dalam pembuatan produk sejenis jam*, Fakultas Teknologi Pertanian Institusi IPB, Bogor.
- Zaini NAM, Anwar F, & Saari, NK, 2011, ' (Benincasa hispida(Thunc.)Cogn.); a potential source for valuable nutriets and functional foods', *Foods Res Int*, vol. 44, hh 2368-2376.