

## EFEK ANTI JAMUR *TRICHOPHYTON MENTAGROPHYTES* LOSION EKSTRAK ETANOL BUAH MENGGKUDU MENTAH (*MORINDA CITRIFOLIA* L.) SECARA *IN VIVO*

Ririn Lispita Wulandari\*, Nurahmah Hidayati dan Maulita Cut Nuria

Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim

Jl. Menoreh Tengah X/22, Sampangan, Semarang 50236.

\*Email: ririnlispita@unwahas.ac.id

### Abstrak

Losion ekstrak etanol buah mengkudu mentah (EEBMM) dengan emulgator PGA 20% pada konsentrasi ekstrak 12 mg/mL terbukti mempunyai aktivitas anti jamur terhadap *Trichophyton mentagrophytes* secara *in vitro* (persentase inhibisi 100%). Penelitian ini bertujuan untuk menguji efek anti jamur losion EEBMM secara *in vivo* pada kelinci yang diinfeksi *Trichophyton mentagrophytes*. Penelitian ini menggunakan *Posttest Only Control Group Design*. Ekstrak buah mengkudu mentah diperoleh dengan cara perkolasi dan losion dibuat dengan emulgator PGA 20% yang mengandung tiga konsentrasi EEBMM berbeda yaitu 12, 18, 27 mg/mL. Efek anti jamur losion dengan konsentrasi EEBMM 12 mg/mL (P1), 18 mg/mL (P2) dan 27 mg/mL (P3), losion tanpa ekstrak (K-) dan krim ketokonazol 2 % (K+) diuji secara *in vivo* terhadap kelinci yang diinfeksi jamur *Trichophyton mentagrophytes* dan diobati selama 16 hari. Parameter yang diukur berupa data skor luka infeksi, lalu dianalisa statistik menggunakan Uji Kruskal Wallis dan Mann Whitney. Hasil penelitian menunjukkan bahwa losion EEBMM memiliki efek anti jamur pada kelinci yang diinfeksi *Trichophyton mentagrophytes* secara *in vivo* dibandingkan dengan kontrol negatif mulai hari ke-9 untuk konsentrasi 18 mg/mL dan 27 mg/mL serta hari ke-11 untuk konsentrasi 12 mg/mL.

**Kata kunci:** Losion ekstrak etanol buah mengkudu mentah, PGA, *Trichophyton mentagrophytes*, *in vivo*.

## 1. PENDAHULUAN

Mengkudu merupakan salah satu tanaman yang mengandung banyak khasiat dan dapat digunakan sebagai bahan obat tradisional. Ekstrak etanol buah mengkudu mentah (EEBMM) diketahui mengandung saponin dan flavonoid yang memiliki khasiat sebagai antijamur (Utami, 2007). *Trichophyton mentagrophytes* adalah kapang dermatofit yang dapat menginfeksi manusia maupun hewan, yaitu pada kulit, kuku, dan rambut atau bulu. Penyakit yang ditimbulkannya disebut *dermatofitosis* atau disebut tinea pada manusia dan *ringworm* pada hewan. Gejala klinis *dermatofitosis* yang dapat diamati berupa kulit yang kemerahan, bersisik, di bagian tepi berbentuk cincin. Obat sintetik yang dapat digunakan untuk mengatasi infeksi jamur tersebut adalah golongan griseofulvin dan golongan azol seperti ketokonazol (Kuswadji, 2001).

Salah satu bentuk sediaan yang dapat digunakan sebagai anti jamur topikal adalah losion, karena mudah dan nyaman digunakan dalam kehidupan sehari-hari. Nawarini (2014) telah membuktikan bahwa losion ekstrak etanol buah mengkudu dengan emulgator PGA 20% pada konsentrasi ekstrak 12 mg/mL memiliki aktifitas antijamur secara *in vitro*. Pembuktian aktifitas tersebut perlu dikembangkan dengan uji secara *in vivo* untuk melihat efek anti jamur lebih lanjut pada hewan yang terinfeksi *Trichophyton mentagrophytes*. Pada uji *in vitro* losion langsung bersentuhan dengan jamur sehingga aktifitas antijamur yang terlihat lebih cepat, sedangkan pada uji *in vivo* losion harus melalui media kulit kelinci yang mengalami infeksi jamur. Infeksi yang terjadi tidak hanya di permukaan kulit saja tapi sampai masuk dalam kulit (intrakutan) sehingga untuk melihat adanya efek antijamur membutuhkan waktu lebih lama. Berdasarkan perbedaan karakteristik tersebut, hasil uji *in vitro* dari peneliti terdahulu perlu dikembangkan dengan uji *in vivo* untuk memastikan adanya efek antijamur *Trichophyton mentagrophytes* losion EEBMM.

## 2. METODOLOGI

### 2.1. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu timbangan gram kasar, oven (Mummert 400), blender (Maspion MT 1214), alat perkolasi (Iwaki/Pyrex), alat-alat gelas (Iwaki/Pyrex), *Rotary evaporator* (Heidolph), timbangan digital (Ohaus AR330), cawan porselin, kaca arloji, gelas ukur, *waterbath*, mortir, stamper, mixer, botol, autoklaf (All America), *Laminar AirFlow* (LAF 105/I 18), kawat ose,

inkubator, scalpel bisturi, spuit, kassa steril, hypafix. Bahan yang digunakan meliputi buah mengkudu mentah, etanol 70% (Brataco), PGA, *paraffin liquidum*, cera alba, gliserin, nipagin (*Pharmaceutical Grade*), parfum dan aquades, jamur *Trichophyton mentagrophytes* (BCC No. F0217), media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) merk (Oxoid), NaCl 0,9%, BaCl<sub>2</sub> 1%, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1% (p.a), aquadest, kelinci, krim ketokonazol 2% (Kimia Farma).

## 2.2. Jalannya Penelitian

### 2.2.1. Penyiapan Bahan

Buah mengkudu mentah yang digunakan adalah buah yang segar, berwarna hijau keputih-putihan dengan tekstur agak keras, sebelum digunakan dideterminasi terlebih dahulu untuk memastikan kebenaran identitas bahan tersebut.

Buah dipilih dan dicuci bersih dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang menempel. Kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 50°C untuk menghasilkan simplisia kering, lalu dihaluskan dengan blender untuk menghasilkan serbuk simplisia. Serbuk yang didapatkan kemudian diukur kadar airnya dengan *moisture balance*.

### 2.2.2. Pembuatan Ekstrak Etanol

Ekstraksi dilakukan dengan metode perkolasi menggunakan pelarut etanol 70%. Empat ratus gram serbuk dibasahi dengan 600 mL etanol 70% dandidiamkan di dalam wadah yang tertutup rapat selama tiga jam, kemudian *massa* dimasukkan dalam perkolator yang telah diberi kapas sampai 2/3 perkolator dan bagian atas percolator ditutup menggunakan kertas saring. Pelarut ditambahkan untuk membentuk lapisan dangkal di atas kertas saring dan campuran itu didiamkan dalam waktu 24 jam. Kemudian saluran dari percolator dibuka dan cairan akan menetes pelan-pelan. Cairan penyari ditambahkan sesuai yang diperlukan, sampai ukuran percolat tiga perempat.

Penyarian dihentikan sampai pelarut dalam bahan tampak jernih. Total pelarut yang digunakan sampai akhir penyarian adalah lima liter etanol 70%, sedangkan waktu yang dibutuhkan dalam penyarian adalah tujuh hari. Percolat yang diperoleh diuapkan hingga menjadi ekstrak kental dengan menggunakan *rotary evaporator*. Setelah itu ekstrak kental ditimbang dengan hasil ekstrak seberat 1.035.

### 2.2.3. Pembuatan Losion

Penelitian ini menggunakan empat sediaan losion dengan emulgator PGA 20%. Satu sediaan losion untuk kelinci kelompok K- (hanya terdiri dari bahan losion saja tanpa adanya penambahan EEBMM). Tiga losion berikutnya untuk kelinci kelompok P1, P2 dan P3, yaitu sediaan losion yang mengandung EEBMM dengan tiga variasi konsentrasi ekstrak yang berbeda disesuaikan dengan formula dan dapat dilihat pada table 1.

**Tabel 1. Formula Losion Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (EEBMM) dengan Variasi Konsentrasi Ekstrak**

Bahan	F I	F II	F III
Ekstrak Buah Mengkudu	2,40 g	3,60 g	5,40 g
Cera alba	6,00 g	6,00 g	6,00 g
PGA	40,00 g	40,00 g	40,00 g
Gliserin	40,00 g	40,00 g	40,00 g
Paraffin liquidum	20,00 g	20,00 g	20,00 g
Nipagin	0,30 g	0,30 g	0,30 g
Parfum	0,10 g	0,10 g	0,10 g
Aquadest	81,20mL	80,00 mL	78,20 mL
Total	Ad 200 mL	Ad 200 mL	Ad 200 mL

Keterangan :

F I : Formula Losion dengan konsentrasi EEBMM 12 mg/mL

F II : Formula Losion dengan konsentrasi EEBMM 18 mg/mL

F III : Formula Losion dengan konsentrasi EEBMM 27 mg/mL

Losion dibuat menggunakan metode gom kering, yaitu mencampurkan PGA dengan fase minyak terlebih dahulu, lalu diencerkan dengan air sedikit demi sedikit. Fase minyak yang terdiri dari cera alba dan *paraffin liquidum* dipanaskan hingga meleleh, kemudian dimasukkan ke dalam mortir hangat. PGA dilarutkan dalam fase minyak dan ditambahkan aquadest sedikit demi sedikit sambil terus diaduk menggunakan *mixer* sampai terbentuk korpus emulsi. Fase air yang sudah

disiapkan sebelumnya yaitu dengan melarutkan ekstrak etanol buah mengkudu mentah ke dalam gliserin. EEBMM yang digunakan pada losion formula I sebesar 2,4 gram, formula II 3,6 gram dan formula III 5,4 gram. Korpus emulsi tadi kemudian dicampurkan dengan fase air, diaduk hingga rata, kemudian tambahkan nipagin yang sudah dilarutkan hingga terbentuk emulsi yang homogen, terakhir ditambahkan parfum (Ansel, 1989)

#### **2.2.4. Pembuatan Larutan Standart 0,5 Mc. Farland**

Larutan standart 0,5 Mc. Farland sebesar  $1,0 \times 10^8$  CFU/mL dibuat di lemari asam, dengan cara mencampurkan 0,5 mL  $\text{BaCl}_2$  1 % dan 9,5 mL  $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 %. Larutan tersebut sebanding dengan perkiraan jumlah jamur sebanyak 100 juta/mL (Suryaningrum, 2011). Larutan yang telah terbentuk kemudian ditutup rapat agar tidak menguap, dan harus selalu dikocok setiap akan digunakan untuk membandingkan suspensi jamur.

#### **2.2.5. Pembuatan Suspensi Jamur**

Pembuatan suspensi jamur dilakukan di dalam LAF untuk menghindari kemungkinan terjadinya kontaminasi jamur *Trichophyton mentagrophytes* dari kontaminan yang tidak dikehendaki. Suspensi dibuat dengan cara mengambil biakan jamur *Trichophyton mentagrophytes* dari media SDA tabung miring menggunakan ose steril kemudian disuspensikan dengan 10 mL NaCl 0,9% sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan larutan standart 0,5 Mc. Farland (Volk dan dan Wheeler, 1993)

#### **2.2.6. Uji Efek Antijamur**

Kelinci dicukur bulu punggungnya hingga licin. Tiga daerah tempat infeksi buatan ditandai dengan spidol berupa lingkaran yang berdiameter 3 cm. Infeksi jamur buatan dibuat pada tanda tersebut menggunakan pisau bedah steril dengan cara dilukai sepanjang 2 cm dan kedalaman 2 mm. Sejumlah 0,5 mL suspensi jamur *Trichophyton mentagrophytes* diinjeksikan secara intrakutan di sekitar luka. Luka ditutup dengan kasa steril dan plester. Luka infeksi kembali diamati pada 48 jam setelah penyuntikan suspensi jamur sampai dipastikan terbentuk luka infeksi buatan pada punggung kelinci (Sukandar dkk, 2006).

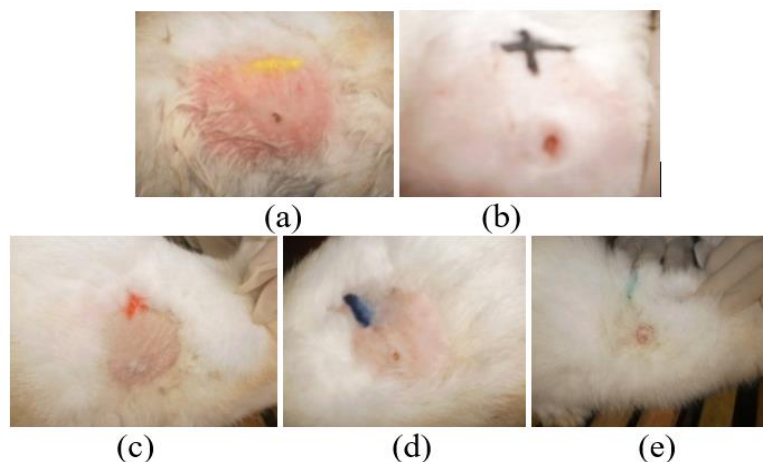
Luka infeksi jamur *T.mentagrophytes* yang terbentuk pada punggung kelinci diolesi dengan krim ketokonazol 2% dan sediaan losion EEBMM. Pengobatan dilakukan sebanyak dua kali sehari selama 16 hari dengan mengoleskan krim ketokonazol 2% dan losion EEBMM pada kulit punggung kelinci yang terinfeksi jamur *T.mentagrophytes*. Pengamatan luka infeksi pada kelinci kelompok kontrol negatif (K-), kontrol positif (K+), P1, P2, P3 dilakukan setiap hari selama 16 hari. Parameter efek antijamur yang diukur dalam penelitian ini adalah skor luka infeksi setelah diobati bahan uji selama 16 hari. Untuk menentukan skor luka infeksi, dinilai berdasarkan gejala yang tampak pada permukaan kulit punggung kelinci, yaitu skor 4 (merah, bengkak, menebal, kasar), 3 (merah, bengkak, menipis, kasar), 2 (merah sedikit, kasar), 1 (tidak merah, kasar), 0 (halus, bulu mulai tumbuh) (Sukandar dkk, 2006).

### **2.3. Analisa Data**

Untuk mengetahui ada tidaknya efek antijamur losion EEBMM pada luka punggung kelinci yang diinfeksi *Trichophyton mentagrophytes*, data skor luka infeksi lima hewan uji sudah diobati bahan uji selama 16 hari dianalisa secara statistik non parametrik menggunakan uji *Kruskal-Wallis*, dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui perbedaan skor luka infeksi antar kelompok perlakuan.

## **3. HASIL DAN PEMBAHASAN**

Determinasi yang telah dilakukan menunjukkan bahwa buah yang digunakan dalam penelitian ini adalah benar *Morinda citrifolia* L. Luka infeksi pada punggung kelinci setelah perlakuan losion EEBMM dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Penampakan luka infeksi *T.mentagrophytes* setelah perlakuan pada hari ke-16 (a) kontrol negatif, (b) kontrol positif, (c) Losion EEBMM 12 mg/ml, (d) Losion EEBMM 18 mg/ml, (e) Losion EEBMM 27 mg/ml

Pada gambar di atas, tampak bahwa terdapat perbedaan penampakan kulit kelinci setelah perlakuan P1, P2, P3 dibandingkan dengan K-, yaitu kulit tidak merah, tidak bengkak, dan tidak kasar, bahkan bulu-bulu halus sudah ada yang tumbuh dibandingkan K-.

Skor luka infeksi yang diperoleh setelah perlakuan selama 16 hari losion EEBMM terhadap kulit punggung kelinci yang diinfeksi jamur dapat dilihat pada tabel di bawah ini :

**Tabel 3.** Rata-rata Skor Luka Infeksi jamur *Trichophyton mentagrophytes* pada Kelinci yang diperoleh setelah perlakuan Losion EEBMM selama 16 hari

	Mean ± SD Skor Luka Infeksi pada Hari Ke-															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
<b>K-</b>	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0
<b>K+</b>	4±0	4±0	3.7±0.58	3.7±0.58	3.7±0.58	3.3±0.58	3.3±0.58	3±0.58	2.7±0.58	2.7±0.58	2.3±0.58	2.3±0.58	1.7±0.58	1.7±0.58	1.7±0.58	1.3±0.58
<b>P1</b>	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	3.7±0.58	3.7±0.58	3.3±0.58	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0
<b>P2</b>	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	4±0	3±0	3±0	3±0	3±0	3±0	2.7±0.58	2.7±0.58	2.3±0.58	2.3±0.58
<b>P3</b>	4±0	4±0	4±0	4±0	3.7±0.58	3.3±0.58	3.3±0.58	3±0.58	3±0.58	3±0	2.7±0.58	2.7±0.58	2±0	2±0	2±0	2±0
<b>p value</b>	1,000	1,000	0,406	0,526	0,675	0,592	0,165	0,066	0,038	0,038	0,028	0,028	0,024	0,023	0,016	0,014

Keterangan :

- K - : Perlakuan dengan Losion tanpa EEBMM
- K + : Perlakuan dengan krim ketokonazol 2%
- P1 : Perlakuan dengan Losion EEBMM dengan kadar ekstrak 12 mg/ml
- P2 : Perlakuan dengan Losion EEBMM dengan kadar ekstrak 18 mg/ml
- P3 : Perlakuan dengan Losion EEBMM dengan kadar ekstrak 27 mg/ml
- EEBMM : Ekstrak Etanol Buah Mengkudu Mentah

Berdasarkan tabel di atas dapat dilihat bahwa skor luka infeksi pada semua kelompok hewan uji pada hari ke-1 sampai hari ke-8 berbeda tidak bermakna ( $p>0,05$ ), sedangkan pada hari ke-9 sampai hari ke-16 berbeda bermakna ( $p<0,05$ ). Hal ini menunjukkan terjadinya penurunan rata-rata skor luka infeksi pada kelinci kelompok K+, P1, P2 dan P3 selama 16 hari, kecuali K-.

Tabel 4. Hasil Uji *Mann-Whitney*

Kelompok	Hari ke															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
K+/K-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
K+/P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+
K+/P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K+/P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
K-/P1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
K-/P2	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
K-/P3	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
P1/P2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
P1/P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
P2/P3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Keterangan : + : Berbeda bermakna ( $p < 0,05$ )  
- : berbeda tidak bermakna ( $p > 0,05$ )

Untuk mengetahui perbedaan penurunan skor luka infeksi antar kelompok perlakuan, maka dapat dilihat pada tabel di atas. Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa skor luka infeksi P1 berbeda bermakna mulai pada hari ke-11 dibandingkan dengan K-, P2 dan P3 berbeda bermakna mulai pada hari ke-9 dibandingkan dengan K-, hal ini menunjukkan bahwa pemberian losion EEBM 18 mg/ml dan 27 mg/mL pada kelinci yang diinfeksi jamur mulai menimbulkan efek penurunan skor pada hari ke-9, sedangkan losion EEBM 12 mg/ml pada hari ke-11. Efek penyembuhan akibat perlakuan losion EEBM 18 mg/ml dan 27 mg/mL lebih cepat terjadi dibandingkan dengan losion 12 mg/ml. Efek penurunan skor akibat perlakuan P1 berbeda tidak bermakna dengan P2, begitu pula antara P2 dan P3, sedangkan antara P1 dengan P3 memiliki efek penurunan skor yang berbeda signifikan.

Penelitian Jayaraman, dkk. (2008) menyebutkan bahwa ekstrak metanol buah mengkudu mempunyai aktivitas anti jamur dengan menghambat pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes*. Ekstrak etanol buah mengkudu mentah lebih efektif menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton mentagrophytes* dibandingkan dengan ekstrak etanol buah mengkudu matang (Utami, 2007). Losion EEBMM memiliki efek anti jamur terhadap *Trichophyton mentagrophytes* diduga karena ekstrak buah mengkudu mentah mengandung senyawa aktif saponin dan flavonoid yang dapat menghambat pertumbuhan jamur tersebut dan *Candida albicans* (Utami, 2007). Kedua senyawa tersebut mempunyai aktivitas antijamur. Saponin bekerja dengan cara membentuk kompleks dengan sterol dalam membran jamur yaitu menurunkan tegangan permukaan sehingga mengakibatkan naiknya permeabilitas atau kebocoran sel dan senyawa intraseluler akan keluar. Flavonoid bekerja dengan cara membentuk senyawa kompleks dengan protein ekstraseluler dan flavonoid merupakan zat yang mudah terlarut sehingga dapat merusak membran sel fungi serta diikuti dengan keluarnya senyawa intraseluler sehingga akan mengakibatkan kematian sel jamur (Volk dan Wheeler, 1993).

#### 4. KESIMPULAN

Losion Ekstrak Etanol Buah Mengkudu Mentah konsentrasi 12, 18, 27 mg/mL terbukti memiliki efek anti jamur pada kelinci yang diinfeksi *Trichophyton mentagrophytes* secara *in vivo*.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih kami berikan kepada Fakultas Farmasi Universitas Wahid Hasyim yang telah memberikan dukungan terhadap penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

Ansel, H.C., (1989), Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi, Edisi IV, Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta, pp.519,606-608,611

- Jayaraman, S., Manoharan, M., dan Seethalakshmi, I., (2008), Antibacterial, Antifungal and Tumor Cell Suppression Potential of *Morinda citrifolia* Fruit Extracts. *An International Journal of Integrative Biology*, Vol. 3 No 1, 44-49.
- Kuswadji, Widaty S., 2001, *Obat Anti Jamur Dermatmikosis Superfisialis*, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 99
- Nawarini, D.R., (2014), Formulasi Losion Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Mentah dengan Emulgator PGA dan Aktivitas Antijamurnya terhadap Jamur *Trichophyton mentagrophytes*, *Skripsi*, Universitas Wahid Hasyim.
- Sukandar, E., Suganda, A., & Pertiwi, G., (2006), Uji Aktivitas Antijamur Salep dan Krim Ekstrak Daun Ketapang *Terminalia cattapa* L. pada Kulit Tikus, *Majalah Farmasia Indonesia*, Vol. 17 (3), 123-129
- Suryaningrum, F., R., 2011, Efek Antifungi Perasan Kulit Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes* secara *In Vivo*, *Skripsi*, UNS, Surakarta
- Utami, P., (2007), Perbandingan Aktivitas Antijamur dari Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Mentah dan Matang terhadap *Candida albicans* dan *Trichophyton mentagrophytes*, *Skripsi*, Jurusan Farmasi, Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta.
- Volk, W.A., dan Wheeler, M.F. (1993). *Mikrobiologi Dasar*. Edisi kelima Penerjemah Markham. Jakarta: Erlangga.