



UJI AKTIVITAS SENYAWA HASIL OKSIDASI KARIOFILENA DENGAN KMnO_4 TERHADAP *Candida Albicans*

Umar Hidayat*), Sudarmin dan Kusoro Siadi

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Januari 2012
Disetujui Februari 2012
Dipublikasikan Agustus 2012

Kata kunci:
hasil oksidasi kariofilena
uji aktivitas antijamur
Candida albicans

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi pengembangan kariofilena melalui reaksi oksidasi dengan KMnO_4 dan untuk mengetahui perbedaan aktivitas antijamur *Candida albicans* antara kariofilena dengan senyawa hasil oksidasi kariofilena. *Candida albicans* merupakan salah satu organisme komensal yang bertindak sebagai flora normal pada tubuh manusia, tetapi *Candida albicans* dapat menyebabkan infeksi yang bersifat menyeluruh dan berakibat fatal. Uji aktivitas senyawa hasil oksidasi kariofilena terhadap jamur *Candida albicans* dengan menggunakan metode disc diffusion. Hasil penelitian menunjukkan: produk reaksi oksidasi kariofilena dengan oksidator KMnO_4 suasana asam diperkirakan berupa senyawa kariolanol dengan konsentrasi sebesar 42,64%; senyawa hasil oksidasi kariofilena (konsentrasi 5% b/v; 25% b/v; dan 75% b/v) mempunyai aktivitas sebagai antijamur *Candida albicans*; senyawa hasil oksidasi kariofilena mempunyai aktivitas antijamur *Candida albicans* lebih efektif dibandingkan kariofilena; dan aktivitas antijamur *Candida albicans* dari senyawa hasil oksidasi kariofilena yang paling efektif ditunjukkan oleh konsentrasi uji 75% b/v dengan diameter hambatan rata-rata sebesar 17,33 mm.

Abstract

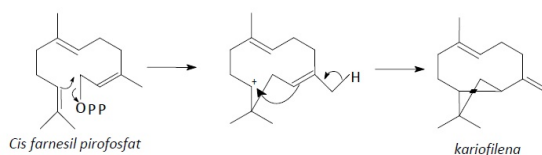
Problems to be observed in this study are the potential development of kariofilena through oxidation reactions with KMnO_4 and to know the difference between the antifungal activity of *Candida albicans* and kariofilena compounds and their oxidation. *Candida albicans* are commensal organism as normal flora on human body, but they can cause infection with characteristic of infection is spread all over body and give fatal effect. More than 50% immunocompromise and immunodeficiency patient will be dead because their infection. Antifungal activity against *Candida albicans* from clove oil maybe come from caryophyllene as candidicide. We have been finished this research about antifungal activity test with disc diffusion method. The result of the research indicate are oxidation reaction of caryophyllene in KMnO_4 gives caryolanol (caryophyllene alcohol) as product as much as 42.64%; oxidation reaction product (5%, 25%, 75% w/v) have antifungal activity against *Candida albicans*; oxidation reaction product is more effective than caryophyllene as antifungal agent against *Candida albicans*; and concentration 75% w/v is the most effective to against *Candida albicans* with average of inhibit zone about 17.33 mm.

© 2012 Universitas Negeri Semarang

Pendahuluan

Candida albicans merupakan salah satu organisme yang bertindak sebagai flora normal pada tubuh manusia dan tidak berbahaya. Namun, *Candida albicans* juga merupakan jamur yang paling banyak menyebabkan infeksi pada manusia. Infeksinya bersifat lokal seperti infeksi oral dan vaginal. Pada pasien-pasien penderita immunocompromise, seperti bayi yang lahir prematur, penderita luka bakar, leukemia, dan pasien-pasien penderita penyakit imunodefisiensi seperti AIDS, infeksi *Candida albicans* dapat bersifat menyeluruh dan berakibat fatal, lebih dari 50% pasien immunocompromise dan imunodefisiensi meninggal akibat infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans* (Riskillah, 2010).

Senyawa kariofilena merupakan senyawa seskuiterpen yang terdapat dalam minyak cengkeh. Biosintesisnya berasal dari *cis* farnesil pirofosfat (Herbert, 1989:86). Kariofilena yang terdapat dalam minyak cengkeh hanya memiliki dua isomer yaitu humulena (α -kariofilena) dan β -kariofilena (Guenther, 1990).



Gambar 1. Biosintesis kariofilena

Penelitian yang dilakukan Fu et al (2007) menghasilkan bahwa minyak cengkeh memiliki daya antifungi terhadap *Candida albicans*. Aktivitas antifungi *Candida albicans* pada minyak cengkeh diperkirakan berasal dari senyawa kariofilena sebagai kandidisida (Duke dalam Hertiani dan Purwantini, 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Goren (2004) terhadap *Satureja thymbra*, Wang (2006) terhadap *Ambrosia trifida* L. dan Azaz et al (2002) terhadap *S. coerulea* yang merupakan tanaman-tanaman yang mengandung senyawa kariofilena ternyata juga memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*.

Pengobatan infeksi jamur *Candida albicans* biasanya dimulai dengan menghindari atau menghilangkan faktor-faktor predisposisi sebelum pemberian pengobatan secara medikamentosa (Riskillah, 2010). Menurut Tietz (2010), terapi obat yang umum digunakan dalam pengobatan kandidiasis vagina adalah clotrimazol, nystatin, fluconazol, posaconazol, atau siklopiroxolamin. Pengobatan medikamentosa memang memberikan hasil

yang cukup memuaskan, tetapi adanya efek samping obat seperti demam, muntah, kejang otot, dan hipotensi dapat menyebabkan kegagalan terapi, dikarenakan keengganan untuk meneruskan terapi tersebut. Al-Attas (2010) mengemukakan bahwa pengobatan kandidiasis pada penderita DM (diabetes melitus) menggunakan senyawa azol seperti fluconazol, ketokonazol, econazol dan mikonazol menunjukkan gejala resistensi terhadap jamur *Candida albicans*.

Menurut Sudarmin (2001), oksidasi senyawa kariofilena dengan KMnO_4 memberikan hasil berupa senyawa kariofolanol (berupa kloanadiol). Senyawa alkohol merupakan salah satu desinfektan/antijamur yang umum digunakan masyarakat, dengan mereaksikan kariofilena hingga diperoleh senyawa turunannya berupa kariofolanol (senyawa alkohol) memungkinkan terjadinya perubahan aktifitas antifungi *Candida albicans* pada senyawa turunan kariofilena tersebut. Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi pengembangan kariofilena melalui reaksi oksidasi dengan KMnO_4 untuk mengetahui perbedaan aktivitas antijamur *Candida albicans* antara kariofilena dan senyawa hasil oksidasi kariofilena.

Metode Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa kariofilena yang diperoleh dari PT. Indesso Aroma Purwokerto, benzena, larutan KMnO_4 , katalis transfer fasa CTAB, H_2SO_4 pekat, Na_2SO_4 anhidrat, aseton, aquadest, media Sabouraud Dextrosa Agar (SDA), gom arab, etanol, kertas saring (cakram Whatmann) dan jamur uji *Candida albicans* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Jawa Tengah. Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat refluks, hotplate magnetic stirrer, corong pisah, termometer, stopwatch, autoclave, neraca digital, inkubator dan jangka sorong. Selain itu diperlukan pula instrumen FTIR, kromatografi gas (GC), dan GC-MS.

Tahap pendahuluan yang dilakukan yaitu identifikasi kariofilena melalui pengujian struktur dengan spektrofotometer IR dan pengujian jumlah komponen dengan kromatografi gas (GC) dan GC-MS. Tahap berikutnya yaitu reaksi oksidasi. Senyawa kariofilena sebanyak 20 mL dimasukkan dalam labu alas bulat leher tiga 250 mL yang sudah dilengkapi termometer, pendingin bola, dan magnetik stirrer, kemudian ditambah benzena

sebanyak 40 mL. Campuran diaduk selama 15 menit kemudian ditambah larutan KMnO_4 0,5 M sebanyak 20 mL tetes demi tetes. Suhu dijaga konstan pada 0-10°C dan 25-27°C. Sebanyak 1 mL H_2SO_4 pekat dimasukkan ke dalam campuran tetes demi tetes. Campuran ditambah CTAB (0,05 g dalam 10 mL aseton). Reaksi dilakukan selama 0,5 jam-1 jam, kemudian setelah dicapai waktu yang diinginkan hasil reaksi dibiarkan selama 1 malam. Setelah didiamkan 1 malam maka akan terbentuk 2 lapisan, lapisan atas fasa organik dan lapisan bawah fasa air. Kedua lapisan dipisahkan menggunakan corong pisah. Fasa air yang diperoleh pada tahap tersebut diekstrak dengan pelarut eter untuk mendapatkan fasa organik yang masih tertinggal. Fasa organik tersebut dicampur dengan fasa organik yang diperoleh pada tahap pemisahan pertama, kemudian ditambah dengan asetaldehid untuk menjernihkan dan dicuci dengan aquadest hingga netral (pH 7). Aquadest yang tercampur dengan fasa organik dipisahkan menggunakan corong pisah, sisa air yang masih ada dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat kemudian disaring dan dievaporasi sehingga diperoleh fasa organik bebas air. Hasil oksidasi (fasa organik) dianalisis struktur dengan spektrofotometer IR dan analisis kadar dengan GC dan GC-MS.

Selanjutnya, untuk uji anti jamur terlebih dahulu disiapkan medianya, pembuatan jamur, dan ujiaktifitasnya. Sebanyak 19,5 gram serbuk SDA dilarutkan dalam 300 mL air suling steril yang sebelumnya telah dipanaskan. Setelah larut dimasukan ke dalam erlenmeyer, disumbat dengan kapas, kemudian disterilkan dalam autoklaf selama 15 menit pada suhu 121°C (Rostinawati, 2007). Setelah media tersedia, maka penyiapan jamurnya sebagai berikut. Satu ose biakan jamur *Candida albicans* murni dimasukkan ke dalam 10 mL medium SDA secara aseptis, digojoj dan diinkubasi dengan menggunakan inkubator pada suhu kamar selama 24 jam. Kemudian melakukan pengenceran 1 mL dari medium SDA dimasukkan ke dalam 9 mL aquadest steril, sehingga didapatkan pengenceran 10^{-1} sebagai sumber jamur.

Uji aktivitas antijamur *Candida albicans* dilakukan sebagai berikut. Medium Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) yang akan digunakan sebagai medium pertumbuhan jamur *Candida albicans* disediakan dengan cara memanaskan Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) kembali, kemudian dituangkan ke dalam cawan petri

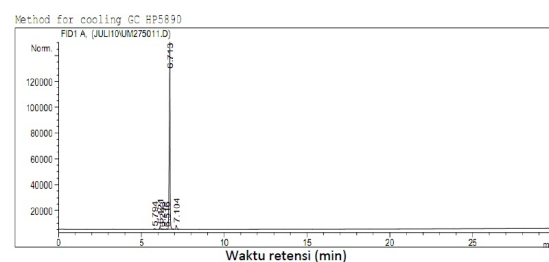
steril secara aseptis. Jamur *Candida albicans* ditanam pada medium Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) dengan cara memasukkan 1 mL biakan jamur hasil pengenceran ke dalam medium Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) kemudian menggoyangkan seperti angka 8.

Cakram Whatmann dicelupkan dalam hasil oksidasi kariofilena pada konsentrasi yang telah ditentukan selama 20 menit agar hasil oksidasi kariofilena bisa meresap ke dalam cakram Whatmann tersebut, kemudian diangin-anginkan dan diletakkan pada medium Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) yang telah ditanami jamur *Candida albicans*. Seluruh cawan petri yang berisi pembenihan jamur *Candida albicans* diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian diamati dan diukur daerah hambat pertumbuhan jamur di sekitar cakram, dilanjutkan dengan menghitung luas daerah hambat/zona beningnya.

Hasil dan Pembahasan

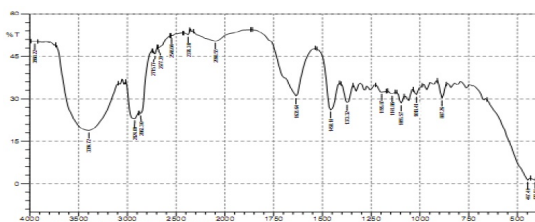
Senyawa kariofilena yang diperoleh dari PT Indeso Aroma Purwokerto diidentifikasi terlebih dahulu menggunakan spektrofotometer IR Shimadzu FTIR Prestige 21 untuk mengetahui gugus fungsi senyawa yang terdapat didalamnya. Hasil analisis struktur kariofilena dengan spektrofotometer IR menunjukkan adanya spektra CH alkana pada panjang gelombang 2926,19 cm^{-1} . Adanya serapan sekitar 1630,84 cm^{-1} diperkirakan berasal dari gugus C=C yang terletak pada C4 atau ikatan rangkap endosiklik. Terdapat pula spektra di sekitar 1449,48 cm^{-1} dan 1382,83-1366,74 cm^{-1} yang diperkirakan merupakan spektra dari $-\text{CH}_2$ dan gem dimetil. Serapan terpenting lainnya yaitu adanya serapan $=\text{CH}_2$ atau ikatan rangkap eksosiklik pada 885,44 cm^{-1} .

Selain itu, dilakukan analisis menggunakan GC untuk mengetahui kadar senyawa kariofilena. Menurut data GC diketahui kadar kariofilena yang akan digunakan sebesar 95,71 %. Kromatogram GC dari senyawa kariofilena dapat dilihat pada Gambar 2.



Gambar 2. Kromatogram GC kariofilena

Reaksi oksidasi kariofilena dilakukan dalam kondisi suhu dingin (0°C -10°C) dan suhu kamar (25°C -27°C) dengan waktu reaksi 1 jam 30 menit. Hasil yang diperoleh untuk reaksi pada suhu dingin belum sesuai yang diharapkan, yaitu belum terbentuk suatu senyawa alkohol, sedangkan senyawa hasil oksidasi kariofilena dalam pelarut benzena pada suhu kamar (25°C -27°C) menunjukkan adanya perubahan pada sifat fisiknya dibandingkan dengan senyawa kariofilena, sehingga diperkirakan terbentuk suatu senyawa baru. Oleh sebab itu, perlu dilakukan analisis untuk mengetahui perubahan tersebut. Analisis yang pertama menggunakan spektrofotometer IR untuk mengetahui gugus fungsi dari senyawa yang terbentuk. Spektra IR yang dihasilkan oleh senyawa hasil oksidasi kariofilena ditunjukkan oleh Gambar 3.



Gambar 3. Spektra IR senyawa hasil oksidasi kariofilena

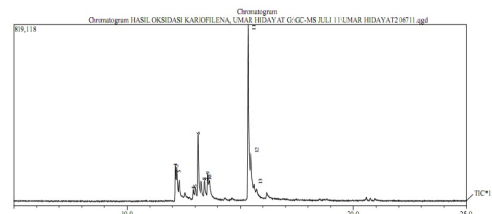
Hasil interpretasi data spektra IR secara lengkap dari senyawa hasil oksidasi kariofilena dengan KMnO₄ dalam pelarut benzena selama 1 jam 30 menit seperti ditunjukkan dalam Tabel 1. Selain dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer IR dilakukan pula analisis menggunakan instrumen GC-MS. Analisis menggunakan GC-MS dimaksudkan untuk mengetahui kadar senyawa hasil oksidasi kariofilena yang terbentuk dan kemungkinan struktur dari senyawa tersebut. Data analisis GC-MS dari senyawa hasil oksidasi kariofilena ditunjukkan oleh Gambar 4.

Tabel 1. Interpretasi data spektra IR dari senyawa hasil oksidasi kariofilena

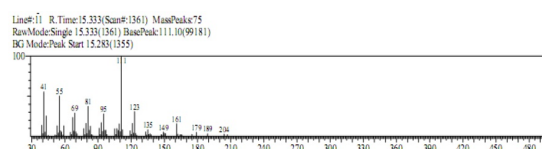
No.	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Karakteristik
1.	3394,72 cm ⁻¹	Gugus hidroksil alkohol
2.	2924,09 cm ⁻¹	Gugus hidrokarbon (-CH) alkana
3.	1458,18 cm ⁻¹	Gugus metilena (-CH ₂ -) dari hidrokarbon
4.	1373,32 cm ⁻¹	Gugus metil (-CH ₃) dari hidrokarbon
5.	1141,86 cm ⁻¹	Ikatan C-O dari hidroksil (alkohol tersier)

Dari Gambar 4, diperkirakan puncak ke sebelas merupakan senyawa alkohol dengan persentase relatif sebesar 42,64 %. Perkiraan tersebut berdasarkan data spektra IR dari senyawa hasil oksidasi kariofilena yang menunjukkan adanya serapan gugus OH

(hidroksil) dengan intensitas tinggi, sehingga dapat disarankan bahwa peak ke sebelas yang merupakan komponen dengan kelimpahan relatif tertinggi sebagai senyawa alkohol. Data dari mass spectra peak ke sebelas ditunjukkan oleh Gambar 5.

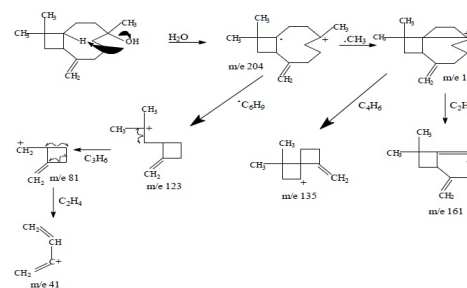


Gambar 4. Kromatogram GC-MS senyawa hasil oksidasi kariofilena



Gambar 5. Data mass spectra GC-MS dari peak ke sebelas

Berdasarkan data mass spectra GC-MS dari peak ke sebelas, maka dapat diajukan perkiraan fragmentasi struktur senyawa alkohol tersebut. Perkiraan fragmentasi dari struktur senyawa alkohol tersebut ditunjukkan oleh Gambar 6.



Gambar 6. Perkiraan fragmentasi senyawa kariofilanol

Hasil pengujian aktivitas senyawa hasil oksidasi kariofilena dan senyawa kariofilena menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut mempunyai aktivitas sebagai antijamur *Candida albicans*, yang ditunjukkan dengan terdapatnya daerah hambat pada media biakan *Candida albicans*. Berdasarkan besarnya zona hambat/daerah bening di sekitar cakram uji, dapat diketahui bahwa terjadi peningkatan aktivitas daya hambat jamur *Candida albicans* oleh senyawa hasil oksidasi kariofilena dibandingkan senyawa kariofilena awal. Aktivitas daya hambat terbesar dari senyawa hasil oksidasi kariofilena terdapat pada konsentrasi 75% dengan diameter zona hambat rata-rata sebesar 17,33 mm, sedangkan senyawa

kariofilena memberikan daya hambat rata-rata sebesar 11,67 mm untuk konsentrasi yang sama.

Tabel 2. Diameter zona penghambatan (mm) dari senyawa kariofilena dan hasil oksidasi kariofilena terhadap jamur *Candida albicans*

Sampel uji	Diameter hambatan (mm) sampel uji antijamur <i>Candida albicans</i> untuk masing-masing konsentrasi		
	5% b/v	25% b/v	75% b/v
Kariofilena	11 mm	12 mm	13 mm
	11 mm	12 mm	13 mm
	10 mm	10 mm	10 mm
Hasil Oksidasi Kariofilena	12 mm	13 mm	16 mm
	12 mm	13 mm	16 mm
	10 mm	15 mm	20 mm

Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan sebagai berikut. Pertama, reaksi oksidasi kariofilena dengan kalium permanganat dalam suasana asam dan suhu kamar menghasilkan senyawa kariolanol dengan konsentrasi sebesar 42,64 %. Kedua, senyawa hasil oksidasi kariofilena mempunyai aktivitas sebagai antijamur *Candida albicans* berdasarkan adanya daerah bening/zona hambat di sekitar cakram uji. Ketiga, senyawa hasil oksidasi kariofilena mempunyai aktivitas antijamur *Candida albicans* yang lebih efektif dibandingkan senyawa kariofilena. Keempat, kemampuan aktivitas antijamur *Candida albicans* dari senyawa hasil oksidasi kariofilena yang paling efektif ditunjukkan oleh konsentrasi uji 75% b/v dengan diameter hambatan rata-rata sebesar 17,33 mm.

Daftar Pustaka

- Al-Attas, S.A., Soliman O.A. 2010. Candidal Colonization, Strain Diversity, and Antifungal Susceptibility among Adult Diabetic Patients. Department of Oral and Clinical Sciences-Faculty of Dentrities-King Abdul Aziz University, Jeddah-Saudi Arabia
- Azaz, D., F. Demirci, F. Satıl, Mine Kürkcüoğlu and Kemal Hüsnü Can Baser. 2002. Antimicrobial Activity of Some Satureja Essential Oils. Verlag der Zeitschrift für Naturforschung, Tübingen. www.znaturforsch.com.
- Fu, Yu Jie., Yuan Gang Zu, Li Yan Chen, Xiao Guang Shi, Zhe Wang, Su Sun, and Thomas Efferth. 2007. Antimicrobial activity of clove and rosemary essential oils alone and in combination. Key Laboratory of Forest Plant Ecology, Ministry of Education, Northeast Forestry University, Harbin 150040, P. R. China
- Goren, A.C., G. Topcu, G. Bilsel, M. Bilsel, J.M. Wilkinson, H.M.A. Cavanagh. 2004. Analysis of essential oil of *Satureja thymbra* by hydrodistillation, Thermal desorber, and headspace GC/MS techniques and its Antimicrobial activity Natural Product Research, Vol. 18, No. 2, April 2004, pp.189–195
- Guenther, E. 1990. The Essential Oils. New York : Robert E Krieger Publishing Co., Inc
- Herbert, R.B. 1989. The Biosynthesis of Secondary Metabolites. New York : Champman and Hall
- Hertiani, T. dan I. Purwantini. 2002. Minyak Atsiri Hasil Destilasi Ekstrak Etanol Daun Sirih (*Piper betle* L.) dari Beberapa Daerah di Yogyakarta dan Aktivitas Antijamur Terhadap *Candida Albicans*. Fakultas Farmasi, UGM-Majalah Farmasi Indonesia, 13 (4), 193-199, Yogyakarta
- Riskillah, A.G. 2010. *Candida Albicans*. Riau: Faculty of Medicine – University of Riau
- Rostinawati, Tina. 2007. Uji aktivitas hasil penyarian biji mahkota dewa (*phaleria macrocarpa* [scheff.] terhadap beberapa mikroba penyebab infeksi kulit. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran
- Sudarmin. 2001. Transformasi Senyawa Kariofilena menjadi Turunannya melalui Reaksi Hidrolisis Menggunakan Katalis Asam. Laporan Penelitian didanai DIKS Lemlit Unnes, Semarang
- Tietz, H.J. 2010. Treatment of chronic vulvovaginal candidiasis with posaconazole and ciclopiroxolamine. Fungal Infection and Microbiology Institute, Berlin, Germany
- Wang, Peng, C.H. Kong, dan C.X. Zhang. 2006. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oil from *Ambrosia trifida* L. Molecules 2006, 11, 549-555 ISSN 1420-3049