

DOI: 10.21009/Bioma18(1).1

Research article

UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK BIJI MIMBA (*Azadirachta indica*) TERHADAP *Trichophyton mentagrophytes* SECARA IN VITROYuni Sartika Sari^{1*}, Ernin Hidayati², I Made Sudarma³¹ Program Studi Farmasi, Universitas Mataram, Jln. Majapahit No. 62 Mataram² Program Studi Biologi, Universitas Mataram, Jln. Majapahit No. 62 Mataram³ Program Studi Kimia, Universitas Mataram, Jln. Majapahit No. 62 Mataram

* Corresponding author: Sartika2925@gmail.com

ABSTRACT

Fungal infections in tropical areas including Indonesia are relatively high. One of the fungi that can infect is *Trichophyton mentagrophytes* which can cause skin diseases such as *tinea pedis*, *tinea cruris* and others. As an alternative treatment, neem seed extract is used. One use as an antifungal. The aim of the research was to determine the ability of neem seed extract to inhibit the growth of *Trichophyton mentagrophytes* and to compare the effectiveness of each extract of neem seed against *Trichophyton mentagrophytes*. The extraction method used is multilevel maceration using *n*-hexane, dichloromethane and methanol as solvents. Test the antifungal activity using the well method. The resulting data were analyzed using the Post-Hoc Least Significant Difference (LSD) and the compound content of each extract was analyzed using the GC-MS instrument. The results showed that the *n*-hexane extract had the highest inhibition compared to the dichloromethane and methanol extracts. The average diameter of the inhibition zone for the *n*-hexane extract was 11.12 mm, for the dichloromethane extract was 10.37 mm and for the methanol extract was 9.75 mm. The results of compound analysis using GCMS neem seed extract contained palmitic acid, stearic acid and heptadecene-8-carbonic acid which were suspected to have antifungal properties. The results of the One Way Anova analysis followed by the Post Hoc Least Significant Difference (LSD) test showed that the *n*-hexane, dichloromethane and methanol extracts had the same activity in inhibiting the growth of the fungus *Trichophyton mentagrophytes* ($p>0.05$).

Keywords: Neem seed extract (*Azadirachta indica*), *Trichophyton mentagrophytes*, antifungal

PENDAHULUAN

Dermatofita merupakan penyebab utama mikosis pada manusia dan menjadi masalah kesehatan masyarakat terutama di negara tropis seperti Indonesia. Cuaca yang lembab dan kurangnya kebersihan menjadi tempat pertumbuhan dermatofita (Natarajan *et al.*, 2003). Kelompok dermatofita yaitu genus *Microsporum*, *Trichophyton* dan *Epidermophyton* (Jawetz *et al.*, 2001) menyerang jaringan yang berkeratin (kulit, rambut dan kuku). Banyaknya penyakit yang diakibatkan oleh jamur memicu diciptakannya antijamur. Saat ini, obat antijamur seperti ketokonazol, klotrimazol, mikonazol dan griseofulvin sudah banyak tersedia bebas dipasaran. Penggunaan obat-obatan sintesis jangka panjang dapat menimbulkan efek samping seperti iritasi pada kulit, mual, muntah, leukopenia, nekrosis epidermal toksik, gangguan fungsi hati dan gangguan saluran cerna. Salah satu tanaman yang berkhasiat obat yang dapat digunakan sebagai anti jamur adalah mimba (*Azadirachta indica*). Biji mimba (*Azadirachta indica*) banyak memiliki

fungsi, diantaranya sebagai pestisida alami, fungisida, antibakteri, spermisida, sabun minyak mimba dan pelumas minyak mimba (Ambarwati, 2011).

Menurut Tjitrosoepomo (2000) tanaman mimba termasuk ke dalam Suku *Meliaceae* dan Jenis *Azadirachta indica* A.Juss.. Tumbuhan yang berasal dari alam yang berpotensi sebagai pestisida nabati mempunyai ciri khas rasa pahit (mengandung alkaloid dan terpen). *Azadirachtin* termasuk golongan tetranortriterpenoid yang terdapat dalam biji mimba (“*neem tree*”, *Azadirachta indica*) (Sudarma, 2014). Biji mimba banyak mengandung minyak dan zat aktif untuk pestisida yaitu azadirachtin yang mencapai 0,1-0,5% (rata-rata 0,25%) dari berat kering biji mimba (Ambarwati, 2011) memiliki potensi sebagai fungisida nabati (Sudarmo, 2005). Penelitian Sintowati *et al.* (2008) menunjukkan biji mimba cair (*organoneem*) efektif menghambat pertumbuhan *T.mentagrophytes*.

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan senyawa untuk mengambil zat aktifnya. Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik zat aktif dari sampel yang akan diteliti. Ekstraksi ada dua cara, pertama ekstraksi tidak bertingkat yang merupakan proses ekstraksi menggunakan pelarut tunggal untuk menghasilkan senyawa total yang terekstrak. Ekstraksi menggunakan pelarut tunggal dapat dilakukan apabila senyawa yang dicari diketahui polaritasnya (Sudarma, 2014). Kedua ekstraksi bertingkat yang merupakan proses ekstraksi dengan menggunakan dua atau lebih pelarut untuk memisahkan senyawa berdasarkan polaritasnya. Ekstraksi bertingkat akan menghasilkan senyawa yang spesifik pada setiap pelarut yang digunakan (Permadi *et al.*, 2013).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan ekstrak biji mimba dalam menghambat pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes* dan mengetahui perbandingan efektivitas masing-masing ekstrak biji mimba terhadap *Trichophyton mentagrophytes* serta mengetahui kandungan senyawa ekstrak biji mimba.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Laminar flow cabinet, autoclave, oven, cawan petri, jarum ose, bunsen, batang pengaduk, inkubator, micropipet, blue tip, tube, pot sampel, gelas ukur, bejana maserasi, biji mimba, *Trichophyton mentagrophytes* strain ATCC 36107 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi Universitas Sumatera Utara, n-heksan, diklorometan, metanol, kentang, dekstrosa, agar, aluminium foil, kertas wrap, kertas jagung, alkohol 70%, akuades, spiritus, NaCl fisiologis, tisu, tween 80, kapas.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dimulai pada bulan April sampai September 2018. Bertempat di Laboratorium Farmasi, Laboratorium Biologi, Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium FKIP Universitas Mataram.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain penelitian rancangan acak lengkap (RAL).

Prosedur Penelitian

Ekstraksi

Buah mimba dibersihkan dan ditimbang, kemudian dagingnya dikupas sampai tersisa bijinya. Selanjutnya biji diangin-anginkan dan di oven selama 3 hari. Setelah kering kemudian diblender sehingga diperoleh serbuk biji mimba. Sebanyak 200 g serbuk biji mimba dimaserasi menggunakan 1 liter n-heksan, kemudian didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam disaring dan residu

dimaserasi dengan 615 ml diklorometan, didiamkan selama 24 jam. Setelah 24 jam disaring dan residu dimaserasi dengan 520 ml metanol dan diperlakukan sama seperti pelarut sebelumnya sehingga diperoleh filtrat n-heksan, diklorometan dan metanol, kemudian ketiga filtrat di pekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental, setelah itu ditimbang untuk menghitung rendemen dari masing-masing ekstrak.

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot ekstrak}}{\text{bobot simplisia}} \times 100\%$$

Uji Aktivitas Antifungi dengan Metode Sumuran

Sebanyak 50 µL suspensi jamur diambil menggunakan mikropipet dari tabung, kemudian diletakkan ditengah-tengah cawan petri yang berisi medium PDA. Suspensi disebar menggunakan *spread glass* sehingga suspensi jamur tersebar merata, kemudian dibuat sumuran menggunakan perforator dan dituangkan larutan uji sebanyak 50 µL, tween 80 digunakan sebagai kontrol negatif dan ketokonazole digunakan sebagai kontrol positif. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam, diamati dan diukur daerah hambatnya. Zona hambat diukur dengan diameter vertikal dan diameter horizontal dengan satuan milimeter (mm) dengan menggunakan penggaris. Diameter zona hambat diukur dengan rumus :

$$\text{Diameter zona hambat} = \frac{(Dv - Ds) + (Dh - Ds)}{2}$$

Keterangan :

- Dv : Diameter Vertikal
- Dh : Diameter Horizontal
- Ds : Diameter Sumuran

Analisis Kandungan Kimia dan Analisis Data

Analisis kandungan kimia menggunakan instrumen GCMS dilakukan untuk mengidentifikasi senyawa yang ada dalam ekstrak yang menunjukkan daya hambat paling tinggi. Dilakukan uji statistik dengan menggunakan *One Way Anova* untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh signifikan antara n-heksan, diklorometan dan metanol. Jika terdapat perbedaan bermakna, maka dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc Least Significant Difference (LSD)* untuk mengetahui perbedaan secara signifikan dari data satu kelompok perlakuan ekstrak n-heksan dengan perlakuan lainnya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Dari hasil identifikasi sampel biji, batang, daun dan akar mimba yang dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram bahwa sampel yang digunakan adalah *Azadirachta indica* A.juss.

Karakteristik Ekstrak

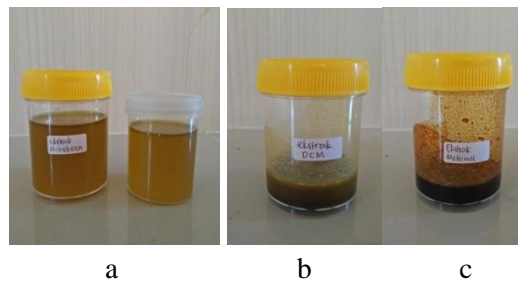
Simplisia diekstrak dengan pelarut n-heksan, diklorometan dan metanol menggunakan metode maserasi bertingkat. Maserasi bertingkat digunakan karena akan memisahkan lebih awal senyawa berdasarkan polaritasnya, selain itu juga tujuan maserasi bertingkat untuk menarik seluruh senyawa yang terkandung dalam biji mimba. Dalam penelitian Permadi *et al.* (2013) metode maserasi bertingkat diharapkan mendapat ekstrak cair yang berkualitas dibandingkan dengan metode

maserasi tidak bertingkat karena metode maserasi bertingkat akan menghasilkan senyawa kimia golongan lain selain flavonoid yang terdistribusi berdasarkan pelarut yang digunakan.

Table 1. Karakteristik Ekstrak

Karakteristik Ekstrak	Ekstrak n-Heksan	Ekstrak DCM	Ekstrak Metanol
Rendemen	30,68%	9,78%	11,39%
Warna	Kuning	Hijau tua	Coklat
Bentuk	Minyak	Padat	Kental

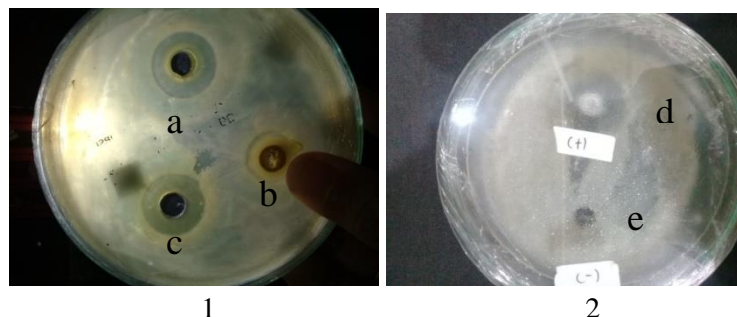
Tabel 1 memperlihatkan perbedaan karakter dari masing-masing ekstrak, rendemen yang paling banyak dihasilkan oleh ekstrak n-heksan. Hal ini disebabkan karena pelarut n-heksan lebih reaktif untuk mengekstrak minyak biji mimba (Aziz *et al.*, 2009), selain itu juga n-heksan yang bersifat non polar cenderung mengekstrak kandungan minyak dalam biji mimba (Widyasanti *et al.*, 2016). Bentuk seperti minyak berwarna kuning pada ekstrak n-heksan biji mimba disebabkan karena ekstrak n-heksan biji mimba mengandung minyak dan senyawa-senyawa non polar, sedangkan warna coklat pada metanol menandakan terdapat azadirachtin yang berwarna coklat gelap (Indrianingsih *et al.*, 2007).



Gambar 1. Ekstrak kental biji mimba setelah dipekatkan menggunakan *vacum rotary evaporator* (a) ekstrak n-heksan (b) ekstrak diklorometan (c) ekstrak methanol.

Kemampuan Daya Hambat Ekstrak biji Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap Pertumbuhan *T.mentagrophytes*

Hasil pengujian efektivitas antifungi ekstrak biji mimba terhadap *T.mentagrophytes* setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 35°C disajikan dalam tabel 2.



Gambar 2. Hasil uji daya hambat ekstrak biji mimba terhadap *T.mentagrophytes* yang ditandai dengan terbentuknya zona bening pada sekitar sumuran (1a) ekstrak n-heksan (1b) ekstrak diklorometan (1c) ekstrak metanol (2d) kontrol positif (2e) kontrol negatif tidak terbentuk zona bening.

Table 2. Diameter Zona Hambat

Jenis Ekstrak	Pengukuran Diameter Zona Bening (mm)				Rata-rata
	Pengulangan ke-				
	I	II	III	IV	
Ekstrak N- heksan	14	11	10,5	9	11,12
Ekstrak Diklorometan	10	7,5	13	11	10,37
Ekstrak Metanol	14,5	7	9	8,5	9,75
Kontrol Positif	14	15	10	17	14
Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

Tabel 2 menunjukkan hasil rata-rata diameter zona hambat terbesar pada kelompok kontrol positif, yaitu sebesar 14,00 mm. Pada kelompok perlakuan diameter zona hambat terbesar ditunjukkan oleh ekstrak n-heksan yaitu 11,12 mm diikuti dengan ekstrak diklorometan dengan daya hambat sebesar 10,37 mm dan metanol 9,75 mm, sedangkan untuk kontrol negatif tidak menunjukkan adanya zona hambat. Dalam penelitian ini ekstrak yang efektif dalam menghambat pertumbuhan *T. mentagrophytes* adalah ekstrak n-heksan dengan diameter zona hambat sebesar 11,12 mm, karena zona hambat yang terbentuk termasuk ke dalam golongan yang kuat dengan nilai ≥ 11 mm. Sedangkan ekstrak diklorometan dan metanol tergolong sedang dengan nilai ≤ 10 mm. Hal ini sama dengan penelitian Octarya dan Robi (2015) ekstrak daun ketepeng cina pada pelarut n-heksan membentuk zona hambat dengan diameter rata-rata sebesar 14,56 mm dalam menghambat pertumbuhan *Trichophyton* sp.

Kandungan Kimia Ekstrak Biji Mimba

Hasil analisis kandungan senyawa ekstrak biji mimba menggunakan GCMS menunjukkan bahwa pada masing-masing ekstrak mengandung senyawa asam lemak yang sama seperti asam stearat, asam palmitat dan Heptadecene-8-Carbonic acid. Senyawa-senyawa tersebut diduga memiliki sifat sebagai antifungi, Dalam penelitian Altieri *et al.* (2009), asam palmitat merupakan asam lemak jenuh yang memiliki sifat sebagai antijamur. Asam stearat diduga mampu menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton Sp* karena Asam stearadonat mampu menghambat aktivitas mitokondria dan pembentukan biofilm (Thibane *et al.*, 2010). Menurut penelitian Yuliana *et al.* (2015) Heptadecene-8-Carbonic acid dalam kantong polen memiliki kemampuan sebagai agen antimikroba.

Analisis Data

Data yang dihasilkan di analisis statistik *One Way Anova* menggunakan SPSS 16 untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh signifikan antara n-heksan, diklorometan dan metanol. Terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas, hasil uji normalitas menunjukkan data berdistribusi normal dan homogen dengan nilai $p > 0,05$ dan nilai Anova $p < 0,05$ yang artinya terdapat satu kelompok perlakuan yang memiliki perbedaan yang signifikan, sehingga dilanjutkan dengan analisis *Post-Hoc Least Significant Difference* (LSD). Berdasarkan hasil uji *Post-Hoc Least Significant Difference* (LSD) tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok ekstrak n-heksan dengan diklorometan ($p > 0,05$), n-heksan dengan metanol ($p > 0,05$) diklorometan dengan metanol ($p > 0,05$). Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak n-heksan, diklorometan dan metanol memberikan pengaruh yang sama dalam menghambat pertumbuhan *T. mentagrophytes*.

SIMPULAN

Ekstrak n-heksan, diklorometan dan metanol biji mimba mampu menghambat pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes*. Ekstrak n-heksan lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton mentagrophytes* dengan rata-rata diameter zona hambat 11,12 mm dibandingkan dengan ekstrak diklorometan dengan rata-rata diameter zona hambat 10,37 mm dan metanol 9,75 mm. Hasil analisis senyawa menggunakan GCMS ekstrak biji mimba mengandung asam palmitat, asam stearat dan *Heptadecene-8-Carbonic acid* yang diduga memiliki sifat sebagai antijamur.

DAFTAR PUSTAKA

- Altieri, C., Bevilacqua, A., Cardillo, D dan Sinigaglia, M., 2009. Antifungal Activity of Fatty Acid and Their Monoglycerides against *Fusarium* spp in a Laboratory Medium. *International Journal of Food & Technology*, 44: 242-245. Diakses dari <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.13652621.2007.01639.x> pada tanggal 8 oktober 2018.
- Ambarwati. 2011. Mimba Sebagai Antibakteri, Antifungi dan Biopestisida. *Jurnal Kesehatan* Vol. 4. Surakarta: Fakultas Ilmu Kesehatan UMS. Diakses dari <https://publikasiilmiah.ums.ac.id/bitstream/handle/11617/2944/5.%20AMBARWATI.pdf;sequence=1> pada tanggal 18 November 2017.
- Aziz, Tamzil., Cindo, Ratih, K, A dan Fresca, Asima. 2009. Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut dan Waktu Ekstraksi Terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi. *Jurnal Teknik Kimia*, Vol. 16, No. 1. Palembang: Fakultas Teknik Universitas Sriwijaya. Diakses dari <http://jtk.unsri.ac.id/index.php/jtk/article/viewFile/61/62&ved=2> pada tanggal 18 Oktober 2018.
- Indrianingsih, Anastasia, W., Nisa, Khoirun., Damayanti, Ema., Maryana, Roni dan Krido, Satrio, W. 2007. Efektivitas Fraksi N-Heksana, Kloroform dan Etanol Ekstrak Biji Mimba Sebagai Biopestisida Untuk Jamur *Alternaria porii*. *Teknologi Proses Pangan*. Yogyakarta: UPT BPPT Kimia LIPI. Diakses dari <http://www.researchgate.net/publication/273130034> pada tanggal 18 Oktober 2018.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 2001. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi XXII. Diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209. Jakarta: Penerbit Salemba Medika.
- Natarajan, V., PV Venugopal dan T Menon. 2003. Effect of *Azadirachta indica* (neem) on the Growth Pattern of Dermatophytes. *Indian Journal of Medical Microbiology*. (2):98-101. Diakses dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/17642990> pada tanggal 18 Desember 2017.
- Octarya, Zona dan Robi Saputra. 2015. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Jumlah Ekstrak dan Daya Antifungi Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata L.*) Terhadap Jamur *Trichophyton Sp.* *Jurnal Photon*, Vol. 5, No. 2. Riau: FMIPA UMRI. Diakses <http://ejurnal.umri.ac.id/index.php/photon/article/download/581/286.&ved=2> dari pada tanggal 2 Oktober 2018.
- Permadi, Afif., Sutanto dan Sri Wardatun. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Bertingkat dan Tidak Bertingkat Terhadap Flavonoid Total Herba Ciplukan (*Physalis angulata L.*) Secara Kolorimetri. *e-Jurnal*. Bogor: Universitas Pakuan Diakses dari <http://perpustakaan.fmipa.unpak.ac.id/file/e-jurnal%2520arif%2520066111148.pdf&ved=2> pada tanggal 25 September 2018.

- Sintowati, R., Ambarwati dan Kusumawati, Y., 2008. Efektivitas Zat Antifungi Biji Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. *Jurnal Kesehatan Motorik*, Vol. 4 (7): 57-65. Diakses dari <https://publikasiilmiah.ums.ac.id/handle/11617/1460?show=full> pada tanggal 9 Oktober 2017.
- Sudarma, I Made. 2014. *Kimia Bahan Alam*. Mataram: Universitas mataram.
- Sudarmo, S. 2005. *Pestisida Nabati Pembuatan Dan Pemanfaatannya*. Yogyakarta: Kanisius.
- Thibane, Vuyisile S., Kock, Johan L. F., Ells, Ruan., Wyk, Pieter W. J dan Pohl, Carolina H. 2010. *Effect of Marine Polyunsaturated Fatty Acids on Biofilm Formation of Candida albicans and Candida dubliniensis*. *Marine Drugs*. Diakses dari <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2992994/&ved=2> pada tanggal 8 Oktober 2018.
- Tjitrosoepomo, G. 2000. *Morfologi Tumbuhan*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press.
- Widyasanti, Asri., Rohdiana, Dadan dan Novriana Ekatama. 2016. Aktivitas antioksidan Ekstrak Temu Putih (*Camellia Sinensis*) dengan Metode DPPH (2,2 Difenil-1-Pikrilhidrazil). *Fortech*, Vol. 1. Bandung: Universitas Padjadjaran. Diakses dari <http://ejournal.upi.edu/index.php> pada tanggal 16 November 2018.
- Yuliana, Renita., Sutariningsih, E., Santoso, H., B., Hendarto, K., A dan Riendrasari, S., D. 2015. Daya Antimikrobia Sarang Lebah Madu *Trigona spp* terhadap Mikrobia Patogen. *Bioedukasi*, Volume 8, No 1, Hal 67-72. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada. Diakses dari <https://media.neliti.com/media/publications/60819-ID-daya-antimikrobia-sarang-lebah-madu-trig.pdf&ved=2> pada tanggal 9 Oktober 2018.