

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*

¹**Lisa M. L. Ramschie**

²**Pieter L. Suling**

¹**Krista V. Siagian**

¹Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran

²Bagian Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran

Universitas Sam Ratulagi Manado

Email: lisa.lea@icloud.com

Abstract: Noni (*Morinda citrifolia* L.) leaves contain antraquinon, atsiri oil, saponin, tannin, alkaloid, flavonoid, polifenol, and sterol that have been proved can inhibit the growth of *Candida albicans*. This study was aimed to establish the minimum inhibitory concentration (MIC) of noni leaf extract against *Candida albicans*. This was a true experimental study with a randomized pretest-posttest control group design. We used serial dilution method with turbidimetry and spectrophotometry tests. Noni leaves were extracted by using maceration with 96% ethanol. *Candida albicans* fungi were obtained from Microbiology Laboratory of Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Sam Ratulangi University. The turbidimetry test using three repetitions showed that the MIC of noni leaf extract against *Candida albicans* was 6.25% meanwhile the spectrophotometry test established 12.5% as the MIC of noni leaf extract. **Conclusion:** Minimum inhibitory concentration of noni (*Morinda citrifolia* L.) leaf extract against the growth of *Candida albicans* was 12.5%.

Keywords: noni (*Morinda citrifolia* L.), *Candida albicans*, minimum inhibitory concentration (MIC)

Abstrak: Daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) mengandung *antraquinon*, minyak atsiri, saponin, tannin, alkaloid, flavonoid, polifenol dan sterol yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Penelitian ini bertujuan untuk mendapatkan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak daun mengkudu terhadap *Candida albicans*. Jenis penelitian ialah eksperimental murni dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Metode yang digunakan dalam penelitian yaitu serial dilusi dengan pengujian turbidimetri dan spektrofotometri. Daun mengkudu diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Jamur *Candida albicans* diambil dari stok jamur Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pengujian turbidimetri dengan tiga kali perlakuan mendapatkan KHM pada konsentrasi 6,25% sedangkan pengujian spektrofotometri mendapatkan KHM pada konsentrasi 12,5%. **Simpulan:** Konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* terdapat pada konsentrasi 12,5%.

Kata kunci: mengkudu (*Morinda citrifolia* L.), *Candida albicans*, konsentrasi hambat minimum (KHM)

Tanaman tradisional saat ini telah banyak digunakan sebagai bahan obat. Salah satu bahan alami yang dimanfaatkan sebagai

bahan obat tradisional yaitu mengkudu (*Morinda citrifolia* L). Sekitar 6000 tahun yang lalu buah dan daunnya telah dipakai

sebagai obat-obatan. Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) berperan sebagai tanaman obat karena memiliki kandungan *antraquinon*, minyak atsiri, saponin, tannin, alkaloid, flavonoid, polifenol dan sterol yang bersifat analgesik, antiseptik, antiinflamasi, antibakteri, dan antifungi.^{1,2}

Salah satu penyebab penyakit dalam rongga mulut yang sering ditemukan yaitu jamur *Candida albicans*. Jamur ini termasuk spesies jamur patogen yang merupakan flora normal dalam rongga mulut. Kurangnya kesadaran menjaga kebersihan rongga mulut dapat menyebabkan koloni jamur terus meningkat sehingga terjadi peradangan disekitar rongga mulut. Kondisi mulut yang buruk akibat penumpukan plak dan sisa makanan dapat menyebabkan *denture stomatitis* yang sering dijumpai pada pengguna gigi tiruan.³⁻⁵

Tindakan pencegahan diperlukan dalam penanganan terjadinya infeksi rongga mulut yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Pemberian antifungi menggunakan bahan herbal merupakan salah satu pilihan pengobatan yang relatif lebih terjangkau.⁶ Penelitian sebelumnya yang dilakukan Simatupang et al.⁷ menyatakan bahwa ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) memiliki daya hambat dalam kategori kuat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, namun kadar hambat minimum (KHM) belum dilaporkan. Kadar hambat minimum (KHM) merupakan karakteristik konsentrasi minimum sebagai obat anti mikroba terhadap jamur, bakteri, protozoa yang dapat menghambat mikroorganisme 18-24 jam setelah masa inkubasi.⁸⁻¹⁰

Berdasarkan latar belakang di atas dan dalam rangka mengoptimalkan pemanfaatan potensi daun mengkudu sebagai anti jamur peneliti tertarik untuk melakukan uji KHM ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental laboratorium (*true experimental design*) dengan *randomized pretest-posttest control group design*. Penelitian ini dilaksanakan di

Laboratorium Fitokimia dan Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi pada bulan Juni 2017. Subjek dalam penelitian ini ialah jamur biakan murni *Candida albicans* dari rongga mulut yang diperoleh di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado. Pembuatan ekstrak daun mengkudu dilakukan di Laboratorium Farmasi MIPA Universitas Sam Ratulangi Manado.



Gambar 1. Daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.)

Pada penelitian ini metode yang digunakan ialah serial dilusi atau pengenceran bertingkat dengan perbandingan 1:2 (w/v). Metode pengujian menggunakan turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis.

Sebanyak 11 tabung reaksi steril disiapkan. Setiap tabung uji diberi label 1-9, kemudian tabung 10 diberi label K(+) yaitu kontrol positif yang berisi *Candida albicans* setara dengan kekeruhan McFarland 1. Tabung 11 diberi label K(-) yaitu kontrol negatif, berisi ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) dengan konsentrasi 100%. Tabung 1 diisi sebanyak 4 ml konsentrasi 100% ekstrak daun mengkudu. Tabung 2-9 diisi dengan 2 ml media cair NaCl kemudian diambil 2 ml larutan dari tabung 1, dimasukkan ke dalam tabung 2, dicampur hingga homogen sehingga didapatkan konsentrasi 50%. Hal yang sama dilakukan hingga tabung 9 dan didapatkan semua konsentrasi ekstrak daun mengkudu dengan perbandingan 1:2 (w/v).

Metode pengujian yang digunakan

dalam penelitian ini ialah metode turbidimetri untuk pengujian kekeruhan secara visual, kemudian dilanjutkan dengan menggunakan alat spektrofotometer untuk melihat nilai absorbansi sebagai penentu kekeruhan yang akurat. Untuk menguji kekeruhan, diambil media suspensi jamur yang sudah disetarakan dengan standar kekeruhan McFarland sebanyak 0,5 ml, kemudian dimasukkan kedalam tabung reaksi perlakuan label 1 lalu diukur nilai absorbansi awal dengan spektrofotometer. Hal yang sama dilakukan pada tabung perlakuan label 2-9. Setiap tabung yang telah diketahui nilai absorbansi awal kemudian dimasukkan kedalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 1x24 jam. Pada penelitian ini, perlakuan dan pengujian diulang sebanyak dua kali.

Setelah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung tersebut dilihat kekeruhannya secara visual. Bila kekeruhan masing-masing tabung masih setara atau lebih keruh dari tabung K(+) yang berisi suspensi jamur *Candida albicans* sesuai standar kekeruhan McFarland berarti jamur masih dapat bertumbuh, tetapi ketika larutan dalam tabung terlihat mulai lebih jernih daripada tabung K(-) berarti pertumbuhan jamur mulai terhambat, yang menunjukkan konsentrasi hambat minimum (KHM).

Setelah media tabung perlakuan diinkubasi selama 1x24 jam, semua tabung perlakuan tersebut diukur lagi nilai absorbansinya dengan spektrofotometer sebagai nilai absorbansi akhir. Jika nilai absorbansi akhir (sesudah inkubasi) masing-masing tabung lebih besar dari nilai absorbansi awal (sebelum inkubasi), maka disimpulkan bahwa masih terjadi pertumbuhan jamur. Namun, jika sebaliknya tidak terdapat perubahan nilai absorbansi antara nilai absorbansi awal dan nilai absorbansi akhir, atau nilai absorbansi akhir lebih kecil dari nilai absorbansi awal, maka disimpulkan bahwa pertumbuhan jamur dihambat. Konsentrasi hambat minimum ditentukan dengan konsentrasi terkecil pada tabung perlakuan yang sudah mulai menghambat pertumbuhan jamur.

HASIL PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Program Studi Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sam Ratulangi untuk mendapatkan data tentang kadar hambat minimum ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) terhadap *Candida albicans* yang dilihat menggunakan metode turbidimetri dan spektrofotometer UV-Vis.

Tabel 1 menunjukkan pengujian menggunakan metode turbidimetri dengan tiga kali perlakuan. Perlakuan I, II, dan III menunjukkan KHM terlihat pada konsentrasi 6,25%.

Tabel 2 menunjukkan bahwa pada konsentrasi 100% terjadi kenaikan nilai absorbansi kemudian pada konsentrasi 50% terjadi penurunan nilai absorbansi sampai pada konsentrasi 12,5%. Pada konsentrasi 6,25% terjadi kenaikan nilai absorbansi, kemudian terjadi penurunan nilai absorbansi pada konsentrasi 3,125% sampai pada konsentrasi 0,78%, dan terjadi kenaikan nilai absorbansi pada konsentrasi 0,39% sehingga konsentrasi 12,5% ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

BAHASAN

Dalam penelitian ini dilakukan uji KHM ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dengan menggunakan pengenceran bertingkat perbandingan 1:2 (w/v) yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,56%, 0,78%, 0,39%. Pada penelitian ini dilakukan dua pengujian, yaitu uji turbidimetri untuk melihat nilai kekeruhan secara visual dan pengukuran nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

Melalui uji turbidimetri dengan penglihatan secara kasat mata untuk tiga kali perlakuan didapatkan konsentrasi 6,25% merupakan KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Perlakuan dilakukan setelah diinkubasi selama 24 jam. Dengan metode pengujian secara visual (turbidimetri) sudah bisa

ditentukan KHM, namun metode ini memiliki kelemahan yaitu mata manusia saat melakukan pengamatan kekeruhan tidak bisa membedakan antara sel jamur hidup dengan sel jamur mati, serta larutan bisa mencapai warna yang pekat; oleh

sebab itu hasil pengamatan kurang akurat. Diperlukan pengujian lebih lanjut dengan cara mengukur nilai absorbansi menggunakan spektrofotometer UV-Vis agar lebih akurat.¹¹

Tabel 1. Hasil pengujian menggunakan metode turbidimetri dari ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

Nomor tabung	Konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda citrifolia L.</i>)	Hasil		
		Perlakuan I	Perlakuan II	Perlakuan III
1	100%	+	+	+
2	50%	+	+	+
3	25%	+	+	+
4	12,5%	+	+	+
5	6,25%	-	-	-
6	3,125%	-	-	-
7	1,56%	-	-	-
8	0,78%	-	-	-
9	0,39%	-	-	-
10	K (+)	+	+	+
11	K (-)	-	-	-

Keterangan: Tanda + menunjukkan larutan di dalam tabung terlihat keruh yang berarti bahwa jamur *Candida albicans* masih dapat bertumbuh; sedangkan tanda - menunjukkan larutan di dalam tabung terlihat jernih yang berarti bahwa pertumbuhan jamur *Candida albicans* terhambat.

Tabel 2. Hasil pengujian menggunakan spektrofotometer UV-Vis ekstrak daun mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

Konsentrasi ekstrak daun mengkudu (<i>Morinda citrifolia L.</i>)	Hasil						Ket.		
	Perlakuan I		Perlakuan II		Perlakuan III		Rerata		
	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	Sebelum Inkubasi	Sesudah Inkubasi	
100%	1,180	4,000	1,219	4,000	1,198	4,000	1,199	4,000	Naik
50%	0,650	2,716	0,692	2,814	0,647	2,604	0,663	2,711	Turun
25%	0,416	1,752	0,480	1,846	0,473	1,665	0,456	1,754	Turun
12,5%	0,313	1,452	0,361	1,427	0,858	1,462	0,510	1,447	Turun
6,25%	0,262	1,379	0,315	1,101	0,257	1,443	0,278	1,307	Naik
3,125%	0,228	1,350	0,302	1,017	0,259	1,504	0,263	1,290	Turun
1,56%	0,218	1,195	0,278	1,150	0,234	1,426	0,243	1,257	Turun
0,78%	0,208	1,171	0,286	1,032	0,210	1,155	0,234	1,119	Turun
0,39%	0,184	1,374	0,269	1,031	0,208	1,096	0,220	1,167	Naik
K (+)	3,185	1,563	3,216	2,257	1,789	1,705	2,729	1,841	Naik
K (-)	0,317	0,747	0,342	0,724	0,531	0,818	0,396	0,763	Turun

Keterangan: Naik menunjukkan nilai absorbansi setelah inkubasi > nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa terdapat pertumbuhan jamur; sedangkan Turun menunjukkan nilai absorbansi setelah inkubasi ≤ nilai absorbansi sebelum inkubasi, yang berarti bahwa pertumbuhan jamur terhambat.

Pada pengujian menggunakan metode spektrofotometer terjadi kenaikan nilai rerata absorbansi yaitu pada konsentrasi 100%, 6,25% dan 0,39%. Kenaikan nilai rerata absorbansi bergantung pada zat yang terkandung di dalam larutan. Semakin banyak molekul yang menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, maka nilai absorbansi semakin besar. Pada konsentrasi 50% - 12,5% dan 3,125% - 0,78% terjadi penurunan nilai rerata absorbansi. Hal ini terjadi karena molekul berada dalam jumlah sedikit untuk menyerap cahaya yang datang pada panjang gelombang tertentu. Dengan terjadinya penurunan nilai absorbansi pada konsentrasi 12,5%, maka dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 12,5% merupakan KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.^{12,13}

Perbedaan hasil dalam penentuan KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada metode turbidimetri dan metode spektrofotometer terletak pada prinsip kerja dari setiap metode. Metode turbidimetri sebenarnya sudah cukup untuk menentukan KHM tetapi pada metode ini hanya dilakukan pengamatan secara visual yang memiliki kelemahan yaitu kemampuan mata bersifat subjektif sehingga dapat menimbulkan kesalahan. Dengan adanya keterbatasan menggunakan metode turbidimetri, maka perlu dilakukan pengujian lebih lanjut menggunakan alat spektrofotometer dimana nilai absorbansi yang dibaca berupa data kuantitatif sehingga hasil analisis lebih tepat dibandingkan metode turbidimetri.^{14,15}

Kekurangan spektrofotometer dapat diminimalisasi dengan menggunakan alat kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT; *High Pressure Liquid Chromatography*, HPLC) yaitu alat dengan metode pemisahan canggih dalam analisis farmasi yang dapat melakukan pemisahan senyawa spesifik dan dapat mengukur jumlah senyawa tersebut di dalam larutan. Alat KCKT termasuk metode analisis terbaru yaitu suatu teknik kromatografi dengan fasa gerak cairan dan fasa diam cairan atau padat yang mempunyai banyak kelebihan

dibandingkan dengan metode lainnya.¹⁶

Uji KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans* belum pernah dilakukan sebelumnya. Berdasarkan hasil penelitian ini, KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yaitu konsentrasi 6,25% melalui pengamatan dengan metode turbidimetri, dan konsentrasi 12,5% melalui hasil pengukuran spektrofotometri dengan alat spektrofotometer UV-Vis.

SIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* terdapat pada konsentrasi 12,5%.

SARAN

Untuk penelitian lebih lanjut dapat dilakukan uji konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Juga dapat dilakukan penelitian mengenai uji daya hambat dan uji KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan mikroorganisme lainnya dari rongga mulut. Dapat dilakukan penelitian mengenai uji KHM ekstrak daun mengkudu terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dengan menggunakan metode HPLC.

DAFTAR PUSTAKA

1. **Berna E, Forestrania RC, Harmita, Omar H, Katrin, Rosmalena, et al.** Declinine: the new alkaloid from *Phoebe Declinata* Nees. *Int Res J Pharm.* 2015;5(4):271.
2. **Kameswari MS, Besung INK, Mahatmi H.** Perasan daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara in vitro. *Indonesia Medicus Veterinus.* 2013;2(3):322-30.
3. **Burket LW, Greenberg MS, Glick M, Ship JA.** *Burket's Oral Medicine.* India: BC Decker Inc, 2008; p. 79-84.
4. **Kokare CR.** *Pharmaceutical Microbiology Principles and Applications.* Nirali Prakashan, 2007. ISBN 978-81-85790-

- 61-9. p: 10.9-10.11.
5. **Pattanaik S, Vikas BVJ, Pattanaik B, Sahu S, Lodam S.** Denture stomatitis: a literature review. *J Indian Acad Oral Med Radiol.* 2010;22 (3):136-7.
 6. **Paskalis S, Irmgita A.** Candida leukoplakia on patient with removable denture. *Journal of Dentistry Indonesia.* 2012;19(2):47-50.
 7. **Simatupang OC, Abidjulu J, Siagian KV.** Uji daya hambat ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara in vitro. eG. 2017;5(1):1-6.
 8. **Sitepu J.** Perbandingan efektifitas daya hambat terhadap *Staphylococcus Aureus* dari berbagai jenis ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) secara in vitro. [Skripsi]. Medan: Universitas Sumatra Utara; 2012.
 9. **Hidayat T, Wahyuni ES, Karyono SS.** Pengaruh ekstrak buah mengkudu (*Morinda citrifolia*) terhadap aorta terpisah marmut (*Cavia porcellus*) tanpa endotel. *Jurnal Kedokteran Brawijaya.* 2003;19(3):120-4.
 10. **Golan DE, Williams L.** Wilkins, Principles of Pharmacology: The Patho-physiologic Basis of Drug Therapy (4th ed). New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2008; p. 720.
 11. **Wikler MA, Cockerill FR, Bush K, Dudley MN, Eliopoulos GM, Hardy DJ, Hecht DW, et al.** Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard-Ninth Edition. CLSI Document M07-A9. In: Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute (9th ed). 2012; p. 17.
 12. **Faimah S, Haryati I, Jamaludin A.** Pengaruh uranium terhadap analisis thorium menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Yogyakarta: Seminar Nasional V SDM Teknologi Nuklir, 2009; p. 574-575. ISSN 1978-0176.
 13. **Fatima Y.** Daya anti bakteri ekstrak kulit dan biji buah pulasan (*Nephelium mutabile*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherchia coli* secara in vitro. *Jurnal Peternakan.* 2013;10(1):31-8.
 14. **Astutiningsih C, Setyani W, Hindratna H.** Uji daya antibakteri dan identifikasi isolat senyawa katekin dari daun teh (*Camellia sinensis L. var Assamica*). *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas.* 2014;11(2):51-3.
 15. **Tahir I.** Arti penting kalibrasi pada proses pengukuran analitik: aplikasi pada penggunaan pH meter dan spektrofotometer UV-Vis. Yogyakarta: FMIPA, 2008; p.7-8.
 16. **Joshi HR, Patel AH, Captain AD.** Spectrophotometric and reversed-phase high-performance liquid chromatographic method for the determination of doxophylline in pharmaceutical formulations. *J Young Pharm.* 2010;2 (3): 295.