

Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*

Tiah Rachmatiah^{1*}, Resti Octaviani¹

¹Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional, Jl. Moh Kahfi II, Jagakarsa, Jakarta Selatan, 12640, Indonesia

*E-mail korespondensi: tiahrachmatiah@yahoo.com

ABSTRAK

Bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) adalah tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas antifungi ekstrak daun bisbul terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*. Ekstrak dibuat dengan cara maserasi bertingkat menggunakan diklorometana dan etanol 70%. Aktivitas antifungi dari ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol 70 % diuji dengan metode difusi cakram dalam media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) pada konsentrasi ekstrak 20%, 40% dan 60% dengan kontrol positif ketokonazol dan kontrol negatif DMSO 100%. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol 70% terhadap kedua fungi tersebut dilakukan dengan metode dilusi padat pada media SDA. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana daun bisbul memiliki aktivitas antifungi terhadap *T. mentagrophytes* pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% memberikan Diameter Daya Hambat (DDH) berturut-turut 7,40 mm, 9,97mm, dan 12,37 mm, namun tidak memiliki aktivitas terhadap *M. furfur*. Aktivitas antifungi ekstrak etanol 70% terhadap *T. mentagrophytes* pada konsentrasi yang sama mempunyai DDH berturut-turut 19,67 mm, 21,76 mm dan 23,57 mm, sementara itu pada *M. furfur* memiliki DDH berturut-turut 10,60 mm, 11,22 mm, dan 11,69 mm. KHM ekstrak diklorometana ada pada konsentrasi 20% terhadap *T. mentagrophytes* sedangkan KHM ekstrak etanol 70% daun bisbul ada pada konsentrasi 10% terhadap *T. mentagrophytes* dan pada konsentrasi 20% terhadap *M. furfur*.

Kata kunci : Antifungi, Daun Bisbul, *Diospyros blancoi*, *Malassezia furfur*, *Trichophyton mentagrophytes*

Antifungal Activity of Bisbul Leaves (*Diospyros blancoi* A. DC.) Extracts Againsts *Trichophyton mentagrophytes* and *Malassezia furfur*

ABSTRACT

Bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) is a plant that is often used as traditional medicine. The purpose of this study was to determine the antifungal activity of bisbul leaves extracts against *Trichophyton mentagrophytes* and *Malassezia furfur*. The extracts were prepared by successive maceration using dichloromethane and 70% ethanol. The antifungal activity of dichloromethane extract and 70% ethanol extract was tested by disc diffusion method on *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) media at extract concentrations of 20%, 40% and 60% with positive control of ketoconazole and negative control of 100% DMSO. Minimum Inhibitory Concentrations (MIC) of dichloromethane extract and 70% ethanol extract against both the fungi were carried out by solid dilution method on SDA media. The results showed that the dichloromethane extract of bisbul leaves had antifungal activity against *T. mentagrophytes* at concentrations of 20%, 40% and 60% with inhibitory diameters of 7.40 mm, 9.97 mm, and 12.37 mm, respectively, but had no activity against *M. furfur*. The antifungal activity of 70% ethanol extract against *T. mentagrophytes* at the same concentration had inhibitory diameters of 19.67 mm, 21.76 mm and 23.57 mm, meanwhile, against *M. furfur* had inhibitory diameters of 10.60 mm, 11.22 mm, and 11.69 mm respectively. The MIC of dichloromethane extract of bisbul leaves was at a concentration of 20% against *T. mentagrophytes* while the MIC of 70% ethanol extract of bisbul leaves was at a concentration of 10% against *T. mentagrophytes* and a concentration of 20% against *M. furfur*.

Keywords : Antifungal, Bisbul leaves, *Diospyros blancoi*, *Malassezia furfur*, *Trichophyton mentagrophytes*.

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi kulit masih sering dijumpai di berbagai daerah tropis. Indonesia merupakan negara beriklim tropis dan lembap sehingga penyakit ini masih

banyak menginfeksi masyarakat di berbagai daerah di Indonesia (Widayat *et al.*, 2015). Salah satu penyebab infeksi kulit adalah jamur dermatofita yang menimbulkan dermatofitosis. Dermatofitosis adalah suatu infeksi pada jaringan berkeratin (rambut, kulit, dan kuku). Salah satu spesies dermatofita yang paling banyak

menginfeksi adalah *Trichophyton mentagrophytes* (Christopher *et al.*, 2017). Penyakit kulit lainnya yang sering ditemui adalah panu (*Pityriasis versicolor*) yang disebabkan oleh infeksi jamur nondermatofitosis mikosis superfisial. *Malassezia furfur* merupakan jamur dimorfik lipofilik yang tergolong flora normal yang dapat menyebabkan terjadinya panu (Widayat *et al.*, 2015). Penyakit kulit akibat infeksi jamur biasanya dapat diobati dengan pemberian antifungi seperti ketokonazol, klotrimazol dan terbinafine tetapi dapat menimbulkan efek samping dan terjadinya resistensi seperti munculnya resistensi *T. mentagrophytes* terhadap terbinafine yang ditemukan di Asia dan Eropa (IAI, 2017; Taghipour *et al.*, 2020). Sebagai antisipasi masalah tersebut dapat dicari antifungi alternatif dengan memanfaatkan tumbuhan yang digunakan sebagai obat tradisional seperti tanaman bisbul (*Diospyros blancoi* A.DC.) (Ragasa *et al.*, 2009).

Tanaman bisbul (*D. blancoi* A.DC.) merupakan tanaman dari suku Ebenaceae. Tanaman bisbul jarang ditemukan di Indonesia, namun buah bisbul dapat dijumpai di pasar tradisional di daerah Bogor, Jawa Barat yang biasanya dikonsumsi secara segar (Sukmana *et al.*, 2017). Secara tradisional di Asia Tenggara jus buah bisbul mentah digunakan untuk mengobati luka, minyak dari biji bisbul digunakan untuk diare dan disentri, dan infus buah bisbul digunakan sebagai obat kumur pada stomatitis aphthous. Jus kulit kayu bisbul di Bangladesh digunakan untuk mengobati gigitan ular, pencuci mata, dan pilek, gangguan jantung, hipertensi, gigitan laba-laba, sakit perut, diabetes, dan eksim (Howlader *et al.*, 2012), sedangkan daun tanaman bisbul telah digunakan untuk mengobati kulit yang gatal (Akter & Saker, 2015).

Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan dua senyawa hasil isolasi dari ekstrak etil asetat daun tanaman bisbul memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus* dan *Trichophyton mentagrophytes*, namun tidak aktif terhadap *Bacillus subtilis* dan *Aspergillus niger* (Ragasa *et al.*, 2009), sedangkan ekstrak etanol daun bisbul dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis*, *Shigella sonnei*, *Shigella boydii*, *Shigella dysenteriae*, *Shigella flexneri*, dan *Escherichia coli* dengan kisaran zona hambat 9-12 mm (Howlader *et al.*, 2012). Hasil penelitian yang sudah dilakukan terhadap tanaman bisbul tersebut menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol daun bisbul dapat menghambat pertumbuhan beberapa bakteri dan jamur, sehingga diharapkan ekstrak daun bisbul dengan metode ekstraksi berbeda juga dapat menghambat fungi penyebab infeksi dermatofitosis dan non dermatofitosis seperti *T. mentagrophytes* & *M. furfur*. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi yaitu maserasi secara bertingkat dengan menggunakan pelarut diklorometana dan etanol 70%.

Berdasarkan latar belakang di atas, maka dilakukan penelitian pada ekstrak diklorometana dan

ekstrak etanol 70% daun bisbul terhadap fungi *T. mentagrophytes* dan *M. furfur*. Metode untuk uji aktivitas antifungi menggunakan metode difusi cakram, dan untuk mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) menggunakan metode dilusi padat.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan. Bahan uji yang digunakan adalah daun bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) yang berasal dari Pusat Studi Biofarmaka Tropika Institut Pertanian Bogor (IPB) Bogor, Jawa barat. Determinasi tanaman bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC) dilakukan di Pusat Studi Biofarmaka Tropika Institut Pertanian Bogor (IPB), Bogor, Jawa Barat. Bahan kimia yang digunakan: NH_4OH (Mallinckrodt AR), CH_2Cl_2 (Mallinckrodt AR), CHCl_3 (Merck), HCl (Merck), NaNO (Merck), AlCl_3 (Merck), NaOH (Merck), FeCl_3 (Merck), anhidrida asetat (Merck), H_2SO_4 (Merck), *n*-Heksana (teknis), pereaksi: *Dragendorff*, Mayer, dan Bouchardat, *Saboraud dextrose Agar* (Oxoid), Etanol 70% (teknis), DMSO 100% (Merck), Ketokonazol disk (Oxoid), aquadest (Brataco), *Lactophenol Blue* (Merck), minyak imersi (Gargille), larutan NaCl fisiologis 0,9% (Otsu). Fungi uji yang digunakan adalah *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur* yang diperoleh dari stok kultur Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Farmasi, Institut Sains dan Teknologi Nasional (ISTN).

Alat. Autoklaf (Hirayama), Timbangan analitik (Excellent), Blender (Phillips), Oven (Mettler), Laminar Air Flow (LAF), Inkubator (Mettler), Vacuum rotary evaporator (Buchi), Cawan petri (Anumbra), Mikroskop (Leica), Jangka sorong (Vernier caliper), Vortex (Maxi Mix II), Hot plate stirrer (B-one) Kertas cakram disk (Oxoid), Pipet mikro (VWR dan Pette).

Pembuatan Serbuk Daun Bisbul. Daun bisbul yang telah disortasi dicuci dan ditiriskan lalu dikeringkan dalam lemari pengering selama 3 hari pada suhu 40°C. Daun yang telah kering dibuat serbuk menggunakan blender dan diayak dengan ayakan berukuran 60 mesh. Serbuk daun bisbul ditimbang dan disimpan dalam plastik untuk mencegah lembab dan pengotoran lainnya sebelum di ekstraksi (Mayasari & Melfin, 2018).

Pembuatan Ekstrak Daun Bisbul. Pembuatan ekstrak daun bisbul dilakukan dengan cara maserasi bertingkat menggunakan pelarut diklorometana dan etanol 70%. Sebanyak 400 g serbuk daun bisbul dimaserasi dalam 4.000 mL diklorometana selama 24 jam, kemudian disaring menggunakan kertas saring dan diambil filtratnya. Residu yang diperoleh dikeringkan dan dimaserasi lagi dalam 4.000 mL metanol 70% selama 24 jam kemudian disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh dipisahkan dari pelarutnya menggunakan Vacuum rotary evaporator pada suhu 40°C (Akter *et al.*, 2015).

Pemeriksaan Etanol Dalam Ekstrak Daun Bisbul.

Sebanyak 5 mL ekstrak etanol daun bisbul ditambahkan 1 mL NaOH 1 N, didiamkan selama 3 menit, kemudian ditambahkan 2 mL larutan Iodium 0,1 N. Jika selama 30 menit tidak menimbulkan bau iodoform dan tidak terbentuk endapan kuning, maka reaksi dinyatakan negatif yang menunjukkan bahwa ekstrak sudah tidak mengandung etanol (Depkes RI, 1995).

Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Daun Bisbul. Pengujian penapisan fitokimia dilakukan pada serbuk dan ekstrak daun bisbul yang meliputi identifikasi alkaloid, saponin, flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid seperti berikut ini:

Identifikasi Alkaloid. Sebanyak 2 g serbuk atau ekstrak ditambahkan 5 mL amoniak 25% di dalam erlenmeyer lalu ditambahkan 20 mL kloroform hingga masa terendam lalu diaduk. Setelah itu, dipanaskan di atas penangas air lalu disaring. Filtrat diuapkan sampai setengahnya. Sisa penguapan dituang ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan 1 mL asam klorida 2N, kemudian dikocok dan dibiarkan hingga membentuk 2 lapisan. Lapisan jernih yang terbentuk dimasukkan ke dalam 3 tabung reaksi (tabung I, II, III) dengan jumlah yang sama, kemudian ditambahkan pereaksi Mayer pada tabung I, pereaksi Dragendorff pada tabung II, dan pereaksi Bouchardat pada tabung III. Terdapatnya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan merah pada pereaksi Dragendorff, dan endapan coklat hitam pada pereaksi Bouchardat (Depkes RI, 1987).

Identifikasi Tanin. Sebanyak 1 g serbuk atau ekstrak, dididihkan selama 3 menit dalam 100 mL air suling lalu didinginkan dan disaring. Filtrat sebanyak 2 mL di dalam tabung reaksi ditambahkan 1-2 tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Jika terjadi warna biru kehitaman atau hijau kehitaman menunjukkan adanya tanin (Mayasari & Melfin, 2018).

Identifikasi Flavonoid. Sebanyak 1 g serbuk atau ekstrak dimasukkan ke dalam erlenmeyer lalu ditambahkan air panas 100 mL, diaduk dan disaring, kemudian ke dalam tabung reaksi dimasukkan 5 mL filtrat setelah itu ditambahkan 1 mL larutan natrium nitrit 5% dan 1 mL aluminium klorida 10%, dikocok kemudian ditambahkan 2 mL natrium hidroksida 1 N. Jika positif mengandung flavonoid warna akan berubah menjadi merah atau jingga (Zou *et al.*, 2004).

Identifikasi Saponin. Sebanyak 0,5 g serbuk atau ekstrak dimasukkan ke dalam erlenmeyer, kemudian ditambahkan 10 mL air panas, lalu diaduk dan disaring. Filtrat dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil dan tidak hilang setelah penambahan HCL 2N berarti positif mengandung saponin (Mayasari & Melfin, 2018).

Identifikasi Steroid/Triterpenoid. Sebanyak 2 g serbuk atau ekstrak ditambahkan 20 mL *n*-heksana selama 2 jam, kemudian disaring dan diuapkan dalam cawan penguap hingga kering, lalu ditambahkan 2 tetes anhidrida asetat dan 2 mL kloroform, kemudian dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan

perlahan-lahan 1 mL asam sulfat pekat (Liebermann-Burchard) melalui dinding tabung. Adanya steroid atau triterpenoid ditunjukkan jika pada batas kedua larutan terbentuk cincin merah kecoklatan atau ungu, sedangkan larutan bagian atas menjadi hijau atau ungu (Depkes RI, 1987).

Uji Mikrobiologi

Pembuatan Media. Sebanyak 65 g serbuk SDA dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades sampai 1.000 mL, kemudian dipanaskan di atas *hotplate* sambil diaduk dengan *magnetic stirer* sampai mendidih dan larut sempurna. Selanjutnya erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit (Gunawan *et al.*, 2015).

Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Daun Bisbul. Larutan uji ekstrak diklorometana dan etanol 70% daun bisbul dibuat dengan cara melarutkan ekstrak dalam pelarut DMSO 100 % (Nuryanti., 2015) sehingga diperoleh larutan ekstrak dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60%.

Purifikasi, Identifikasi Fungi Uji. Purifikasi dilakukan dengan cara gores kuadran pada media cawan SDA dan diinkubasi selama 5 hari untuk *T. mentagrophytes* dan 2 hari untuk *M. furfur* pada suhu 37°C. Identifikasi secara makroskopik dilakukan dengan mengamati koloni fungi yang terbentuk pada media SDA. Identifikasi mikroskopik *T. mentagrophytes* dan *M. furfur* dilakukan dengan pewarnaan fungi menggunakan *Lactophenol Blue*. Pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1.000x dilakukan dengan menambahkan minyak imersi. Selanjutnya, koloni tunggal diambil dan digoreskan pada media tabung miring untuk stok isolat.

Pembuatan Inokulum Fungi Uji. Pembuatan inokulum *T. mentagrophytes* diambil dari biakan stok agar miring berumur 5 hari sebanyak satu ose kemudian disuspensikan ke dalam 5 mL NaCl. Pembuatan inokulum *M. furfur* diambil dari biakan stok agar miring berumur 2 hari sebanyak satu ose kemudian disuspensikan ke dalam 5 mL NaCl.

Persiapan kertas cakram. Kertas cakram (diameter 6 mm) ditetesi 20 µL ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol 70% daun bisbul dengan konsentrasi masing-masing 20%, 40% dan 60% dan kertas cakram kontrol negatif ditetesi 20 µL DMSO 100% serta kontrol positif kertas cakram ketokonazol 15 µg. Selanjutnya semua kertas cakram disterilisasi selama 15 menit dengan sinar UV di dalam *Laminar Air Flow* (LAF).

Uji Aktivitas Antifungi dengan Metode Difusi Cakram. Sebanyak 1 mL inokulum fungi uji ditambahkan ke dalam 10 mL media SDA dalam botol steril, kemudian digoyang-goyang sampai homogen, lalu dituangkan ke dalam cawan petri steril dan didiamkan hingga memadat. Selanjutnya, kertas cakram yang telah berisi ekstrak dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60%,

kontrol positif dan kontrol negatif diletakkan di permukaan media cawan SDA. Seluruh perlakuan diinkubasi pada suhu 28°C selama 5 hari untuk *T. mentagrophytes* dan 2 hari untuk *M. furfur*. Aktivitas antifungi ditandai dengan terbentuknya zona hambat di sekitar kertas cakram (zona bening). Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Percobaan dilakukan dengan 3 kali pengulangan (triplo).

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dengan Metode Dilusi Padat. Sebanyak 1 mL ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol daun bisbul masing-masing dengan konsentrasi 20%, 15%, 10% dan 5% dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 10 mL media SDA (suhu $\pm$ 45°C) dan 1 mL suspensi fungi uji. Campuran suspensi fungi uji, media dan ekstrak dihomogenkan dengan cara diputar menyerupai angka 8 dan didiamkan sampai media memadat. Kontrol negatif uji KHM yang digunakan adalah media SDA tanpa inokulum fungi uji, kontrol positif yang digunakan adalah media dengan inokulum fungi, kemudian diinkubasi pada suhu ruang selama 5 hari untuk *T. mentagrophytes* (Gholib, 2009) dan 2 hari untuk *M. furfur* (Dewi *et al.*, 2019). Pertumbuhan fungi diamati pada setiap cawan perlakuan diamati, konsentrasi ekstrak pada cawan yang tidak ditumbuhi fungi ditentukan sebagai KHM. Percobaan dilakukan dengan 3 kali pengulangan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Daun bisbul

Proses ekstraksi senyawa aktif dari daun bisbul dilakukan dengan cara maserasi bertingkat menggunakan dua pelarut diklorometana dan etanol 70%. Maserasi bertingkat adalah cara ekstraksi yang menggunakan dua atau lebih pelarut dengan tingkat kepolaran berbeda yang diawali dari pelarut non polar, kemudian pelarut kurang polar (diklorometana) dan pelarut polar (etanol 70%) dengan tujuan mendapatkan senyawa-senyawa dengan

rentang kepolaran yang luas. Maserasi merupakan cara ekstraksi yang sederhana yaitu dengan merendam serbuk simplisia dalam pelarut dalam jangka waktu tertentu pada suhu ruang. Cara ini cocok untuk senyawa yang termolabil (Tiwari *et al.*, 2011). Pada penelitian ini diperoleh ekstrak diklorometana sebanyak 10 g dan ekstrak etanol 70% sebanyak 130 g dari 400 g serbuk daun bisbul.

Hasil Uji Bebas Etanol dalam Ekstrak Etanol Daun Bisbul.

Uji bebas etanol dilakukan untuk memastikan tidak ada lagi sisa etanol dalam ekstrak etanol yang akan diuji, sehingga tidak memengaruhi hasil pada pengujian antimikroba (Esati *et al.*, 2021) Hasil dari uji bebas etanol yang sudah dilakukan yaitu tidak menimbulkan bau iodoform dan tidak terbentuk endapan kuning pada larutan ekstrak, ini menandakan bahwa ekstrak etanol 70% daun bisbul negatif mengandung etanol.

Hasil Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia menunjukkan bahwa serbuk daun bisbul mengandung senyawa flavonoid, saponin, tanin dan steroid. Estrak diklorometana daun bisbul mengandung senyawa kimia flavonoid, tanin, dan steroid/triterpenoid dan pada ekstrak etanol 70% daun bisbul mengandung senyawa kimia flavonoid, saponin, dan tanin. Saponin bersifat polar sehingga tidak tersari dalam diklorometana yang bersifat kurang polar. Steroid/triterpenoid bersifat non polas sehingga tidak tersari dalam pelarut polar seperti etanol 70%. Hasil penapisan ini berbeda dengan penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun bisbul mengandung senyawa alkaloid (Howlader *et al.*, 2012; Demetillo *et al.*, 2019). Salah satu faktor yang memengaruhi keberadaan dan jumlah kandungan senyawa kimia pada tumbuhan adalah perbedaan lingkungan tempat tumbuh. Hasil penapisan fitokimia serbuk, ekstrak diklorometana dan etanol daun bisbul dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil Penapisan Fitokimia Serbuk dan Ekstrak Daun Bisbul

No	Kandungan Kimia	Hasil		
		Serbuk	Ekstrak diklorometana	Ekstrak etanol 70%
1	Alkaloid	-	-	-
2	Flavonoid	+	+	+
3	Saponin	+	-	+
4	Tanin	+	+	+
5	Steroid/Triterpenoid	+	+	-

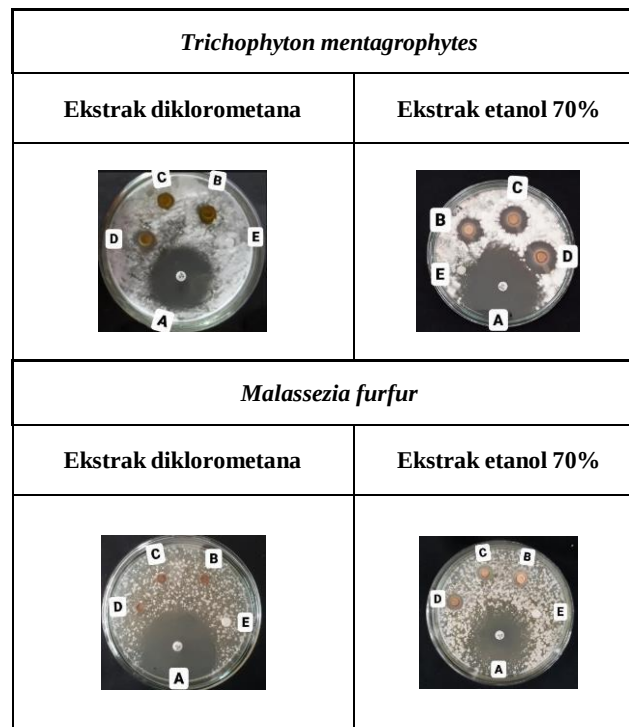
Hasil Pengujian Aktivitas Antifungi

Pengujian aktivitas antifungi ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol 70% daun bisbul menggunakan metode difusi cakram dan dilakukan pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% terhadap *T. mentagrophytes* dan *M. furfur*. Pada proses pembuatan larutan ekstrak menggunakan DMSO sebagai pelarut karena DMSO dapat melarutkan senyawa polar dan non

polar serta DMSO tidak akan mengganggu hasil pengamatan karena tidak memberikan aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri dan jamur (Octaviani *et al.*, 2019). Penentuan diameter daya hambat ekstrak terhadap fungi uji dilihat dari terbentuknya zona bening di sekeliling cakram yang menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan fungi. Pengukuran diameter daya hambat pada setiap konsentrasi ekstrak memberikan hasil yang

berbeda. Perbedaan ini dapat terjadi karena beberapa faktor yaitu konsentrasi ekstrak, kelarutan zat aktif pada ekstrak, kecepatan difusi larutan zat pada media agar, ukuran inokulum, ketebalan lempeng agar, daya difusi larutan uji dan kepekaan fungsi terhadap larutan uji

(Alfiah *et al.*, 2015; Zeniusa *et al.*, 2019). Hasil pengujian aktivitas antifungi ekstrak diklorometana dan etanol daun bisbul dapat dilihat pada **Gambar 1**. Hasil pengukuran diameter daya hambat dapat dilihat pada **Tabel 2** dan **3**.



Gambar 1. Hasil Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Daun Bisbul terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dan *Malassezia furfur*
A: Kontrol positif (Ketokonazol), B: Ekstrak daun bisbul konsentrasi 20%, C: Ekstrak daun bisbul konsentrasi 40%, D: Ekstrak daun bisbul konsentrasi 60%, E: Kontrol negatif (DMSO)

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) Ekstrak Diklorometana Daun Bisbul

Fungi Uji	Pengulangan	Diameter Daya Hambat (mm)			Ketokonazol 15 µg	DMSO 100%
		20%	40%	60%		
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1	6,77	9,82	10,87	36,92	-
	2	8,42	10,62	13,57	38,42	-
	3	7,02	9,47	12,67	36,37	-
	Rata- rata	7,40	9,97	12,37	37,23	-
<i>Mallasezia furfur</i>	1	-	-	-	43,67	-
	2	-	-	-	43,27	-
	3	-	-	-	41,83	-
	Rata- rata	-	-	-	42,92	-

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) Ekstrak Etanol 70% Daun Bisbul

Fungi Uji	Pengulangan	Diameter Daya Hambat (mm)			Ketokonazol 15 µg	DMSO 100%
		20%	40%	60%		
<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	1	20,22	22,66	23,67	37,22	-
	2	19,17	20,07	22,62	32,62	-
	3	19,62	22,57	24,42	38,67	-
Rata- rata		19,67	21,76	23,57	36,17	-
<i>Malassezia furfur</i>	1	10,43	11,08	11,27	43,27	-
	2	11,12	11,77	11,82	41,33	-
	3	10,27	10,82	11,98	42,62	-
Rata- rata		10,60	11,22	11,69	42,40	-

Hasil uji aktivitas antifungi ekstrak diklorometana daun bisbul memperlihatkan bahwa ekstrak diklorometana daun bisbul memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan fungi *T. mentagrophytes* pada konsentrasi ekstrak 20%, 40% dan 60% yang ditandai dengan diameter daya hambat berturut turut 7,40 mm, 9,97 mm dan 12,37 mm, namun tidak aktif terhadap fungi *M. furfur*, karena tidak membentuk zona bening di sekitar cakram. Hasil uji aktivitas antifungi ekstrak etanol 70% daun bisbul terhadap fungi *T. mentagrophytes* pada konsentrasi ekstrak 20%, 40% dan 60% menghasilkan diameter daya hambat berturut turut 19,67 mm, 21,76 mm dan 23,57 mm, demikian pulaterhadap fungi *M. furfur* memberikan diameter daya hambat 10,60 mm, 11,22 mm, dan 11,69 mm. Berdasarkan hasil uji aktivitas antifungi daun bisbul pada ekstrak diklorometana terhadap *T. mentagrophytes* menghasilkan daya hambat yang termasuk ke dalam kategori sedang pada konsentrasi 60%, dan pada ekstrak etanol 70% terhadap *T. mentagrophytes* menghasilkan daya hambat yang masuk ke dalam kategori kuat pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, sedangkan terhadap *M. furfur* ekstrak etanol 70% menghasilkan daya hambat yang masuk ke dalam kategori sedang pada konsentrasi 20%, 40% dan 60% (Nazri *et al.*, 2011).

Adanya zona hambat pada pemberian ekstrak daun bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.) karena adanya senyawa metabolit sekunder yang terkandung seperti flavonoid, saponin, tanin, yang dapat menghambat pertumbuhan fungi *T. mentagrophytes* dan *M. furfur*. Senyawa flavonoid memiliki mekanisme kerja dengan mengganggu homeostasis mitokondria dan integritas membran sel fungi dan saponin memiliki mekanisme kerja dengan merusak struktur fosfolipid dari membran sel fungi (Melinda *et al.*, 2019). Tanin mempunyai kemampuan menghambat sintesis kitin yang digunakan

untuk pembentukan dinding sel pada fungi dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan fungi terhambat (Alfiah *et al.*, 2015). Penyakit kulit dermatofitosis seperti kurap yang disebabkan oleh *T. mentagrophytes* dan penyakit kulit non dermatofitosis yang disebabkan oleh *M. furfur* dapat dihambat pertumbuhannya oleh ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol 70% daun bisbul, ini berarti bahwa ekstrak daun bisbul berpotensi sebagai antifungi.

Hasil Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak daun bisbul diperoleh dari hasil pengujian Diameter Daya Hambat (DDH) dengan melihat dari konsentrasi terkecil yang memberikan daya hambat yaitu pada konsentrasi 20%. Oleh karena itu pada pengujian KHM dilakukan dengan menurunkan konsentrasi menjadi 20%, 15%, 10% dan 5 %. Penentuan KHM dilakukan pada ekstrak diklorometana hanya terhadap *T. mentagrophytes*, sedangkan terhadap *M. furfur* tidak dilakukan karena ekstrak diklorometana tidak aktif terhadap *M. furfur* pada pengujian aktivitas antifungi. Penentuan KHM pada ekstrak etanol 70% dilakukan terhadap *T. mentagrophytes* dan *M. furfur* karena ekstrak etanol 70% aktif terhadap kedua fungi tersebut. Pengujian KHM dilakukan dengan metode dilusi padat menggunakan kontrol negatif media SDA dan kontrol positif media SDA dengan suspensi fungi uji. Pengamatan dalam penentuan KHM dapat dilihat dari kekeruhan dan kejernihan pada media yang telah mengandung ekstrak pada setiap konsentrasi. Media yang keruh menunjukkan adanya pertumbuhan fungi sedangkan media yang jernih menunjukkan tidak adanya pertumbuhan fungi. Hasil uji Konsentrasi Hambat Minimum dapat dilihat pada **Tabel 4.**

Tabel 4. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) Ekstrak Diklorometana dan Ekstrak Etanol 70% Daun Bisbul

Konsentrasi ekstrak (%)	Pertumbuhan fungi		
	Ekstrak diklorometana	Ekstrak etanol 70%	
	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Trichophyton mentagrophytes</i>	<i>Malassezia furfur</i>
20	-	-	-
15	+	-	+
10	+	-	+
5	+	+	+
kontrol positif	+	+	+
kontrol negatif	-	-	-

Hasil pengujian Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak diklorometana daun bisbul terhadap *T. mentagrophytes* menunjukkan bahwa pada konsentrasi 20% tidak terdapat pertumbuhan fungi dan pada konsentrasi 15%, 10 % dan 5% masih memperlihatkan adanya pertumbuhan fungi uji, sedangkan pada ekstrak etanol 70% daun bisbul terhadap fungi *T. mentagrophytes* tidak terjadi pertumbuhan fungi pada konsentrasi 20%, 15% dan 10% tetapi pada konsentrasi 5% baru terlihat adanya pertumbuhan fungi. Sedangkan pada ekstrak etanol 70% daun bisbul terhadap fungi *M. furfur* tidak terjadi pertumbuhan fungi pada konsentrasi 20% sedangkan pada konsentrasi 15%, 10% dan 5% terlihat adanya pertumbuhan fungi. Ekstrak yang memiliki nilai KHM dengan konsentrasi terendah adalah ekstrak etanol 70% dengan hasil KHM ada pada konsentrasi 10% terhadap *T. mentagrophytes* menunjukkan aktivitas yang cukup baik sehingga perlu dilakukan KBM (konsentrasi bunuh minimum) untuk menentukan sifat fungisidal dari ekstrak.

KESIMPULAN

Ekstrak diklorometana daun bisbul memiliki aktivitas antifungi terhadap *T. mentagrophytes* dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60% dengan diameter daya hambat berturut-turut 7,40 mm, 9,97mm, dan 12,37 mm, namun tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap *M. furfur*. Ekstrak etanol 70% daun bisbul memiliki aktivitas antifungi terhadap *T. mentagrophytes* dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60% memiliki diameter daya hambat berturut-turut 19,67 mm, 22,1 mm dan 23,23mm, sedangkan pada *M. furfur* dengan konsentrasi 20%, 40% dan 60% memiliki diameter daya hambat berturut-turut 10,60 mm, 11,22 mm, dan 11,69 mm. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak diklorometana dan ekstrak etanol 70% daun bisbul terhadap *T. mentagrophytes* ada pada konsentrasi 20%, sementara itu KHM ekstrak etanol 70% daun bisbul terhadap *T. mentagrophytes* ada pada konsentrasi 10%, sedangkan terhadap *M. furfur* ada pada konsentrasi 20%.

DAFTAR PUSTAKA

Akter, S., & Sarker, A., (2015). Antimicrobial activities of seeds of *Diospyros blancoi* and *Baccaurea ramiflora*. *International Journal of Advances In*

Pharmacy, Biology And Chemistry, 4(4), 789-793.

Akter, S., Haque, T., Irine, E. J., Kabir, Md. F., Ahmed, S., & Begum, T. (2015). Comparatif Antimicrobial Activities of Different Species of *Ixora*. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 3(6), 103-105.

Alfiah, R. R., Khotimah, S., & Turnip, M. (2015). Efektivitas Ekstrak Metanol Daun Sembung Rambat (*Mikania micrantha* Kunth) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Protobiont*, 4(1), 52-57.

Christoper, W., Diana, N., & Sari, R. (2017). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (*Eleutherine americana* (Aubl.) Merr. Ex K. Heyne.) terhadap *Trichophyton mentagrophytes* secara In Vitro . *Jurnal Kesehatan Andalas*, 6(3), 685-689.

Demetillo, M. T., Nuñez, O. M., Uy, M. M., & Senarath, W. T. P. S. K. (2019). Phytochemical Screening, Antioxidant and Antidiabetic Evaluation of Leaf Extracts From *Diospyros blancoi* A. DC. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 10(8), 3951-3956.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). (1987). *Analisis Obat Tradisional*. Jakarta. Indonesia: Dirjen POM, Depkes RI.

Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Depkes RI). (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta. Indonesia: Depkes RI.

Dewi, R., Amelia, F., & Desy, M. W. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Metanol Daun Sirih (*Piper bettle* L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Propionibacterium acnes* dan Khamir *Malassezia furfur*. *Sainstech Farma Jurnal Ilmu Kefarmasian*. 12(1), 42-48.

Esati, N. K., Darmika, R., La, E. O. J., & Prasetya, A. A. N. P. R. (2021). Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol dan Ekstrak Air Daun Afrika Asal Bali terhadap Bakteri *Propionibacterium acnes*. *Acta Holistica Pharmacia*, 3(2), 24-29.

Gholib, D. (2009). Daya Hambat Ekstrak Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes* Dan *Cryptococcus neoformans*

- Jamur Penyebab Penyakit Kurap Pada Kulit Dan Penyakit Paru. *Bul. Littro*, 20(1), 59-67.
- Gunawan, A., Eriawati., & Zuraidah. (2015). Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (*Piper sp.*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *Prosiding Seminar Nasional Biotik*, 3(1), 368-376.
- Howlader, Md. S. I., Sayed, M. S., Ahmed, M. U., Mohiuddin, A. K., Labu, Z. K., Bellah, Sm, F., & Islam, M. S. (2012). Characterization of Chemical Groups and Study of Antioxidant, Antidiarrhoeal, Antimicrobial and Cytotoxic activities of ethanolic extract of *Diospyros blancoi* (Family: Ebenaceae) Leaves. *Journal of Pharmacy Research*, 5(6), 3050-3052.
- Ikatan Apoteker Indonesia (IAI). (2017). *Informasi Spesialite Obat Indonesia*, 15. Jakarta, Indonesia: Isfi Penerbitan.
- Mayasari, U., & Laoli, M. T. (2018). Karakterisasi Simplisia Dan Skrining Fitokimia Daun Jeruk Lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). *Jurnal Klorofil*, 2(1), 7-13.
- Melinda, T., NYRS Asseggaf, S., Mahyarudin., & Natalia, D. (2019). Aktivitas anti jamur ekstrak etanol daun kesum (*Polygonum minus* Huds.) terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes*. *Majalah Kedokteran Andalas*, 42(35), 48-56.
- Nazri, N. A. A. M., Ahmat, N., Adnan, A., Mohamad, S. A. S & Ruzaina, S. A. S. (2011). *In Vitro* Antibacterial and Radical Scavenging Activities of Malaysian Table Salad. *African Journal of Biotechnology*, 10(30), 5728-5735.
- Nuryanti, S. (2016). Aktivitas Antifungi Temu Putih (*Curcuma zedoaria*) Terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. *Jurnal As-Syifaa*, 8(2), 50-5.
- Octaviani, M., Fadhli, H., & Yuneistya, E. (2019). Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Dari Kulit Bawang Merah (*Allium cepa* L.) Dengan Metode Difusi Cakram. *Pharmaceutical Sciences and Research (PSR)*, 6(1), 62-68.
- Ragasa, C. Y., Puno, M. R. A., Sengson, J. M. A. P., Shen, C., Rideout, J. A., & Raga, D. D. (2009). Bioactive Triterpenes from *Diospyros blancoi*. *Natural Product Research Journal*, 23(13), 1252-1258.
- Sukmana, I, K., Yani, L., & Kodir, R. A. (2017). Penetapan Kadar Flavonoid Total dari Ekstrak Etanol buah Bisbul (*Diospyros blancoi* A. DC.). *Journal Prosiding Farmasi*, 3(2), 421-425.
- Taghipour, S., Shamsizadeh, F., Pchelin, I.M., Rezaei-Matehkolaei, A., Mahmoudabadi, A. Z., Valadan, R., Ansari, S., Katirae, F., Pakshir, K., Zomorodian, K., & Abastabar, M. (2020). Emergence of Terbinafine Resistant *Trichophyton mentagrophytes* in Iran, Harboring Mutations in the Squalene Epoxidase (SQLE) Gene. *Infection and Drug Resistance*, 13, 845–850.
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, M., Kaur, G., & Kaur, H. (2011). Phytochemical screening and extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 95-106.
- Widayat, W., Nisa, N., & Ibrahim, A. (2015). Aktivitas ekstrak temu kunci (*Boersenbergia pandurata* roxb. Schlecht.) terhadap jamur penyebab pitiriasis versikolor (*Malassezia Sp. Malasseziaglobosa* & *Malassezia furfur*). Paper was presented on *Seminar Nasional Kefarmasian Ke- 2*, Samarinda, Indonesia.
- Zeinusa, P., Ramadhian, M. R., Nasution, S. H., & Karima, N. (2019). Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Teh Hijau terhadap *Escherichia coli* Secara In Vitro. *Majority*, 8(2), 137-143.
- Zou, Y., Lu, Y., & Wei, D. (2004). Antioxidant Activity of a Flavonoid-Rich Extract of *Hypericum perforatum* L. In Vitro. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52, 5032–5039.