

**ISOLASI SENYAWA AKTIF ANTIJAMUR *Fusarium oxysporum* Schlecht
DARI DAUN CENGKEH****Yenni Karlina¹, Sukrasno², I Nyoman Pugeg Aryantha³**¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Jenderal Achmad Yani, Jl. Terusan Sudirman, Cimahi²Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha 10³Sekolah Ilmu Teknologi dan Hayati, Institut Teknologi Bandung, Jl. Ganesha 10

Corresponding author email: yheyhen_k@yahoo.co.id

ABSTRAK

Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif antijamur dari ekstrak n-heksan, etil asetat, metanol dan minyak atsiri tanaman obat daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill and Perry), terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* Schlecht. Uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi agar dengan menghitung presentase penghambatan pertumbuhan radial miselium jamur pada hari ke tujuh. Konsentrasi ekstrak yang digunakan untuk uji aktivitas antijamur, yaitu 2,5%, 5%, dan 10%. Ekstrak n-heksan dan minyak atsiri daun cengkeh memiliki aktivitas antijamur tinggi, yaitu 76-100%. Selanjutnya, ekstrak n-heksan difraksinasi menggunakan kromatografi cair vakum, kromatografi kolom dan kromatotron. Identifikasi senyawa dianalisis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Kromatografi Gas-Spektroskopi Massa (KG-SM). Pada ekstrak n-heksan yang didapatkan 2 subfraksi. Subfraksi 1 memiliki aktivitas antijamur 32,72% pada konsentrasi 5% dan subfraksi 2 dengan aktivitasnya 90,90% pada konsentrasi 2,5%. Data KG-SM menunjukkan kandungan utama subfraksi 1 adanya senyawa karyofilen (BM 204) dan subfraksi 2 eugenol (BM 164).

Kata kunci : Antijamur, *Fusarium oxysporium*, tanaman obat**ABSTRACT**

*This research has been performed, the isolation and identification the antifungal activity of extracts of n-hexane, ethyl acetate, methanol and essential oils from medicinal plant cloves (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill and Perry), against the growth of the fungus *Fusarium oxysporum* Schlecht. Antifungal activity test, using the jelly diffusion method by calculating the percentage inhibition of radial growth of fungal mycelium on the seventh day. Concentration of extract used to test the antifungal activity was 2.5%, 5% and 10%. N-hexane extracts and essential oils of clove leaf has a high antifungal activity, which is 76-100%. Further, n-hexane extract was fractionated using vacuum liquid chromatography, chromatography columns and chromatotron. Identification of the compound was analyzed by Thin Layer Chromatography (TLC) and Gas Chromatography-Mass Spectroscopy (GC-MS). In the n-hexane extract obtained 2 subfractions. Subfraction 1 has antifungal activity of 32.72% at concentration of 5% and subfraction 2 has antifungal activity of 90.90% at concentration of 2.5%. GC-MS data shows that the major component of subfraction 1 was caryophyllene (M = 204) and subfraction 2 was eugenol (M = 164).*

Keywords : Antifungal, *Fusarium oxysporium*, medicinal plant cloves.**PENDAHULUAN**

Cengkeh sudah dikenal sejak zaman dahulu di India dan Cina sebagai tanaman obat, kemudian penyebarannya meluas ke seluruh dunia. Minyak cengkeh dipakai juga sebagai penambah rasa masakan di India dan Cina. Cengkeh mengandung kalsium, asam klorida, zat besi,

fosfor, natrium, kalium, vitamin A dan vitamin C.

Minyak cengkeh memiliki manfaat sebagai antimikroba, antijamur, antiseptik, antivirus, dan afrodisiak. Minyak esensial ini digunakan untuk menghilangkan rasa sakit gigi, sariawan, dan gusi (Memmo dkk. 2012). Pada gangguan pencernaan, minyak cengkeh berguna mengobati masalah pada lambung, seperti mabuk, mual,

muntah dan perut kembung. Selain itu, minyak cengkeh biasa ditambahkan ke dalam krim kosmetik dan lotion yang lebih dikenal sebagai minyak pijat. Pemanfaatan cengkeh dan tanaman obat juga dapat digunakan sebagai peptisida organik untuk mengendalikan hama, diantaranya sebagai antijamur (Carrasco dkk., 2012, Manik dkk. 2009, Cheng dkk., 2008, Park dkk., 2007, Verma dkk., 2007). Pestisida yang menggunakan bahan organik lebih ramah lingkungan dan aman bagi kesehatan manusia, serta memberikan nilai tambah ekonomi pada produk yang dihasilkan (Sastrahidayat 1992, Semangun 1994).

Syzygium aromaticum (cengkeh) merupakan Divisi: Magnoliophyta, Kelas: Magnoliopsida (Dicots), Anak Kelas: Rosidae, Bangsa: Myrtales, Suku: Myrtaceae, Jenis: *Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry (Cronquist, 1981). Cengkeh dikenal sebagai nama daerah di Jawa dan Sunda. Wunga lawang merupakan nama daerah dari cengkeh yang banyak dikenal di Bali. Cengkeh juga ada yang menyebut cangkik (Lampung), sake (Nias), beungeu lawang (Gayo), cengke (Bugis), sinke (Flores), sanke (Makasar), dan gamode (Tidore). Ciri-cirinya, antara lain berupa pohon, tinggi 18m, daun bulat telur lonjong, tebal, mengkilat, bunga coklat tua, kelopak 4 dan harum (DepKes RI, 1978). Cengkeh mengandung minyak atsiri terdiri dari eugenol, asetil eugenol, dan kariofilen. *Syzygium aromaticum* diketahui memiliki aktivitas anti jamur terhadap Jamur *Fusarium oxysporum* (Amin dkk. 2013, Suprpta, 2012).

Pada penelitian ini dilakukan isolasi dan identifikasi senyawa aktif antijamur dari daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merrill and Perry), terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* Schlecht.

METODE

Bahan. Simplisia yang digunakan adalah daun cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.), Bahan lain yang digunakan, yaitu metanol, n-heksana, etil asetat, toluen, aseton, asam klorida pekat, asam asetat pekat, asam sulfat pekat, aluminium klorida, Anisaldehida, tween 80, etanol 70%, aluminium foil, cling wrap, plat pralapis silica gel GF254 (MERCK®), serbuk silika 60 (0,063-0,200mm) (MERCK®), serbuk silika 60H (MERCK), air suling, pereaksi untuk penapisan fitokimia, media *Potato Dextrose Agar*(PDA) (OXOID®), eugenol (Aldrich), dan kultur murni *Fusarium oxysporum* dari Balai Penelitian

Tanaman Sayuran (BALITSA), Lembang, Bandung.

Alat. Cawan penguap, Erlenmeyer, gelas kimia, krus porselen, pipet ukur, labu destilasi, tabung reaksi, pipet tetes, pinset, mikropipet, penguap vakum putar, timbangan analitik, pembakar Bunsen, cawan Petri, pencadang (*cork borer*), lemari inkubator (Wisecube®), plat tetes, *autoclave*, spatel logam, bejana kromatografi lapis tipis, vial, pipa kapiler, alat kromatografi cair vakum, kromatotron, dan KG-SM (Shimadzu QP 2010 ULTRA).

Pembuatan Ekstrak. Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah tumbuhan kering. Sampel tersebut diekstraksi dengan menggunakan maserasi. Tumbuhan segar 20 gr dimaserasi dengan pelarut metanol selama 3x 24 jam.

Hasil maserasi disaring dan dipekatkan menjadi ekstrak kental dan dibuat larutan ekstrak dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% untuk masing-masing ekstrak. Larutan ini kemudian digunakan sebagai bahan uji.

Penentuan aktivitas antijamur. Pemilihan metode uji aktivitas antijamur dilakukan dengan metode difusi agar, caranya cawan Petri yang telah berisi 15 ml media PDA dibiarkan memadat. Setelah padat dibuat sumur difusi masing – masing sebanyak 4 buah pada setiap petri dengan menggunakan *cork borer*. Setiap sumur difusi diisi dengan 50 µl ekstrak uji. Jamur dipotong dengan pencadang (*cork borer*) yang berdiameter 5 mm diletakkan ditengah medium agar tersebut. Daya hambat ekstrak uji diamati terhadap pertumbuhan miselium dari jamur.

Ekstraksi Simplisia Daun Cengkeh. Ekstrak yang aktif selanjutnya diekstraksi dengan Soklet secara bertingkat menggunakan pelarut n-heksana, etil asetat dan metanol. Masing-masing ekstrak selanjutnya dipekatkan dan diuji aktivitas antijamur dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%. Terhadap ekstrak yang paling kuat aktivitasnya dilanjutkan dengan isolasi untuk mendapatkan senyawa aktif antijamur.

KG-MS (Kromatografi Gas- Spektroskopi Massa). Kromatografi gas adalah salah satu teknik kromatografi dengan menggunakan prinsip pemisahan campuran berdasarkan perbedaan kecepatan migrasi komponen-komponen penyusunnya. Kromatografi ini digunakan untuk mendeteksi senyawa-senyawa yang mudah menguap pada kondisi vakum tinggi dan tekanan rendah serta dapat dipanaskan. Instrumen kromatografi gas bisa digunakan bersama dengan instrumen spektroskopi massa.

Pada KG-MS akan memisahkan komponen-komponen yang menghasilkan kromatogram sedang spektrometri massa masing-masing senyawa disebut spektrum (Fowles, 1998).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Pengujian Aktivitas Ekstrak dan Minyak Atsiri Daun Cengkeh. Pengujian antijamur secara *in vitro* menunjukkan aktivitas daun cengkeh dapat menghambat pertumbuhan radial jamur *Fusarium oxysporum* cukup tinggi. Oleh karena itu, dilakukan ekstraksi daun cengkeh dengan cara Soklet bertingkat menggunakan pelarut n-heksan, etil asetat dan metanol. Masing-masing ekstrak tersebut dilakukan uji aktivitas antijamur.

Selain itu, dilakukan juga penyulingan minyak atsiri untuk membandingkan aktivitas antijamur. Hasil uji aktivitas antijamur dapat dilihat pada Tabel 1. Untuk pengujian ekstrak n-heksan terhadap jamur *Fusarium oxysporum* menggunakan media PDA.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas Ekstrak dan Minyak Atsiri Daun Cengkeh

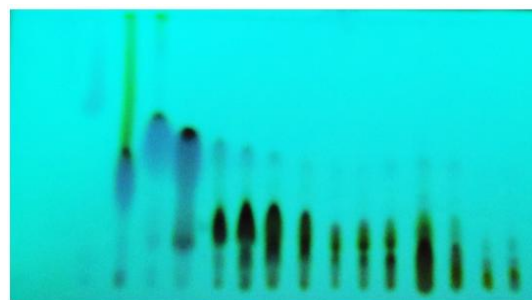
No.	Ekstrak	Konsentrasi	Aktivitas
1	n-heksan	2,5%	-
		5%	++
		10%	++++
2	Etil Asetat	2,5%	-
		5%	++
		10%	++
3	Metanol	2,5%	-
		5%	+
		10%	++
4	Minyak atsiri	2,5%	+++
		5%	++++
		10%	++++

Keterangan :

-	: tidak ada aktivitas
+	: aktivitas 1-25%
++	: aktivitas 26-50%
+++	: aktivitas 51-75%
++++	: aktivitas 76-100%

Isolasi Kandungan Ekstrak N-heksan.

Ekstrak n-heksan (20 gr) dilakukan fraksinasi dengan menggunakan Kromatografi Cair vakum dengan eluen bergradien berdasarkan kenaikan kepolaran (n-heksan, etil asetat dan metanol). Hasil kromatografi diperoleh sebanyak 17 fraksi (A-Q) dan dipantau dengan Kromatografi Lapis Tipis (Gambar 1).



Gambar 1. Kromatogram hasil pemisahan dengan KCV ekstrak n-heksan (fasa gerak toluen-aseton 9:1) dibawah sinar UV 254 nm.

Fraksi C, E dan K dilakukan uji aktivitas antijamur dengan konsentrasi 2,5%, 5% dan 10%. Hasil Uji aktivitas antijamur dari fraksi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Fraksi C, E, dan K

	Konsentrasi	
	(b/v)	Aktivitas
Fraksi C	2,5%	-
	5%	++
	10%	++
Fraksi E	2,5%	+
	5%	+++
	10%	++++
Fraksi K	2,5%	-
	5%	-
	10%	-

Keterangan :

-	: tidak ada aktivitas,
+	: aktivitas 1-25%
++	: aktivitas 26-50%
+++	: aktivitas 51-75%
++++	: aktivitas 76-100%

Fraksi C (41,3 mg) dilakukan pemurnian dengan kromatografi radial menghasilkan 30 subfraksi dengan teknik elusi gradient sehingga didapat subfraksi 1. Pada fraksi E (2 gr) dilakukan pemisahan dengan menggunakan kromatografi kolom dan kromatografi radial dengan teknik isokratik sehingga didapat subfraksi 2. Masing-masing subfraksi 1 dan subfraksi 2 dilakukan uji aktivitas antijamur. Hasilnya dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Aktivitas Pada Subfraksi 1 dan Subfraksi 2

	Konsentrasi (b/v)	Aktivitas
Subfraksi 1	1,25%	-
	2,5%	-
	5%	++
	10%	++
Subfraksi 2	1,25%	++
	2,5%	++++
	5%	++++
	10%	++++

Keterangan :

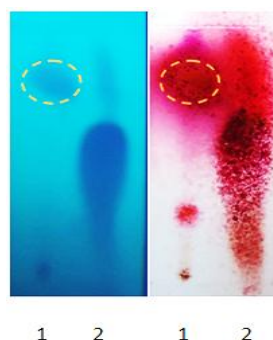
- : tidak ada aktivitas
- + : aktivitas 1-25%
- ++ : aktivitas 26-50%
- +++ : aktivitas 51-75%
- ++++ : aktivitas 76-100%

Subfraksi 2 memberikan prosentase penghambatan lebih besar dibandingkan dengan subfraksi 1. Hal ini diduga karena adanya perbedaan kandungan senyawa pada kedua subfraksi tersebut. Senyawa yang ada pada subfraksi 2 ini diduga memberikan kontribusi terhadap antijamur pada daun cengkeh.

Identifikasi Senyawa Subfraksi 1. Subfraksi 1 diperoleh berupa minyak berwarna bening dan berbau aromatik. Subfraksi 1 diduga merupakan komponen minyak atsiri daun cengkeh. Subfraksi 1 dianalisis menggunakan pembandingan minyak atsiri daun cengkeh. Hasil kromatogram dapat dilihat pada Gambar 2.

Data kromatogram subfraksi 1 menunjukkan bahwa senyawa yang ada merupakan senyawa minor yang terkandung dari minyak atsiri. Hasil pemantauan KLT subfraksi 1 memiliki Rf 0,85. Selanjutnya, pada subfraksi 1 dilakukan analisis lebih lanjut menggunakan KG-SM. Hasil Kromatogram dan pola fragmentasi senyawa

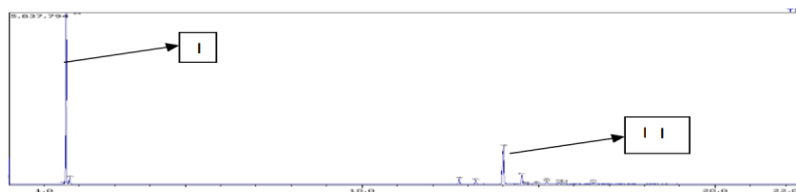
subfraksi 1 dapat dilihat pada Gambar 3, Gambar 4, dan Gambar 5.



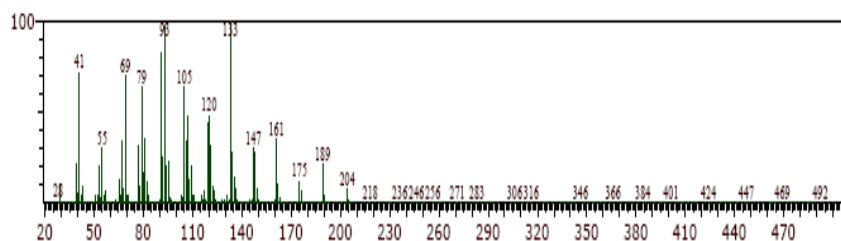
Gambar 2. Kromatogram KLT, (1) Subfraksi 1 (2) minyak atsiri daun cengkeh, fase diam silika gel GF254 dan fase gerak toluen-aseton (9:1), (A) dibawah lampu UV 254nm, (B) setelah disemprot Anisaldehyd-as.sulfat, dipanaskan.

Data spektrum kromatografi gas menunjukkan puncak I yang tertinggi adalah pelarut n-heksan. Puncak II merupakan senyawa yang kandungannya tertinggi dibandingkan dengan senyawa lainnya, yaitu 25,23%.

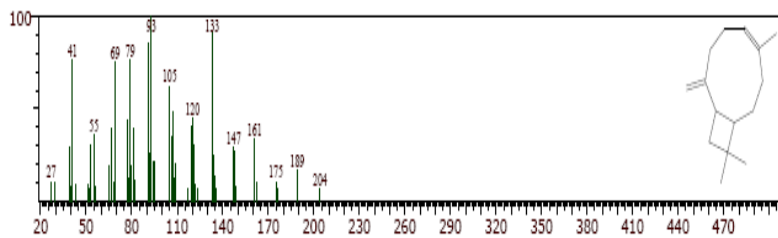
Senyawa ini memiliki waktu retensi 14 menit. Pemeriksaan spektrum masa puncak II memiliki berat molekul 204 dengan rumus molekul C₁₅H₂₄. Spektrum massa ini memperlihatkan adanya fragmen molekul pada m/z 204 (10%), m/z 189 (20%), m/z 133 (90%) dan m/z 98 (100%) menunjukkan bagian spektrum yang sama dengan spektrum standar kariofilen. Hasil KG-MS ini sesuai dengan hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Memmou dan Mahboun (2012).



Gambar 3. Kromatogram KG-SM subfraksi 1



Gambar 4. Spektrum massa senyawa II

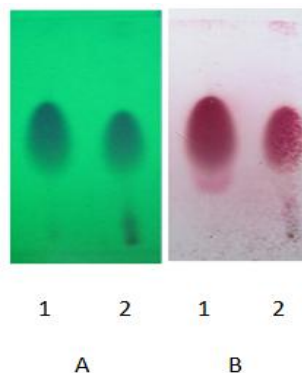


Gambar 5. Spektrum massa karyofilen

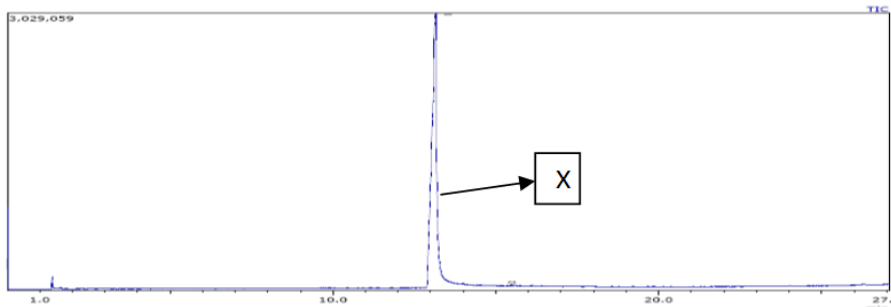
Identifikasi Senyawa Subfraksi 2.

Identifikasi senyawa subfraksi ini berupa minyak atsiri, berbau khas, dan berwarna kuning kecoklatan. Hasil identifikasi senyawa subfraksi tersebut sama seperti penelitian yang telah dipublikasikan oleh Rahimi dkk (2012). Data kromatogram dari subfraksi 2 dengan pembandingan eugenol memiliki pola KLT yang mirip. Hal ini dapat dilihat pada gambar 6.

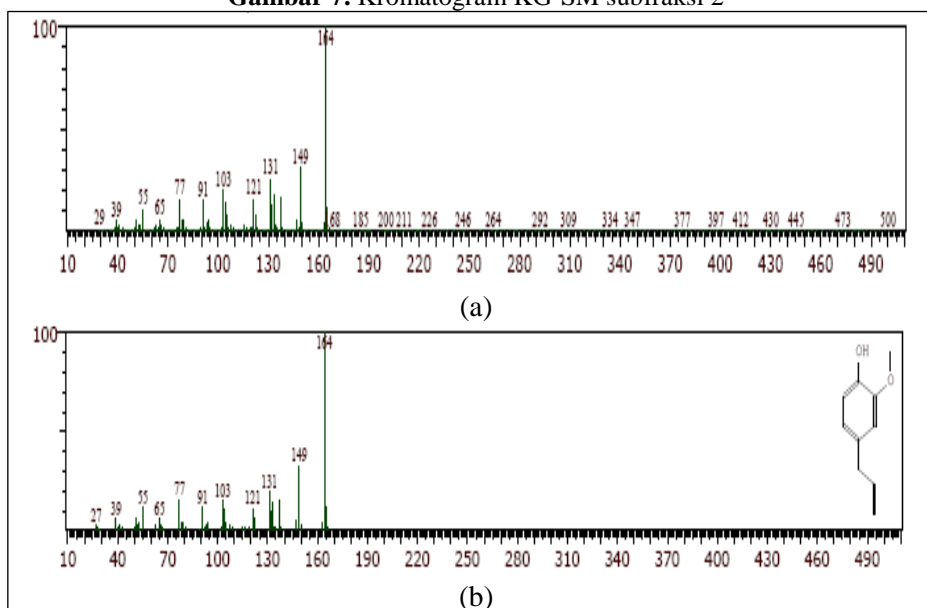
Data kromatogram dari KG-SM subfraksi 2 terdapat puncak utama X dengan kadar 99.88% yang menunjukkan puncak mayor. Senyawa subfraksi ini memiliki waktu retensi 15 menit. Kromatogram KG-SM subfraksi 2 ini dapat diamati seperti yang terlihat pada gambar 7.



Gambar 6. Kromatogram KLT (1) subfraksi 2 dengan (2) pembandingan eugenol, fase diam silika gel F₂₅₄ nm dan fase gerak toluene-aseton (9:1), A) dibawah lampu UV 254nm, B) setelah disemprot Anisaldehyd-as.sulfat, dipanaskan.



Gambar 7. Kromatogram KG-SM subfraksi 2



Gambar 8. Spektrum massa senyawa X (a) dan spektrum massa eugenol (b)

Pemeriksaan spektrum massa menunjukkan berat molekul senyawa X adalah 164 dengan rumus molekul $C_{10}H_{12}O_2$. Spektrum massa ini memperlihatkan adanya fragmen molekul pada m/z 164 (100%), m/z 149 (32%), m/z 131 (22%), m/z 121 (15%), m/z 103 (20%) dan m/z 91 (18%). Pola pemecahan fragmen dari spektrometer massa juga sesuai dengan pustaka dan hasil analisis menunjukkan bahwa senyawa ini adalah eugenol. Spektrum massa dari masing-masing puncak X dan eugenol dapat dilihat pada Gambar 8 (a) dan 8(b).

KESIMPULAN

Ekstrak n-heksan didapatkan dua subfraksi. Subfraksi 1 memiliki aktivitas antijamur 32,72% pada konsentrasi 5%. Subfraksi 2 dengan aktivitasnya antijamur 90,90% pada konsentrasi 2,5%. Data KG-SM menunjukkan kandungan utama subfraksi 1 adanya senyawa karyofilen (BM 204) dan subfraksi 2 eugenol (BM 164). Komponen utama daun cengkeh yang aktif sebagai antijamur adalah eugenol.

DAFTAR PUSTAKA

- Amin, M., Jassal, M. M. S., and Tygi, S. V. (2013): Phytochemical Screening and Isolation of Eugenol From *Syzygium aromaticum* by Gas Chromatography. *Internasional Journal of Reseach in Phytochemistry and Pharmacology*, 3(1) : 74-77
- Carrasco, H., Raimondi, M., Stevaz, L., Liberto, M. D., Rodriguez, M. V., Espinoza, L., Madrid, A., and Zacchino, S. (2012): Antifungal Activity of Eugenol Analogues. Influence of Different Substituents and Studies on Mechanism of Action. *Molecules*. 17: 1002-1024
- Cheng, S. S., Lin, J. Y., Chang, E. H., and Chang, S. T. (2008): Antifungal activity of cinnamaldehyde and eugenol congeners against wood-rot fungi. *Jounal Bioresource Technology*. 99 : 5145-5149
- Cronquist, A.(1981) : An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press. New York
- Departemen Kesehatan RI. (1978): *Materia Medika Indonesia*. Jilid I-VI. Jakarta: Departemen Kesehatan RI
- Fowlis, Ian A.,1998. *Gas Chromatography Analytical Chemistry by Open Learning*. John Wiley & Sons Ltd: Chichester. Khalimi, K and Suprpta, D. N. (2012): Anti-Fungal Activities of Selected Tropical Plants from Bali Island. *Phytopharmacology*, 2(2): 265-270
- Manik, R. (2009): Uji Efektifitas Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dan Daun Serai (*Andropogon nardus* L.) terhadap penyakit Antraknosa (*Colletotrichum capsici* (Syd) Buttler and Bisby) pada tanaman cabai (*Capsicum annum* L.) dilapangan. Universitas Sumatera Utara. Medan
- Memmu, F. and Mahboub., R. (2012): Composition of Essential Oil from Fresh Flower of Clove. *Journal of Scientific Research in Pharmacy*, 1(2): 33-35
- Park, M.J., Gwak, K.S., Yang, I., Choi, W.S., Jo, H. J., Chang, J. W., Jeung, E. B., and Choi, I. G. (2007): Antifungal Activities of the Essensial Oils in *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. Et Perry and *Leptospermum petersonii* Bailey and their Constituen against Various Dermatophytes. *The Journal of Microbiologi*, 45 (5): 460-465
- Rahimi, A. A., Ashnagar, A and Hamideh, N. (2012) : Isolation and characterization of 4-allyl-2-methoxyphenol (eugenol) from Clove Buds Marketed In Tehran City of Iran. *International Journal of ChemTech Research*, 4(1): 105-10
- Sastrahidayat, I.R., 1992. *Ilmu Penyakit Tumbuhan Usaha nasional Surabaya Indonsia*. Hal 365
- Semangun H. 1994. *Penyakit-penyakit Tanaman Hortikultura di Indonesia*. Gadjah Mada University Press, Yogyakarta. Hal 556-561
- Verma, R. K., Chaurasia, L., and Katiyar, S. (2007): Potential Antifungal Plants For Controlling Building Fungi. *Natural Product Radiance*, 7(4): 374-387