

Identifikasi Golongan Senyawa Antijamur *Malassezia furfur* dari Mikroalga Hijau (*Chlorella vulgaris* B) dengan Metode KLT Bioautografi

Identification of *Malassezia furfur* Antifungal Compound Groups of Green Microalgae (*Chlorella vulgaris* B) with Bioautography TLC Method

¹Nur Azizah Suhara, ²Indra Topik Maulana, ³Esti Rachmawati Sadiyah

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung, Jl. Tamansari No.1 Bandung 40116

email: ¹nurazizahsuhara@gmail.com, ²indra.topik@gmail.com, ³esti_sadiyah@ymail.com

Abstract. *Tinea versicolor* is one of the skin infections caused by dermatophyte anthropophilic fungi, *Malassezia furfur*. Medication withazole antibiotics is well known to cure this infection. However, discipline is needed in using antibiotic to achieve maximum therapeutic effect because wrong uses of antibiotic will cause resistance. Green microalgae is a natural source that has potential antifungal compounds. This research was aimed to study antifungal activity of green microalgae extract and fraction as well as to identify potential antifungal compound groups for *Tinea versicolor* infection caused by *Malassezia furfur*. Identification of compound groups in green microalgae) was conducted by phycochemical screening. Results showed that alkaloid, flavonoid, monoterpene/sesquiterpene, polyphenolic, tannin, and anthraquinone were present in the green microalgae, except for steroid that unidentified in water fraction. Extraction was performed by reflux method using ethanol 96% as solvent. Extract yield was 21.63%, with specific gravity of 0.87. Fractionation was performed by liquid-liquid extraction method which resulted 11.5% n-hexane fraction, 1.22 % ethyl acetate fraction, and 22.53% water fraction. Contact Bioautography TLC method was performed on ethanol extract, selected n-hexane fraction, and ethyl acetate fraction to test the antifungal activity. Result showed that clear zone was not present, indicating no growth inhibitory of *Malassezia furfur* on agar medium. Identification of antifungal compound groups tested with specific reagents such as Dragendroff, $AlCl_3$, and $FeCl_3$ which sprayed to TLC plate also showed unidentified results.

Keywords : *Chlorella vulgaris* B, *Malassezia furfur*, Contact Bioautography TLC.

Abstrak. *Tinea versicolor* atau lebih dikenal dengan penyakit panu, merupakan salah satu infeksi pada kulit yang disebabkan oleh jamur antropofilik dermatofita, yaitu jamur *Malassezia furfur*. Pengobatan terhadap penyakit panu yang telah dilakukan adalah dengan antibiotik golongan Azol, namun penggunaan antibiotik perlu diiringi dengan kedisiplinan untuk mencapai efek terapi yang maksimal, karena penggunaan obat antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi. Mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) merupakan bahan alam yang mengandung senyawa yang berpotensi sebagai senyawa antijamur. Penelitian ini bertujuan menguji aktivitas antijamur dari ekstrak dan fraksi mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) dan menelaah golongan senyawa yang berpotensi sebagai antijamur penyebab penyakit panu, yaitu *Malassezia furfur*. Identifikasi kandungan senyawa di dalam mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) dilakukan dengan penapisan fikokimia. Hasil penapisan fikokimia pada semua sampel uji menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, monoterpen/sesquiterpen, polifenolat, tannin, antrakuinon, kecuali steroid tidak ada pada fraksi air. Ekstraksi dilakukan dengan metode refluks dengan pelarut etanol 96%. Hasil rendemen ekstrak sebesar 21,63% dengan BJ sebesar 0,87. Fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair, menghasilkan rendemen fraksi n-heksan sebesar 11,5%, etil asetat sebesar 1,22%, dan air sebesar 22,53%. Pengujian aktivitas antijamur dengan metode KLT bioautografi kontak dilakukan pada ekstrak etanol, fraksi terpilih n-heksan dan etil asetat. Hasil pengujian KLT bioautografi tidak menghasilkan zona bening, yang menunjukkan tidak adanya penghambatan pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* pada medium agar. Hasil identifikasi golongan senyawa yang berpotensi sebagai antijamur yang dilakukan dengan menggunakan penampak bercak spesifik seperti Dragendroff, $AlCl_3$, dan $FeCl_3$ yang disemprotkan pada plat KLT belum dapat teridentifikasi.

Kata Kunci : *Chlorella vulgaris* B, *Malassezia furfur*, KLT Bioautografi Kontak

A. Pendahuluan

Tinea versicolor atau lebih

dikenal dengan penyakit panu, merupakan salah satu infeksi pada kulit yang disebabkan oleh jamur antropofilik

dermatofita, yaitu jamur *Malassezia furfur* (Padhye dan Summerbell, 2005: 3). Jamur *Malassezia furfur* mampu menginfeksi daerah kulit yang mengandung banyak kelenjar *sebacea* atau kelenjar minyak, seperti kulit kepala, wajah, punggung, dan dada (Tovar, 2010: 187). Pengobatan terhadap penyakit panu yang telah dilakukan adalah penggunaan antibiotik golongan azol seperti ketokonazol, flukonazol, dan imidazol (Crawford dan Hollis, 2007: 5). Penggunaan antibiotik perlu dibarengi dengan kedisiplinan yang tinggi untuk mencapai efek terapi yang maksimal, karena penggunaan obat antibiotik yang tidak tepat dapat menimbulkan resistensi. Untuk mengatasi resiko resistensi terhadap antibiotik, dapat digunakan alternatif pengobatan menggunakan obat yang bersumber dari bahan alam. Salah satu bahan alam yang dapat dimanfaatkan adalah mikroalga hijau *Chlorella vulgaris* B. Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol dan metanol pada *Chlorella vulgaris* B telah dibuktikan memiliki aktivitas terhadap beberapa mikroba, seperti *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Eshericia coli* (Amaro, 2011: 4). Tetapi, belum banyak informasi penelitian terkait dengan aktivitasnya terhadap jamur. Penelitian terhadap aktivitas antijamur dari senyawa kimia yang terkandung di dalam *Chlorella vulgaris* B baru dilakukan terhadap jamur *Candida kefyr*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Aspergillus niger* (Ghasemi, *et al.* 2007: 904). Berdasarkan latar belakang di atas, dapat dirumuskan permasalahan, yaitu apakah ekstrak dan fraksi dari mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) memiliki aktivitas antijamur terhadap jamur *Malassezia furfur* penyebab penyakit panu serta golongan senyawa apa saja yang memiliki potensi sebagai antijamur. Manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah dapat menemukan golongan senyawa dari ekstrak dan fraksi yang

berasal dari mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) yang memiliki aktivitas sebagai antijamur terhadap jamur *Malassezia furfur*, serta diharapkan senyawa ini dapat menjadi alternatif pengganti antibiotik dalam mengobati penyakit panu untuk menghindari resistensi dan sebagai sarana dalam mengembangkan ilmu pengetahuan.

B. Landasan Teori

Menurut Safi, *et al* (2014, 266), klasifikasi mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris*) B adalah sebagai berikut :

Kerajaan	: Protista
Divisi	: Chlorophyta
Kelas	: Trebouxiophyceae
Bangsa	: Chlorellales
Suku	: Chlorellaceae
Marga	: <i>Chlorella</i>
Jenis	: <i>Chlorella vulgaris</i>
B.1890	

Mikroalga merupakan makhluk hidup berukuran mikro, yang mampu melakukan proses fotosintesis untuk kelangsungan hidupnya. Mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) termasuk ke dalam kelompok Protista mirip tumbuhan. Mikroalga ini mampu hidup dalam perairan tawar maupun asin, dan dapat hidup pada tempat beriklim tropis hingga panas (Safi, *et al*, 2014: 266). Di dalam mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) terdapat senyawa protein yang berfungsi dalam mengatur pertumbuhan dan sebagai pelindung dari gangguan makhluk asing (Solomon, 1999 dalam Safi, *et al*, 2014: 269), lipid yang terdiri atas glikolipid, hidrokarbon, fosfolipid, dan asam lemak bebas, serta mengandung pati yang berfungsi sebagai penyimpanan energi untuk aktivitas sel (Safi, *et al*, 2014: 270). Selain itu, Mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) juga mengandung pigmen yang dapat berfungsi sebagai antioksidan, yaitu

klorofil dan karotenoid. kandungan pigmen tersebut dapat dimanfaatkan oleh manusia untuk pengobatan penyakit kardiovaskuler dan kanker (Safi, *et al.*, 2014: 272), serta dapat dimanfaatkan sebagai bahan pembuatan biodiesel untuk alternatif sumber energi (Tran, NH, *et al.*, 2010: 265).

Tinea versicolor atau panu merupakan salah satu penyakit kulit yang disebabkan oleh jamur *Malassezia furfur*. Penyakit panu dapat terjadi secara endemik pada daerah beriklim tropis dan dapat menular melalui kontak fisik dengan penderita, tinggal atau berkegiatan bersama dalam satu ruangan dan dapat menular melalui pemakaian bersama barang-barang pribadi seperti handuk, selimut, sisir, dan pakaian (Tovar, 2010: 185). Jamur *Malassezia furfur* disebut sebagai jamur antropofilik dermatofit karena kemampuannya dalam menginfeksi manusia. Koloni spesies jamur pada kelompok antropofilik dermatofit dapat berbentuk bulat, lonjong, atau silindris dengan ukuran 2.5 dan 8 μm (Padhye dan Summerbell, 2005: 220).

C. Metode Penelitian

Alat

Alat-alat gelas, neraca analitik (Mettler[®] Toledo AL204), krus porselen, refluks, corong Buchner, *hot plate* (IKA[®] C-MAG H7), *rotary vacuum evaporator*, *water bath*, cawan uap, corong pisah, autoklaf, oven (Mettmert[®]), tanur, cawan petri, alat destilasi azeotroph, *Bio-Safety Cabinet* (BSC) (Telstar[®]), inkubator (Heraeus[®]).

Bahan

Chlorella vulgaris B, aquadest, etanol 95%, n-heksana, etilasetat, plat KLT GF 254, kertas saring bebas abu, kapas lemak, indikator phenolphthalein, asam asetat glasial, kloroform, KI, natrium tiosulfat,

KOH, alkohol, HCl, NaOH, metanol, Dragendroff, dan penampak bercak golongan metabolit sekunder

Jamur Uji

Malassezia furfur ATCC[®] 14521

Metode

Bahan penelitian yang digunakan yaitu serbuk kering mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) sebanyak 1 kg, yang berasal dari produsen Balai Besar Perikanan Budidaya Air Payau (BBPBAP), Jepara, Jawa Tengah. Penapisan fisikokimia dilakukan pada serbuk simplisia, ekstrak, dan fraksi. Penentuan parameter spesifik dan non-spesifik dilakukan terhadap serbuk simplisia. Metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode refluks dengan suhu sebesar 60-70^oC dan pelarut etanol 96%. Ekstraksi dilakukan hingga didapatkan ekstrak kental. Ekstrak kental difraksinasi dengan metode Ekstraksi Cair-Cair (ECC) dengan pelarut nonpolar (n-heksan) dan pelarut semipolar cenderung polar (etilasetat). Selanjutnya dilakukan pemisahan senyawa pada masing-masing fraksi dengan metode kromatografi lapis tipis, dan fraksi dengan pemisahan terbaik dipilih untuk dilanjutkan pada pengujian aktivitas antijamur dengan metode KLT Bioautografi Kontak.

D. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Tabel I. Hasil penapisan fikokimia simplisia, ekstrak, dan fraksi dari mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B)

analisis penetapan parameter standar simplisia dapat dilihat pada **Tabel 2** di bawah ini :

No	Metabolit Sekunder	Hasil Penapisan Fikokimia Mikroalga hijau (<i>Chlorella vulgaris</i> B)				
		Simplisia	Ekstrak	Fraksi n-heksan	Fraksi air	Fraksi etilasetat
1	Alkaloid	+	+	+	+	+
2	Flavonoid	+	+	+	+	+
3	Tanin	+	+	+	+	+
4	Polifenolat	+	+	+	+	+
5	Saponin	-	-	-	-	-
6	Antraquinon	+	+	+	+	+
7	Steroid	+	+	+	-	+
8	Triterpenoid	-	-	-	-	-
9	Monoterpenoid/Seskuiterpen	+	+	+	+	+

Keterangan:**(+): Terdeteksi****(-) : Tidak terdeteksi**

Berdasarkan **Tabel I**, serbuk simplisia, ekstrak, serta fraksi mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, tannin, polifenolat, antrakuinon, monoterpen/seskuiterpen dan steroid yang hanya terdapat pada simplisia, ekstrak serta fraksi n-heksan dan etilasetat. Hasil pengamatan organoleptis, atau pengamatan secara sederhana menggunakan panca indra, menunjukkan bahwa Mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) berbentuk serbuk halus, berwarna hijau lumut, dan memiliki aroma yang khas. Analisis parameter standar simplisia dilakukan untuk menjaga mutu simplisia tetap terjaga dan sesuai standar atau spesifikasi, sehingga keamanan, kualitas, dan manfaat bahan dapat terjaga. Penetapan parameter standar simplisia ini terdiri dari parameter standar spesifik dan parameter standar non-spesifik (DepKes RI, 2000: 5). Hasil

Tabel 2. Hasil penetapan parameter standar simplisia

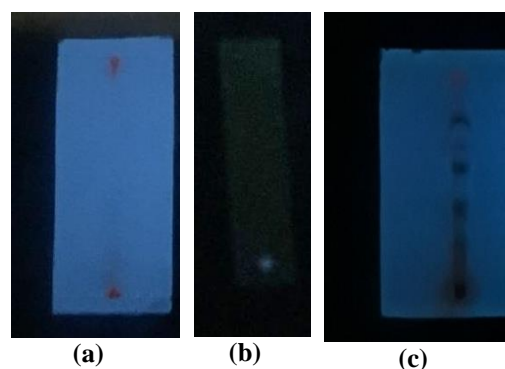
No	Parameter	Rata-rata	Rata-rata ± Standar deviasi
1	Kadar air	8.00%	8±0.00
2	Susut Pengeringan	8.21%	8.21±0.21
3	Kadar abu total	59.14%	59.14±1.07
4	Kadar abu tidak larut asam	0.30%	0.3±0.16
5	Kadar sari larut air	36.44%	36.44±0.89
6	Kadar sari larut etanol	33.79%	33.79±1.08
7	Bobot Jenis	0.87 (dalam 10% etanol 96%)	0.87±0.5

Berdasarkan **Tabel 2** jumlah kadar sari larut air lebih tinggi dibandingkan kadar sari larut etanol. Berdasarkan hasil tersebut, dapat diketahui bahwa kandungan senyawa

polar di dalam mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) lebih besar dibandingkan dengan senyawa yang bersifat semipolar. Nilai kadar sari ini dapat memberikan gambaran awal untuk tahapan selanjutnya, yaitu ekstraksi serta fraksinasi, sehingga senyawa polar yang akan terekstrak dengan pelarut polar akan lebih besar. Berdasarkan **Tabel 2** kadar air pada mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B). memenuhi syarat, yaitu kurang dari 10%, sehingga bahan masih berada dalam batas aman. Kadar susut pengeringan sebesar 8,20%, yang artinya kadar susut pengeringan lebih besar dibandingkan dengan kadar air. Hal ini membuktikan, bahwa ada senyawa lain yang menguap selain air di dalam mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B). Kadar abu total yang dihasilkan sebesar 59,14% dan tingginya kadar abu total bisa diakibatkan karena tingginya kandungan mineral di dalam bahan, sedangkan kadar abu tidak larut asam sebesar 0,3%. Artinya, bahan mikroalga hijau yang digunakan masih berada pada batas aman, karena abu non-fisiologis yang terkandung di dalam bahan jumlahnya relatif rendah. Dari hasil penetapan BJ, bahwa adanya senyawa polar dapat menjadi suatu langkah awal dalam mendeteksi kemungkinan adanya senyawa yang bersifat polar yang memiliki aktivitas sebagai antijamur.

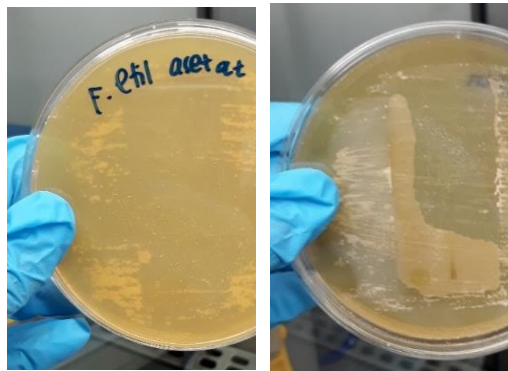
Proses ekstraksi refluks menghasilkan ekstrak dengan persen rendemen sebesar 21,63%, dengan kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat nonpolar, semipolar, dan polar. Untuk menyederhanakan dan mengelompokkan senyawa dari ekstrak mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) dilakukan fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair. Dari proses ini, dihasilkan persen rendemen fraksi n-heksan sebesar 11,5%, fraksi etilasetat sebesar 1,22%, dan fraksi air sebesar 22,53%. Hasil ini menunjukkan bahwa

di dalam ekstrak terdapat komposisi senyawa polar lebih banyak dibandingkan dengan senyawa semi polar dan nonpolar. Dalam menentukan golongan senyawa yang bersifat antijamur, digunakan metode KLT Bioautografi. Pada metode ini, senyawa antijamur dari plat KLT akan berdifusi dari plat ke dalam media agar SDA yang telah diinokulasikan jamur *Malassezia furfur* selama masa pra-inkubasi. Sebelum dilakukan proses KLT Bioautografi, terlebih dahulu dilakukan pemisahan senyawa pada fraksi n-heksan, etilasetat, dan air. Berdasarkan hasil penelitian, fraksi dengan pemisahan terbaik yaitu fraksi n-heksan dan fraksi etilasetat, seperti yang ditunjukkan oleh **Gambar 1** di bawah ini :



Gambar 1. Hasil elusi fraksi pada plat KLT GF254 yang diamati di bawah lampu UV 366 nm (a) n-heksan (b) etilasetat (c) air

Fraksi terpilih n-heksan dan etilasetat kemudian ditempelkan ke dalam media agar yang berisi jamur *Malassezia furfur*. Berdasarkan hasil penelitian, diketahui bahwa tidak terjadi penghambatan aktivitas jamur *Malassezia furfur* pada media SDA yang ditempel oleh plat KLT yang telah dielusi oleh fraksi n-heksan, etilasetat, serta ekstrak yang ditotolkan pada plat KLT, seperti pada **Gambar 2** di bawah ini :

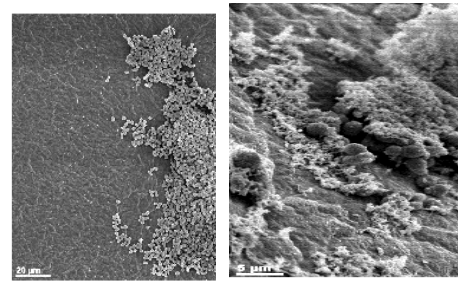


(1)

(2)

Gambar 2. KLT Bioautografi setelah masa inkubasi : 1) Fraksi n-heksan 2) Fraksi etilasetat

Berdasarkan hasil tersebut, tidak adanya penghambatan aktivitas dapat terjadi karena beberapa hal, diantaranya adalah konsentrasi senyawa pada plat KLT yang terbatas, proses KLT bioautografi yang kurang maksimal dan kemungkinan adanya senyawa aktif di dalam mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) yang menyebabkan jamur uji *Malassezia furfur* bersifat resisten. Konsentrasi senyawa pada plat KLT yang terbatas mengakibatkan jumlah senyawa yang berdifusi ke dalam media jumlahnya kurang memadai dan cenderung dalam jumlah yang rendah, sehingga tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*. Berdasarkan hasil penelitian Angiolella, *et al* (2018: 114), jamur *Malassezia furfur* mampu membentuk suatu *biofilm* yang akan berikatan dengan mannoprotein yang terdapat pada membran sel jamur, seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 3** di bawah ini :



(1)

(2)

Gambar 3. Hasil pengamatan dengan mikroskop elektron. (1) Bentuk sel jamur *Malassezia furfur*. (2) Bentuk *biofilm* jamur *Malassezia furfur*. (Angiolella, *et al*, 2018: 111)

Pembentukan *biofilm* ini dapat terbentuk saat jamur *Malassezia furfur* menempel pada permukaan yang inert, sehingga menyebabkan jamur *Malassezia furfur* bersifat resisten. Hal ini berarti, proses penempelan plat KLT pada media SDA yang terdapat jamur *Malassezia furfur* dapat memengaruhi hasil pengujian. Bahan silika gel (SiO_2) yang merupakan penyusun plat KLT menjadi bahan yang inert untuk jamur *Malassezia furfur*.

Pada penelitian ini, dalam mengidentifikasi golongan senyawa, digunakan penampak bercak spesifik, seperti AlCl_3 , FeCl_3 , serta Dragendroff. Berdasarkan hasil penelitian, saat spot hasil elusi pada fraksi n-heksan dan etilasetat disemprot menggunakan penyemprot bercak spesifik, tidak menghasilkan perubahan warna yang menunjukkan golongan senyawa tertentu. Hal ini dapat terjadi karena penggunaan penampak bercak yang

kurang sesuai untuk mengidentifikasi senyawa di dalam mikroalga *Chlorella vulgaris* B. Hasil penyemprotan dengan menggunakan penampak bercak spesifik ditunjukkan pada **Gambar 4** di bawah ini :



Gambar 4. Hasil penyemprotan bercak 1) Fraksi etilasetat 2) Fraksi n-heksan. Berturut-turut dari kiri ke kanan menggunakan penyemprot bercak Dragendroff, AlCl_3 , FeCl_3

E. Kesimpulan

Pengujian aktivitas antijamur terhadap jamur *Malassezia furfur* dari ekstrak dan fraksi terpilih mikroalga hijau (*Chlorella vulgaris* B) melalui metode KLT Bioautografi tidak menghasilkan zona hambat. Golongan senyawa yang bersifat antijamur terhadap jamur *Malassezia furfur* belum dapat diidentifikasi melalui penyemprotan bercak spesifik AlCl_3 , FeCl_3 , dan Dragendroff.

F. Saran

Dalam menentukan aktivitas serta golongan senyawa yang memiliki sifat antijamur terhadap jamur *Malassezia furfur* dapat digunakan metode lain selain metode KLT Bioautografi Kontak, dan penyemprotan dengan penampak bercak dapat digunakan penampak bercak yang lebih spesifik atau menggunakan metode penentuan golongan senyawa berdasarkan spektrum dan panjang gelombang dengan menggunakan instrumen spektrofotometri UV-Vis.

Daftar Pustaka

- Angiolella, L., Leone, C., Rojas, F., Mussin, J., Sosa, M., Giusiano. (2018). Biofilm, Adherence, and Hydrophobicity as Virulence Factors in *Mallasezia furfur*. *International Journal Society For Human and Animal Mycology*. Vol. 56. Hal. 110-116.
- Crawford, F.; Hollis, S. (2007). *Topical treatments for fungal infections of the skin and nails of the foot*. Cochrane Database Syst. Departemen of Public Health And Infectious, University of Rome, Italy.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta
- Ghasemi, Y., Moradian, A., Abdol Ali, M., Sokhravi, S., Morowvat, M. (2007). Antifungal and Antibacterial Activity of the Microalgae Collected from Paddy Fields of Iran: Characterization of Antimicrobial Activity of *Chroococcus disperses*. *Journal of Biological Sciences* Vol. 7. Issue. 6. Hal. 904-910.
- Padhye, A. A., Summerbell, R. C. (2005). The Dermatophytes.

- Journal Topley & Wilson's Microbiology and Microbial Infections. Vol. 4.
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P. (2014). Morphology, Composition, Production, Processing and Applications of *Chlorella vulgaris*. *International Journal of Elsevier: Renewable and Sustainable Energy Reviews*. Vol. 35. Hal. 265-278.
- Solomon, EP dan Martin, DW. (1999). *Biology 5th Edition*. Saunders College Publishing.
- Tovar, L. (2010). Pathogenesis of Dermatophytosis and Tinea Versicolor. *International Journal of Elsevier: Clinics in Dermatology*.
- Tran, NH., Bartlett, JR., Kannangara, GSK., Milev, AS., Volk, H., Wilson, MA. (2010). Catalytic Upgrading of Biorefinery Oil from Micro-algae. *International Journal of Elsevier: Fuel*. Vol. 89. Issue. 2. Hal. 265-274.