

Antifungi Test of Red Spinning Extract (*Amaranthus tricolor* L.) on The Growth of *Candida albicans*

Uji Antifungi Ekstrak Bayam Merah (Amaranthus tricolor L.) terhadap Pertumbuhan Candida albicans

Wenny Rahmawati ^{1*}, Dwi Norma Retnaningrum ²

^{1,2}Prodi DIII Kebidanan STIKES Widyagama Husada, Malang, Indonesia

ARTICLE INFORMATION

Received: 8 December 2021

Revised: 12 April 2022

Accepted: 29 April 2022

KEYWORD

Candidiasis; *Candida albicans*; Red spinach

Kandidiasis; Candida albicans; Bayam merah

CORRESPONDING AUTHOR

Wenny Rahmawati

Malang, Jawa Timur

wenny@widyagamahusada.ac.id

No. Tlp : 081357015236

DOI

<https://doi.org/10.36456/embrio.v14i1.4636>

A B S T R A C T

Candidiasis is starting to increase globally in line with the increase in the immunocompromised population such as people with HIV (Human Immunodeficiency Virus), diabetes mellitus, antibiotic consumption, and pregnant women. The incidence of candidiasis in pregnant women increased by 40%. Candidiasis is caused by a *Candida* yeast infection such as *Candida albicans*. Red spinach (*Amaranthus tricolor* L.) is a plant that has antifungal effects because it contains alkaloids, tannins, saponins, and flavonoids. The research was conducted in a laboratory experimental manner using the disc diffusion method to determine the effectiveness of red spinach (*Amaranthus tricolor* L.) as an antifungal against *Candida albicans* in vitro. Analysis of the data used is Anova One Way and Pearson correlation. Based on the results of the study, the highest inhibition zone was at a concentration of 100%, namely 16.4 mm, this means that red spinach (*Amaranthus tricolor* L.) has strong antifungal power to inhibit the growth of *Candida albicans*. Researchers hope that these results can be a general reference material for further research to prevent candidiasis so as to improve maternal health rates.

Kandidiasis mulai meningkat secara global sejalan dengan meningkatnya populasi immunocompromised seperti penderita HIV (Human Immunodeficiency Virus), diabetes melitus, pengonsumsi antibiotik, maupun ibu hamil. Kejadian kandidiasis pada ibu hamil meningkat sebesar 40%. Kandidiasis diakibatkan oleh infeksi jamur Candida seperti Candida albicans. Bayam merah (Amaranthus tricolor L.) adalah tanaman yang mempunyai efek antifungi karena mengandung senyawa alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid. Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratorik dengan menggunakan metode disc diffusion untuk mengetahui efektivitas bayam merah (Amaranthus tricolor L.) sebagai antifungi terhadap Candida albicans secara in vitro. Analisa data yang digunakan yaitu Anova One Way serta korelasi Pearson. Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh zona hambat tertinggi pada konsentrasi 100% yaitu 16,4 mm, hal ini berarti bahwa bayam merah (Amaranthus tricolor L.) memiliki daya antifungi yang kuat terhadap menghambat pertumbuhan Candida albicans. Peneliti berharap hasil ini bisa menjadi bahan referensi umum bagi penelitian lanjutan untuk dapat mencegah kandidiasis sehingga dapat meningkatkan angka kesehatan ibu.

© 2022 The Author(s)

Pendahuluan

Kandidiasis merupakan infeksi yang dipicu oleh mikroorganisme jamur *Candida*. Jenis *Candida* yang seringkali menyebabkan infeksi yaitu *Candida albicans*. *Candida albicans* adalah mikroorganisme normal yang berada di beberapa organ tubuh namun mempunyai sifat oportunistik, jadi jika ada faktor

predisposisi akan menjadikannya sebagai patogen (Brooks, 2013; Siregar, 2012). Salah satu area tubuh yang banyak terdapat *Candida albicans* adalah vagina, hal ini disebabkan karena pada vagina banyak glikogen yang berfungsi untuk kelangsungan hidup jamur ini. Infeksi *Candida albicans* yang menyerang area vagina ini dikenal sebagai kandidiasis vulvovaginal (Hermilasari et al, 2012).

Secara global, 70% perempuan pernah terjangkit kandidiasis vulvovaginal. Di negara barat angka kejadian kandidiasis vulvovaginal mencapai 29-49% (Jeanmonod & Jeanmonod, 2021). Data epidemiologi kandidiasis vulvovaginal di Indonesia masih terbatas. Penelitian deskriptif retrospektif mengenai profil pasien kandidiasis vulvovaginalis dilakukan dengan melakukan evaluasi terhadap data sekunder dari catatan rekam medik periode Januari – Desember 2013 dengan 4.099 pasien yang datang ke Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado. Penelitian ini menemukan 29 kasus (0,70%) pasien didiagnosis kandidiasis vulvovaginalis (Tasik et al, 2016).

Kehamilan termasuk faktor predisposisi timbulnya kandidiasis vulvovaginalis pada perempuan (Tasik et al, 2016). *Candida albicans* yang terdapat di vagina meningkat sekitar 40% pada ibu hamil (Hermilasari et al, 2012). Kehamilan akan menjadikan sistem kekebalan tubuh menurun karena terjadi perubahan hormonal pada tubuh. Hormon estrogen dan progesteron pada kehamilan akan meningkat. Progesteron menekan aktivitas anti *Candida* di neutrophil. Estrogen berfungsi mengurangi kemampuan sel epitel vagina dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan mengurangi tingkat imunoglobulin dalam sekresi vagina. Meningkatnya estrogen juga menyebabkan glikogen meningkat sehingga mengakibatkan keputihan (Tasik et al, 2016). Kandidiasis vulvovaginalis pada kehamilan merupakan pemicu terjadinya *Premature Rupture Of Membrane* (PROM) dan kelahiran prematur (Venugopal et al., 2021).

Terapi antijamur digunakan untuk kandidiasis. Namun, penggunaan obat antijamur pada kasus kandidiasis berulang akan menyebabkan jamur menjadi resisten dan adanya efek samping (Setiabudy, 2013). Obat tradisional menjadi salah satu pilihan untuk mengobati kandidiasis. Obat tradisional tidak menyebabkan resistensi dan efek samping yang sedikit. Beberapa penelitian telah menyatakan bahwa bayam (*Amaranthus spp.*) adalah tanaman yang bisa menjadi alternatif obat antijamur (Beema Shafreen et al., 2019; De Vita et al., 2019; Pandit et al., 2019). Jenis-jenis bayam yang banyak dikonsumsi diantaranya yaitu bayam cabut (*Amaranthus viridis*), bayam duri (*Amaranthus spinosus*), dan bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) (Agustini et al., 2021).

Bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) adalah sayuran bergizi. Bayam merah dimanfaatkan untuk pengobatan anemia, perbaikan fungsi ginjal, kanker, mata, penyakit paru dan melancarkan pencernaan. Bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) mengandung alkaloid, flavonoid, saponin, quinon, tanin dan juga polifenol (Pradana et al., 2016). Aktivitas senyawa-senyawa tersebut bisa dimanfaatkan sebagai antifungi. Cara kerjanya yaitu mengganggu fungsi membran sitoplasma (Oliveira et al, 2016). Berdasarkan paparan-paparan tersebut penelitian ini dilakukan guna membuktikan bahwa ekstrak Bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Metode

Jenis Penelitian

Penelitian ini termasuk penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan *posttest only control design*.

Alat dan Bahan

Alat: gelas obyek, mikroskop, ose, bunsen, korek api, stiker label, spidol permanen, inkubator, colony counter, vortex, mikropipet, oven, lemari es (*freezer*), water bath, selang water pump, kertas saring, timbangan, corong gelas, gelas erlenmeyer, labu evaporator, labu penampung etanol, rolay evaporator, water pump, evaporator, jangka sorong, vacuum pump. Bahan: bayam merah, *sabaround Glucose-2% Agar (SDA)*, jamur *Candida albicans*, larutan NaCl 0,9%, *paperdisc*, etanol 90%.

Prosedur Kerja

1. Sterilisasi Alat

Kertas saring, labu Erlenmeyer, cawan petri, pinset, serta lidi kapas steril dimasukkan ke dalam sterilisator *dry heat* pada suhu 170°C dengan waktu 60 menit.

2. Pengolahan Ekstrak Bayam merah

Pengolahan ekstrak bayam merah dilangsungkan di Laboratorium Professor Nidom Foundation Surabaya. Bayam merah yang telah dicuci dengan air mengalir harus dikeringkan selama tujuh hari, pengeringan dilakukan dengan dianginkan. Setelahnya bayam merah ditumbuk agar menjadi serbuk dan diambil 100 gram. Kemudian dilakukan maserasi pada bayam merah yaitu bayam merah dicampur dengan pelarut etanol 96% 1liter. Campuran bahan ini didiamkan selama 5 hari dan diaduk setiap hari selama 15 menit sehingga homogen. Setelah 5 hari lalu disaring dengan corong bucher dan diuapkan 2 kali pada evaporator suhu 40°C, hal ini dilakukan untuk menghasilkan ekstrak bayam merah murni. Ekstrak bayam merah murni selanjutnya disimpan ke botol steril kaca tertutup lalu dimasukan ke dalam kulkas (Padmasari et al., 2013).

3. Persiapan SDA

Sabaroud Dextrose Agar 39gram diletakan ke gelas kimia kemudian dimasukan 1000 ml akuades. Setelahnya ditutup menggunakan aluminium foil lalu dimasukan ke dalam autoklaf dengan suhu 121°C dengan waktu sekitar 20 menit untuk proses sterilisasi, selanjutnya diletakan pada cawan petri.

4. Persiapan Suspensi *Candida albicans*

Jamur diambil dengan kapas lidi steril dimasukan ke tabung reaksi yang berisi 3 ml NaCl 0,9%, Larutan tabung reaksi diaduk hingga berubah keruh selaras dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 yang menandakan bahwa larutan sudah homogen (Sugiarti, 2019).

5. Peletakan *Candida albicans* Pada SDA

Candida albicans diletakan pada SDA dengan metode zigzag. Kemudian selama 24 jam disimpan dalam inkubator yang bersuhu 37°C dalam 24 jam (Saadah et al., 2017).

Metode Pengujian

Metode pengujian menggunakan difusi lempeng agar (*Kirby Bauer*). Lima cawan petri yang berisi *Sabaroud Dextrose Agar* dan tertanam *Candida albicans* disiapkan (Kuala, 2016). Sepuluh kertas saring dibentuk dengan *perforator*, lima kertas saring diberikan ekstrak bayam merah dengan konsentrasi 60%, 75%, 80%, 95% dan 100%. Lima lainnya diberi etanol 96% sebagai kontrol negatif, untuk kontrol positif menggunakan *paperdisc* yang diberi ketokonazol. Kertas saring lalu diletakkan pada SDA, lalu diinkubasi pada suhu 37°C dalam 24 jam.

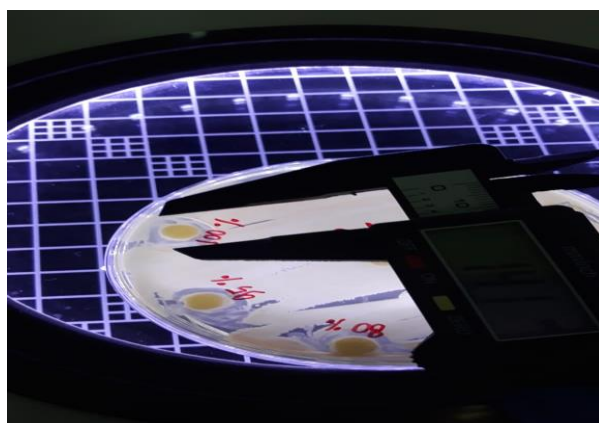
Data penelitian ini kemudian dianalisa dengan analisis statistik. Uji statistik *One-Way ANOVA* digunakan untuk menganalisis hipotesis dari penelitian ini kemudian dilanjutkan dengan uji statistik korelasi *Pearson*. Uji *One-Way ANOVA* dilakukan setelah uji normalitas data menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas dengan uji *Levence*.

Hasil dan Pembahasan

Setelah 24 jam cawan petri diinkubasi, kemudian dilihat zona hambat yang diukur menggunakan jangka sorong dengan satuan milimeter. Hasilnya tertera pada tabel berikut:

Tabel 1. Perbandingan Diameter Zona Hambat Ekstrak Bayam Merah

Sampel	Diameter Zona Hambat (mm)						
	Kontrol Positif (Ketokonazol)	Kontrol Negatif (Etanol 96%)	60%	75%	80%	95%	100%
I	28,7	0	6,3	7,9	14,7	16,1	17,6
II	28,5	0	5,8	7,5	12,3	13,2	16,5
III	27,9	0	5,9	8,1	12,8	14,0	16,1
IV	28,2	0	6,1	7,8	12,9	12,1	15,1
V	29,1	0	6,2	8,0	11,9	14,1	16,3
Rerata	28,5	0	6,1	7,9	12,9	13,9	16,4



Gambar 1. Pengukuran Zona Hambat Menggunakan Jangka Sorong

Tabel 1 menunjukkan bahwa zona hambat ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) berkisar pada 6,1-16,4 mm. Zona hambat paling sempit terlihat pada konsentrasi 60% dan zona hambat terluas pada konsentrasi 100%. Zona hambat yang terbentuk terlihat dari adanya zona bening dibandingkan dengan area disekitarnya. Zona bening mengindikasikan bahwa pertumbuhan jamur *Candida albicans* dapat dihambat oleh ekstrak bayam merah pada area tersebut. Merujuk kriteria

kekuatan daya antifungi dari Davis & Stout (1971), bahwa zona hambat 5-10 mm masuk kategori sedang, 10-20 mm kategori kuat dan ≥ 20 mm / $>$ termasuk kategori sangat kuat (Davis & Stout, 1971).

Mengacu pada hasil penelitian yang diperoleh, zona hambat pada konsentrasi 60% dan 75% yang berkisar pada 6,1-7,9 mm termasuk memiliki daya antifungi kategori sedang. Sedangkan konsentrasi 80%, 95% dan 100% berkisar pada 12,9-16,4 mm, hal ini berarti bahwa bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) memiliki daya antifungi yang kuat dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Zona hambat yang berada pada area yang diberikan ekstrak bayam merah dikarenakan kandungan senyawa-senyawa aktif di dalam bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) seperti alkaloid, tanin, saponin, dan flavonoid (Pradana et al., 2016). Mekanisme antifungi alkaloid dengan melakukan penghambatan pada sistem respirasi sel serta proliferasi pembentukan protein, yang berakibat kematian pada jamur (Antonius et al., 2017). Tanin bekerja dengan mencegah sintesis khitin pada sel jamur, khitin digunakan jamur untuk membentuk dinding sel sehingga apabila khitin tidak terbentuk pertumbuhan jamur juga akan terhambat (Kusumo et al., 2017). Saponin mempunyai efek mekanisme sebagai antifungi. Saponin akan terlibat dalam pembentukan kompleks bersama sterol pada membran plasma dan mengakibatkan hancurnya semipermeabilitas sel dan berakhir dengan kematian dari jamur (Blanco et al., 2018). Flavonoid bekerja dengan mengganggu proses penyerapan makanan yang masuk ke sel yang berakibat pertumbuhan jamur terhenti sampai kematian jamur (Febriani, 2014).

Analisa membuktikan data terdistribusi normal dengan nilai sig 0,467 melalui uji *Kolmogorov-Smirnov*. Uji *Levence* juga menunjukkan data homogen dengan nilai sig 0,182. Uji *One-Way ANOVA* didapatkan hasil $p=0,000$. Hasil ini menunjukkan bahwa paling tidak terdapat perbedaan jumlah koloni yang bermakna dari lima kelompok dosis. Hasil Uji korelasi *Pearson* didapatkan sig 0,000 dan nilai koefisien korelasi *pearson* (R) adalah -0,853, Hasil ini menyatakan derajat hubungan yang kuat antara variable, dikatakan kuat bila $R > 0.5$. sedangkan tanda negative (-) pada R menyatakan bahwa hubungan berbanding terbalik, yaitu peningkatan konsentrasi ekstrak etanol bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) akan mengakibatkan penurunan jumlah koloni dari *Candida albicans*.

Simpulan

Ekstrak bayam merah (*Amaranthus tricolor L.*) memiliki daya antifungi kuat dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 80%, 95% dan 100% dengan rerata diameter zona hambat sebesar 12,9-16,4 mm.

Daftar Pustaka

- Agustini, I., Rima, S., Evi, A., & Diterbitkan, Y. 2021. Buku Ajar Pasca Panen dan Pengolahan Sayuran Daun. Umsida Press, 0, 1–123. <https://doi.org/10.21070/2021/978-623-6292-21-1>.
- Antonius, K. D. O., Herlambang P., dan Amalia S. S. D. 2017. Daya Hambat Pertumbuhan *C. albicans* dan Daya Bunuh *C. albicans* Ekstrak Daun Kemangi (*Ocimum sanctum L.*). Jurnal Wiyata. 4 (1): 78-83.
- Beema Shafreen, R., Seema, S., Martinez-Ayala, A. L., Lozano-Grande, M. A., Robles-Sánchez, M., Szterk, A., Grishko, M., Hanuka, E., Katrich, E., & Gorinstein, S. 2019. Binding and potential antibiofilm activities of *Amaranthus* proteins against *Candida albicans*. Colloids and Surfaces B:

- Biointerfaces, 183, 110479. <https://doi.org/10.1016/J.COLSURFB.2019.110479>.
- Blanco, E., Sabetta, W., Danzi, D., Negro, D., Passeri, V., De Lisi, A., Paolocci, F., & Sonnante, G. 2018. Isolation and characterization of the flavonol regulator cmyb12 from the globe artichoke [*Cynara cardunculus* var. *Scolymus* (L.) fiori]. *Frontiers in Plant Science*, 9. <https://doi.org/10.3389/FPLS.2018.00941>.
- Brooks, G. F. C. K. C. B. J. S. N. A. W. 2013. Mikrobiologi Kedokteran (Jawetz, Melnick, & Adelberg's Medical Mikrobiologi)/ Geo F Brooks...[et al.]. http://lib.fkik.untad.ac.id/index.php?p=show_detail&id=2193.
- Davis, W.W., dan Stout, T.R., 1971. Disc Plate Method of Microbiological. Antibiotic Assay. *Applied Microbiology*, 22 (1): 659-665. Depkes RI., 2008.
- De Vita, D., Messore, A., Toniolo, C., Frezza, C., Scipione, L., Bertera, C. M., Micera, M., Di Sarno, V., Madia, V. N., Pindinello, I., Roscilli, P., Botto, A., Simonetti, G., Orekhova, A., Manfredini, S., Costi, R., & Di Santo, R. 2019. Towards a new application of amaranth seed oil as an agent against *Candida albicans*. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1696335>, 35(22), 4621–4626. <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1696335>.
- Febriani, T.H. 2014. Uji Daya Antifungi Jus Buah Pare (*Momordica charantia* L.) terhadap Daya Hambat Pertumbuhan *Candida albicans* secara In Vitro. Naskah Publikasi. Fakultas Kedokteran Gigi. Universitas Muhamadiyah.
- Hermilari RD, Winarsih S, R. A. 2012. Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* Linn) dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans* Isolat 218-SV secara In Vitro. *Majalah Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya*.
- Jeanmonod, R., & Jeanmonod, D. 2021. Vaginal Candidiasis. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK459317/>.
- Kuala, V. M.-J. kedokteran syiah, & 2016, undefined. (n.d.). Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. 202.4.186.66. Retrieved November 23, 2021, from <http://202.4.186.66/JKS/article/view/5013>.
- Kusumo, G. G., Fernanda, M. A. H. F., & Asroriyah, H. 2017. Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Kemuning (*Murraya paniculata* L. Jack) Dengan Berbagai Jenis Pelarut Pengekstraksi. *Journal of Pharmacy and Science*, 2(1), 29–32. <https://doi.org/10.53342/PHARMASCI.V2I1.63>.
- Oliveira, P. E. ; Cunha, A. G. ; Reyes, G. ; Gacitúa, W. ; Petit-Breuilh, X., 2016. *Chusquea quila*, a natural resource from Chile: its chemical, physical, and nanomechanical properties. *BioResources*, 11 (4): 10057-10069.
- Padmasari, P. D., Warditiani, K. W., Astuti, K. W., Warditiani, N. K., Fakultas, J. F., Dan, M., Pengetahuan, I., Universitas, A., Korespondensi, U., Desi, P., Jurusan, P., & Fakultas, F. (n.d.). Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% rimpang bangle (*Zingiber purpureum* Roxb.). *Ojs.Unud.Ac.Id*. Retrieved November 23, 2021, from <https://ojs.unud.ac.id/index.php/jfu/article/download/7395/5645>.
- Pandit, A. P., Khandagale, K. S., Nakhate, V. C., & Dharmadhikari, N. N. 2019. Antifungal topical gel of leaf extract of *amaranthus viridis* l. For treatment of cutaneous candidiasis. *Indian Drugs*, 56(12), 39–44. <https://doi.org/10.53879/ID.56.12.12044>.
- Pradana, D. A., Rahmah, F. S., & Setyaningrum, T. R. 2016. Potensi Antihiperlipidemia Ekstrak Etanolik Daun Bayam Merah (*Amaranthus tricolor* L.) Terstandar secara in Vivo Berdasarkan Parameter LDL (Low Density Lipoprotein). *Jurnal Sains Farmasi & Klinis*, 2(2), 122. <https://doi.org/10.29208/JSFK.2016.2.2.72>.
- Saadah, H., ... H. N.-B. J. of, & 2017, undefined. (n.d.). Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dengan metode spektrofotometri. *Jurnal.Stikesborneolestari.Ac.Id*. Retrieved November 23, 2021, from <http://jurnal.stikesborneolestari.ac.id/index.php/borneo/article/view/46>.
- Setiabudy R. 2013. Farmakologi dan terapi. Ed 5: Fakultas kedokteran universitas Indonesia.. h 18.
- Siregar, R. 2012. Penyakit Jamur Kulit. Edisi II. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

- Sugiarti, E. 2019. Perbedaan Jumlah Koloni Candida Albicans Pada Media Sabouraud Dextrose Agar (Sda) Yang Menggunakan Pelarut Akuades Dan Air Minum Dalam Kemasan. <http://eprints.ukmc.ac.id/3612/>.
- Tasik, N.L., G.M. Kapantow, dan R.T. Kandou. 2016. Profil kandidiasis vulvovaginalis di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado periode Januari – Desember 2013. *Jurnal e-Clinic (eCl)*. 4(1): 207-214.
- Venugopal, D., Husain, K., Mustafa, S. A., & Sabeen, S. 2021. Epidemiology, risk factors and antimicrobial profile of Vulvovaginal Candidiasis (VVC): A study among women in the central region of Saudi Arabia. *Journal of Medical Mycology*, 31(2), 101049. <https://doi.org/10.1016/J.MYCMED.2020.101049>.