

BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan pengaruh perasan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) sebagai antifungal terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung dalam dua tahap perbenihan, yaitu tahap pertama *Candida albicans* ditumbuhkan dalam media *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) yang dicampur dengan perasan bawang putih (*Allium sativum* Linn.) dan diinkubasi selama 18-24 jam untuk diamati kekeruhannya untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM). Tahap kedua adalah penggoresan (*streaking*) pada *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) kemudian diinkubasi selama 18-24 jam untuk dihitung jumlah koloni *Candida albicans* dengan menggunakan *colony counter* untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM), yang kemudian hasilnya dianalisis dengan uji statistik.

Bahan uji yang digunakan berasal dari tanaman tradisional yaitu bawang putih atau yang dikenal dengan nama lainnya adalah *Allium sativum* Linn. yang didapatkan dari Pasar Induk Gadhang Malang. Metode penyarian zat aktif bahan uji yang dipilih dalam penelitian ini adalah menggunakan perasan dikarenakan sebagian dari zat antimikroba yang terkandung dalam bawang putih (*Allium sativum* Linn.) yaitu *Allicin* mempunyai sifat tidak tahan terhadap pemanasan dan tidak stabil dalam pelarut organik. Sedangkan jika ekstrak menggunakan pelarut organik yaitu etanol. Berdasarkan penelitian lain untuk mendapatkan *allicin*, bawang putih harus dicincang halus atau diuleg. Semakin halus dan intensif pemotongan, semakin banyak *allicin* yang dihasilkan dan semakin kuat efek obatnya (Dewick, 2003). Pembuatan perasan bawang putih lebih selektif karena

dengan cara bawang putih dihaluskan maka sebagian besar komponen zat aktif yaitu *Allicin* akan banyak dihasilkan sehingga dapat membunuh pertumbuhan koloni jamur.

Tujuan dari identifikasi jamur adalah mengetahui karakteristik jamur berdasarkan morfologi koloninya. Identifikasi *Candida albicans* telah dilakukan dengan dua macam cara. Identifikasi dengan pewarnaan Gram dilakukan untuk membuktikan bahwa *Candida albicans* bersifat Gram positif yang ditunjukkan dengan adanya bentuk budding cell berwarna ungu. Uji identifikasi dengan *germinating tube* dilakukan untuk mengetahui bahwa *germ tube* pada *Candida albicans* tidak mengalami konstiksi pada titik asalnya (*budding*). Hal inilah yang merupakan bentuk khas dari *Candida albicans*. Pada penelitian ini, hasil identifikasi *Candida albicans* yang didapatkan sesuai dengan morfologi jamur *Candida albicans*.

Konsentrasi perasan bawang putih (*Allium sativum Linn.*) yang digunakan adalah 0,1%, 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5%. Konsentrasi ini didapat melalui hasil eksplorasi (penelitian pendahuluan) yang dilakukan sebelumnya. Berdasarkan hasil pengamatan pada tabung, dapat diperoleh perbedaan tingkat kekeruhan dan dapat langsung ditentukan KHM. Dari hasil pengamatan dapat diketahui bahwa semakin tinggi konsentrasi perasan bawang putih (*Allium sativum Linn.*), semakin kecil tingkat kekeruhan pada tabung dan dapat terlihat bahwa konsentrasi 0,3% merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* sehingga KHM penelitian ini adalah pada konsentrasi 0,3%. Tahap selanjutnya dilakukan penggoresan (*streaking*) pada media SDA untuk mengamati pertumbuhan koloni *Candida albicans* dan KBM didapatkan pada konsentrasi 0,5%. Hasil ini diduga dikarenakan semakin besar konsentrasi

perasan yang diberikan semakin besar pula konsentrasi bahan aktif yang berpengaruh terhadap pertumbuhan *Candida albicans* sehingga pertumbuhan *Candida albicans* menjadi semakin sedikit dan sampai tidak ada.

Hasil dari penghitungan jumlah koloni *Candida albicans* kemudian di analisis dengan menggunakan SPSS versi 17.0. Analisa statistik yang digunakan yaitu uji statistik *One-Way ANOVA* dan Uji Korelasi. Dengan uji *One-Way ANOVA* didapatkan hasil $p = 0,000$ ($p < 0,05$). Hal ini menunjukkan paling tidak terdapat perbedaan jumlah koloni *Candida albicans* yang signifikan pada dua kelompok konsentrasi perasan bawang putih (Dahlan, 2009).

Berdasarkan analisis pengujian berganda (*multiple comparison*) menggunakan Uji *Post hoc Tukey* dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan pada kelompok sampel konsentrasi 0,1%. Hal ini menunjukkan bahwa kelompok konsentrasi 0,1% memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan terhadap setiap kelompok konsentrasi lainnya. Sedangkan untuk kelompok konsentrasi 0,2%, 0,3%, 0,4%, 0,5% tidak menunjukkan perbedaan efek yang signifikan pada pertumbuhan jumlah koloni *Candida albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa antara konsentrasi 0,2%, 0,3%, 0,4% dan 0,5%, rata-rata jumlah koloni pada *Candida albicans* isolat 450-SV yang diulang empat kali yang tumbuh tidak berbeda signifikan.

Dari uji Korelasi *Pearson* didapatkan angka signifikansi 0,000 (p value $< 0,005$) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian perasan bawang putih dengan jumlah koloni jamur *Candida albicans*. Besar koefisien korelasi *Pearson* yaitu (R) -0,823. Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi perasan bawang putih maka semakin sedikit jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh, dan sebaliknya. Nilai

0,823 menunjukkan bahwa koefisien korelasinya sangat kuat (nilai lebih dari 0,5).

Bawang putih memiliki efek antifungal terhadap jamur *Candida albicans* diperkirakan oleh karena senyawa aktif dari bawang putih. Senyawa aktif yang terkandung dalam bawang putih adalah *allicin*, *ajoene*, *alkaloid*, *tannin*, *saponin*, *asam amino* serta berbagai macam vitamin.

Allicin (*diallyl thiosulfinate*) merupakan komponen aktif utama dari bawang putih yang bertanggung jawab atas aktivitas antimikroba dalam bawang putih. *Allicin* tidak ditemukan pada bawang putih, tetapi merupakan produk yang dihasilkan oleh kerja enzim *alliin alkyl-sulfenate-lyase* terhadap *alliin* (*asam amino nonprotein S-allylcysteine S-oxide*). Ketika bawang putih ini dihancurkan, pembatas antara kompartemen ini pecah dan *alliin lyase* mengatalisis eliminasi beta dari *alliin* menghasilkan piruvat, serta amonia dan asam alilsulfenat. Dua molekul ini secara spontan bereaksi membentuk *allicin*. Mekanisme kerja dari *allicin* adalah dengan menghambat sintesa protein dalam metabolisme sel, merusak membran sitoplasma dari sel mikrobayang berfungsi mengatur masuknya bahan – bahan atau nutrisi yang merupakan tempat ditemukan enzim – enzim. Aktivitas enzim gugus *sulfidril allicin* berikatan dengan gugus *sulfidril sistein* bakteri sebagai sisi aktif enzim. Jika ikatan itu terjadi, maka aktivitas enzim mikroba terhambat dan metabolisme terganggu, maka pembentukan sintesa protein, asam nukleat , menghambat sintesis RNA sengan cepat menyeluruh, sintesis DNA juga dihambat secara parsial. Hal ini menyebabkan pertumbuhan jamur akan terhambat (Sari, 2008) *Allicin* tidak ditemukan dalam bawang putih segar. Hal ini karena bawang putih segar terdiri dari 65 % air dan hanya berisi *alliin*, bukan *allicin*. Untuk mendapatkan *allicin*, bawang putih harus dicincang halus atau diuleg. Semakin halus dan intensif pemotongan, semakin banyak *allicin* yang dihasilkan

dan semakin kuat efek obatnya. *Allicin* akan rusak bila didiamkan dalam beberapa menit di suhu ruangan atau bila dimasak terlalu lama (Dewick, 2003).

Ajoene merupakan senyawa turunan dari *allicin*. *Ajone* bekerja pada dinding sel dengan cara menghilangkan komponen pada permukaan sel sehingga terjadi penipisan pada dinding sel yang menyebabkan hancurnya organel dalam sel yang mengakibatkan kematian sel mikroba (Dewick, 2003).

Alkaloid berperan menghambat pertumbuhan jamur atau membuat sel jamur menjadi lisis. *Tannin* merupakan senyawa "growth inhibitor" sehingga banyak mikroorganisme yang dapat dihambat pertumbuhannya oleh *tannin*. Enzim yang dikeluarkan oleh mikroba adalah protein dan protein akan mengendap oleh *tannin* sehingga enzim tersebut tidak akan aktif. *Tannin* diduga berperan sebagai antimikroba karena memiliki kemampuan membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan. Jika ikatan hidrogen antara *tannin* dengan protein enzim yang terdapat pada mikroba, kemungkinan protein akan terdenaturasi sehingga metabolisme mikroba menjadi terganggu (Winarno dan Aman, 1981; akkar, 1991; Safera, 2005; Feldberg et al 1998).

Efek bakteriosidal dialil disulfida dengan cara menghambat aktivitas enzim alkohol dehidrogenase, enzim alkohol dehidrogenase berperan dalam proses oksidasi untuk membantu mikroba tetap hidup dan berkembang biak di dalam sel. Selain itu vitamin C yang terdapat dalam bawang putih juga berperan sebagai antioksidan yang mencegah terbentuknya radikal bebas, partikel yang dapat merusak membran sel (Syamsiah dan Tajudin, 2005).

Saponin telah lama dikenal dapat melisis membran sel. Aktivitas ini dipercaya merupakan akibat dari afinitas *moiety aglycone* terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air

(Bangdham et al., 1962). *Saponin* juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatis membran sel dan transport ion yang melewati membran sel (Ma dan Xiao, 1998). Ketika berikatan dengan kolesterol, *saponin* mengubah lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter dan reseptor. Oleh karena itu, *saponin* juga diduga menghambat respon fotokimiawi sekunder pada sel mikroba (Rao dan Sung, 1995).

Potensi perasan bawang putih sebagai antifungal juga didukung oleh beberapa penelitian. Penelitian yang dilakukan oleh Masniari (2003) menyebutkan bahwa perasan bawang putih mempunyai efektivitas sebagai antibakteri terhadap *Salmonella* sp dengan nilai KHM 3,125% serta memiliki daya antibakteri terhadap *Escherichia coli* dengan nilai KHM 3,125% pada konsentrasi 50%.

Penelitian lain yang dilakukan oleh Prima dan Habib (2007) menggunakan bahan uji bawang putih terhadap *Candida albicans* namun dalam sediaan ekstrak menghasilkan nilai KHM sebesar 75.000 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai KBM sebesar 125.000 $\mu\text{g/mL}$.

Dengan melihat fakta hasil penelitian yakni adanya penurunan jumlah koloni jamur *Candida albicans* seiring dengan peningkatan konsentrasi perasan bawang putih, kemudian diperkuat dengan hasil analisis statistik dan data mengenai penelitian tentang efektivitas bawang putih dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*, maka dapat dikatakan bahwa perasan bawang putih memiliki efek antifungal terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun sebelumnya adalah benar.

Hasil penelitian secara *in vitro* merupakan langkah awal dari penggunaan atau penerapan perasan bawang putih dalam menghambat pertumbuhan *Candida*

albicans. Selanjutnya diharapkan adanya penelitian lebih lanjut dengan uji *in vivo* sebagai uji praklinik sebelum nantinya diuji cobakan secara klinik pada manusia.

Keterbatasan dari penelitian ini adalah isolat *Candida albicans* yang digunakan hanya satu isolat. Hal tersebut dikarenakan terbatasnya isolat yang berasal dari penderita kandidiasis vaginalis. Sebelumnya, peneliti juga sudah mengupayakan mencari isolat dari penderita kandidiasis vaginalis di laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Saiful Anwar Malang tetapi isolat tersebut jarang sekali ditemukan dan kebanyakan isolat yang ada berasal dari penderita kandidiasis oral. Pada penelitian ini apabila diperlukan adanya penelitian lanjutan untuk membuktikan bahwa kandungan perasan bawang putih sebagai antifungi maka perlu dilakukan uji skrining fitokimia terhadap kandungan zat aktif yang terdapat didalamnya.

Aplikasi klinis yang mungkin dari penelitian ini adalah penggunaan perasan bawang putih secara oral untuk pengobatan infeksi *Candida albicans*. Namun masih memerlukan penelitian lebih lanjut yaitu melalui pengujian pada hewan coba maupun pengujian pada manusia (uji klinik). Sebelum calon obat baru dicobakan pada manusia, dibutuhkan waktu untuk meneliti sifat farmakodinamik. Farmakokinetik dan efek toksiknya pada hewan coba. Dalam studi farmakokinetik ini tercakup pengembangan teknik analisis untuk mengukur kadar senyawa tersebut dan metabolitnya dalam cairan biologis. Semuanya diperlukan untuk memperkirakan dosis efektif dan memperkecil resiko penelitian pada manusia. Studi toksikologi pada hewan umumnya dilakukan 3 tahap yaitu penelitian toksisitas akut bertujuan mencari besarnya dosis tunggal yang membunuh 50% sekelompok hewan coba (LD50), penelitian toksisitas jangka panjang bertujuan meneliti efek toksik pada hewan coba setelah pemberian obat dalam jangka

panjang, penelitian toksisitas khusus meliputi penelitian terhadap sistem reproduksi termasuk teratogenitas, uji karsinogenitas dan mutagenisitas erta uji ketergantungan. Sedangkan pengujian pada manusia (uji klinik) terdiri dari uji fase I sampai IV (Setiawati, 2007). Pada dasarnya uji klinik tersebut bertujuan untuk memastikan efikasi, keamanan dan gambaran efek samping yang sering timbul pada manusia akibat pemberian suatu obat (Setiawati, 2007), dalam hal ini adalah obat yang berasal dari bawang putih.

