

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida Albicans*

Candida telah muncul sebagai salah satu infeksi nosokomial yang paling penting di seluruh dunia dengan angka morbiditas, mortalitas dan angka pembiayaan kesehatan yang bermakna. Spesies *Candida* adalah jamur patogen yang paling sering (Annaissie, 2007). *Candida* merupakan flora normal dan banyak tersebar di dalam tubuh terutama di membran mukosa saluran pencernaan (24%) dan mukosa vagina (5-11%). Di tempat ini jamur menjadi dominan dan menyebabkan keadaan-keadaan patologik ketika daya tahan tubuh menurun baik secara lokal maupun sistemik Annaissie, 2007).

Candida yang dapat menyebabkan infeksi seperti *C.tropicalis*, *C.glabata* dan terutama *C.albicans*. Penyakit yang disebabkan jamur ini dikenal sebagai Kandidiasis dan sering terjadi di daerah orofaring dan vagina (Brooks *et al.*, 2004; Kayser *et al.*,2005). Infeksi *Candida albicans* bersifat oportunistik, yang artinya *Candida albicans* yang merupakan flora normal vagina ini akan menjadi patogen dalam keadaan tertentu, seperti seseorang dengan *immunocompromise* atau pada lingkungan yang memiliki pH rendah, higienitas rendah, serta lingkungan vagina yang lembab (Annaissie, 2007).

Faktor resiko selain faktor higienitas yang dapat mengakibatkan timbulnya kandidiasis vaginalis, di antaranya wanita yang menderita diabetes mellitus (DM), penyakit tiroid, defisiensi Fe, penggunaan kontrasepsi oral, terapi antibiotik, dan defisiensi imun (Brooker, 2008).

2.1.1 Klasifikasi Ilmiah

Candida albicans diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : Fungi

Filum : Ascomycota

Subfilum : Ascomycotina

Kelas : Ascomycetes

Ordo : Saccharomycetales

Famili : Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans* (Kurtzman *et al.*, 2010)

2.1.2 Gambaran Umum

Candida albicans adalah jamur diploid dan agen oportunistik yang mampu menyebabkan infeksi pada daerah oral dan genital pada manusia.

Candida albicans adalah sebagian dari mikroorganisme flora normal rongga mulut, mukosa membran, dan saluran gastrointestinal. *Candida albicans* mengkolonisasi di permukaan mukosa pada waktu atau sesudah kelahiran manusia dan resiko untuk terjadinya infeksi selalu ada (Geo F *et al.*, 2004).

Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi *blastospora* dan menghasilkan *germ tube* yang akan membentuk *pseudohifa*. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya yaitu suhu, pH dan sumber energi (Geo F *et al.*, 2004).

Candida albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk *pseudohifa* yang terbentuk dengan banyak kelompok *blastospora* berbentuk bulat atau lonjong disekitar septum. Pada beberapa strain *blastospora* berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi *klamidospora* yang ber dinding tebal dan berdiameter sekitar 8 -12 μ (Tjampakasari, 2006).

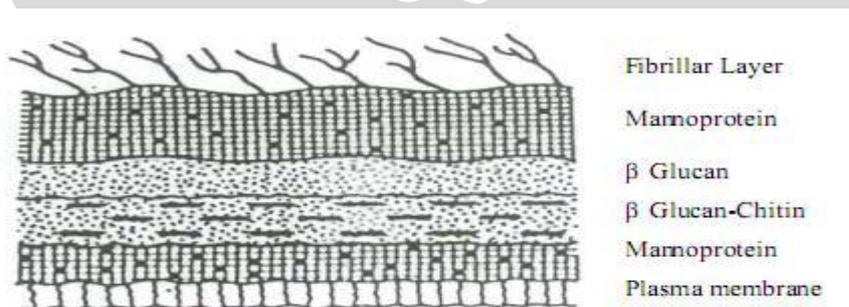
Candida albicans dapat tumbuh pada beberapa variasi pH tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat tumbuh pada suhu 28°C - 37°C. *Candida albicans* membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhan dan proses metabolismenya. Unsur karbon ini dapat diperoleh dari karbohidrat (Tjampakasari, 2006).

Jamur ini merupakan organisme fakultatif anaerob yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Sedangkan suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat, etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, karbohidrat dipakai oleh *Candida albicans* sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Tjampakasari, 2006).

2.1.3 Struktur Fisik *C.albicans*

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan sebagai target dari beberapa antimikotik. Dinding sel berperan dalam proses perlekatan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utama dinding sel tersebut memberi bentuk pada sel dan melindungi sel *yeast* dari lingkungannya. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm (Tjampakasari, 2006).

Komposisi primer terdiri dari *glukan*, *manan* dan *khitin*. *Manan* dan protein berjumlah sekitar 15,2-30 % dari berat kering dinding sel, β -1,3-D-glukan dan β -1,6-D-glukan sekitar 47-60 %, *khitin* sekitar 0,6-9 %, protein 6-25 % dan lipid 1-7 %. Dalam bentuk *yeast*, kecambah dan *miselium*, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa tetapi bentuk *miselium* memiliki *khitin* tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan sel *yeast*. Dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda yaitu *fibrillar layer*, *mamoprotein*, β *glucan*, β *glucan-chitin* dan membran plasma (Tjampakasari, 2006). Segal dan Bavin memperlihatkan bahwa dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda pada Gambar 2.1 (Tjampakasari, 2006).



Gambar 2.1 Dinding sel *Candida albicans* (Tjampakasari, 2006)

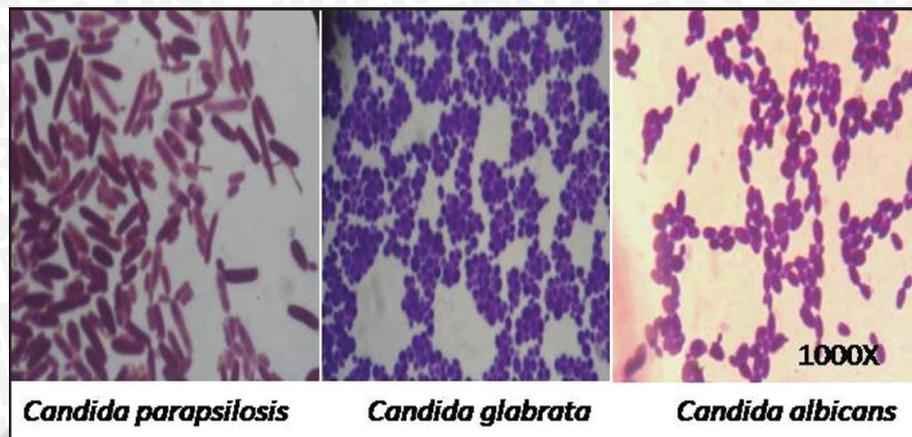
Sel *Candida albicans* seperti sel eukariotik lainnya terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktifitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukon sintase, ATPase dan protein yang mentransport fosfat. Terdapatnya membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antimikotik dan kemungkinan merupakan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Tjampakasari, 2006).

Candida albicans yang dikultur pada media *Sabouraud Dekstrosa Agar* (SDA) pada temperatur 37°C setelah 48 jam akan memperlihatkan koloni berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, licin, berwarna krem, halus, berbentuk pasta, mempunyai bau jamur, dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat pada koloni yang sudah tua (Geo F et al., 2004).



Gambar 2.2 Kultur *Candida albicans* pada media SDA (Babic and Mirsada, 2010)

Pada pemeriksaan mikroskopis dengan pewarnaan Gram, *Candida albicans* menunjukkan Gram-positif dan ditemukan *Candida albicans* dalam bentuk *yeast*, berbentuk oval dengan diameter lebih kurang 5 μm serta membentuk *budding* (Kayser et al., 2005).



Gambar 2.3 Identifikasi *Candida albicans* pada Pewarnaan Gram Dibedakan dengan Spesies lainnya (Kumari et.al, 2013)

2.1.4 Patogenesis

Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel pejamu menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi. Secara umum diketahui bahwa interaksi antara mikroorganisme dan sel pejamu diperantari komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Manan dan manoprotein merupakan molekul-molekul *Candida albicans* yang mempunyai aktifitas adhesif. Khitin, komponen kecil yang terdapat pada dinding sel *Candida albicans* juga berperan dalam aktifitas adhesif. Setelah terjadi proses perlekatan, *Candida albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Enzim yang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Proses penetrasi yang terjadi tergantung dari keadaan imun dari pejamu (Tjampakasari, 2006).

Pada umumnya *Candida albicans* berada dalam tubuh manusia sebagai saprofit dan infeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi pada tubuh pejamu (Tjampakasari, 2006).

2.2 Kandidiasis

2.2.1 Definisi

Candida yang dapat menyebabkan infeksi seperti *C.tropicalis*, *C.glabata* dan terutama *C.albicans*. Penyakit yang disebabkan jamur ini dikenal sebagai kandidiasis dan sering terjadi di daerah orofaring dan vagina (Brooks *et al.*, 2004; Kayser *et al.*,2005).

2.2.2 Epidemiologi

Epidemiologi infeksi *Candida* invasif, baik di dunia atau yang lebih penting ,di tingkat lokal, memiliki implikasi signifikan untuk pemilihan strategi manajemen yang tepat . Selama dua dekade terakhir , lembaga kesehatan telah melaporkan pergeseran progresif dalam spesies *Candida* . Di masa lalu , hampir semua isolat yang bertanggung jawab untuk infeksi aliran darah adalah *C. albicans* , sedangkan dalam beberapa tahun terakhir proporsi candidemia telah disebabkan oleh spesies selain *Candida albicans* (Hachem *et al.*,2008) Meskipun *C. albicans* tetap dominan menyebabkan kandidiasis di banyak negara (Kett *et al.*,2011; Leroy *et al.*,2009)

Kandidiasis vulvovaginalis (KVV) adalah infeksi yang mempengaruhi jutaan wanita di seluruh dunia setiap tahun, terutama mempengaruhi vulva dan vagina, dan disebabkan oleh jamur yang biasanya menghuni mukosa vagina (Mikulska *et al.*, 2012). Kandidiasis vulvovaginalis dianggap sebagai masalah kesehatan yang penting masalah di seluruh dunia (Mikulska *et al.*, 2012), dan insiden telah meningkat dalam beberapa tahun terakhir (Bouza and Munoz, 2008). Hal ini saat ini penyebab pertama vulvovaginitis di Eropa dan merupakan

penyebab terbesar kedua di Amerika Serikat dan Brazil, di mana ia hanya dilampaui oleh vaginosis bakteri (Mikulska *et al.*, 2012). Sekitar 75% wanita dewasa memiliki setidaknya 1 episode KVV dalam hidup mereka, dan dari jumlah ini, 40% sampai 50% akan mengalami wabah baru yang 5% menjadi 8% akan mencapai status berulang, dengan 4 atau lebih episode dalam satu tahun (Mikulska *et al.*, 2012).

2.2.3 Faktor Risiko

Faktor-faktor yang dihubungkan dengan meningkatnya kasus kandidiasis antara lain disebabkan oleh (Tjampakasari, 2006) :

1. Kondisi tubuh yang lemah atau keadaan umum yang buruk, misalnya: bayi baru lahir, penderita penyakit menahun, orang-orang dengan gizi rendah.
2. Penyakit tertentu, misalnya: diabetes mellitus
3. Kehamilan
4. Permukaan kulit yang lembab karena terpapar oleh air, keringat, urin atau saliva.
5. Penggunaan obat di antaranya: antibiotik, kortikosteroid dan sitostatik.

Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *Candida albicans* serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. Blastospora berkembang menjadi *pseudohifa* dan tekanan dari *pseudohifa* tersebut merusak jaringan, sehingga invasi ke dalam jaringan dapat terjadi. Virulensi ditentukan oleh kemampuan jamur tersebut merusak jaringan serta invasi ke dalam jaringan. Enzim-enzim yang berperan sebagai faktor virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase dan fosfolipase (Tjampakasari, 2006).

2.2.4 Gambaran Klinik

2.2.4.1 Kandidiasis Selaput Lendir

Bentuk kandidiasis selaput lendir antara lain :

a. Oral (*Trush*)

Biasanya mengenai bayi, terjadi pada selaput mukosa pipi bagian dalam, lidah, palatum mole dan permukaan rongga mulut yang lain dan tampak sebagai bercak-bercak (pseudomembran) putih coklat muda kelabu yang sebagian besar teridri atas pseudomiselium dan epitel yang terkelupas, dan hanya terdapat erosi minimal pada selaput. Lesi dapat terpisah-pisah dan tampak seperti kepala susu pada rongga mulut. Bila pseudomembran terlepas dari dasarnya tampak daerah yang basah dan merah. Pada glositis kronik lidah tampak halus dengan papila yang atrofik atau lesi berwarna putih di tepi atau di bawah permukaan lidah. Bercak putih tidak tampak jelas bila penderita sering merokok (Tortora *et al.*,2004).

b. Genetalia Wanita (*Vulvovaginitis*)

Vulvovaginitis menyerupai sariawan tetapi menimbulkan iritasi, gatal yang hebat, dan pengeluaran sekret (Brooks *et al.*,2004). Pada kondisi yang berat dapat pula terasa panas, nyeri sesudah berhubungan (*dispareunia*). Pada pemeriksaan ringan tampak hiperemia di daerah labia minora, introitus vagina, dan vagina terutama 1/3 bagian bawah. Sering pula terdapat kelainan yang khas yaitu bercak-bercak putih kekuningan (Brooks *et al.*,2004)

Pada kelainan yang berat juga terdapat edema pada labia minora dan ulkus-ulkus yang dangkal pada labia minora dan sekitar introitus vagina. *Fluor albus* pada kandidiasis vagina berwarna kekuningan. Tanda yang khas ialah disertai gumpalan-gumpalan sebagai kepala susu berwarna putih kekuningan. Gumpalan tersebut berasal dari massa yang terlepas dari dinding vulva atau vagina terdiri atas bahan nekrotik, sel-sel epitel dan jamur (Brooks *et al.*,2004).

2.2.4.2 Kandidiasis Kutis

Kandidiasis kulit yang terdapat pada lapisan terluar kulit, merupakan bentuk yang paling sering dari infeksi *Candida*. Pada kebanyakan kasus tidak bersifat invasif atau mengancam nyawa (Annaissie, 2007). *Candida* dapat menjadi sumber infeksi di kuku, kulit, di sekitar vulva dan bagian lain (Tjampaksari, 2006)

2.2.4.3 Kandidiasis Mukokutan Menahun

Penyakit ini timbul karena adanya kekurangan fungsi leukosit atau sistem hormonal, biasanya terdapat pada penderita dengan bermacam-macam defisiensi yang bersifat genetik, umumnya terdapat pada anak-anak. Gambaran klinisnya mirip dengan defek poliendokrin (Brooks *et al.*,2004).

2.2.4.4 Kandidiasis Sistemik/Invasif

Kandidiasis invasif adalah infeksi yang bersifat sistemik atau invasif di luar lapisan-lapisan kulit dan secara klinis muncul sebagai spektrum penyakit hanya pada individu dengan sistem kekebalan tubuh yang rusak. Kandidiasis invasif ini terbagi atas *hematogenous candidiasis* (melibatkan aliran darah) dan *deep organ candidiasis* (infeksi pada spesifik organ). Istilah *candididemia*

merujuk kepada spektrum klinis yang dimulai dari isolasi spesies *Candida* dari aliran darah sampai dengan kandidiasis invasif yang melibatkan satu atau lebih organ (Annaissie, 2007).

Kandidiasis hematogen terjadi melibatkan beberapa faktor. Pertama adalah kolonisasi, diikuti perubahan dari usus dan translokasi dari organisme melintasi barrier usus, dan akhirnya terjadi *candidemia*. Keadaan immunosupresi dengan netropenia memudahkan penyebaran jamur. Kesukaran dalam membuat batasan yang jelas diantara bentuk-bentuk *disseminated Candida* yaitu sangat sulit untuk menentukan apakah pada kultur darah yang positif terdapat *Candida* terbatas hanya di darah atau telah menyebar ke organ-organ kecuali pada kasus yang jarang atau bila dilakukan otopsi (Annaissie, 2007).

2.2.4.5 Kandidiasis Pada Kehamilan

Kandidiasis vulvovaginalis merupakan penyebab umum vaginitis selama kehamilan. Dari beberapa literatur menyatakan bahwa sekitar 40% wanita hamil mengalami infeksi *Candida albicans* pada saluran genitalisnya (Arulkumaran, 2011). Selama kehamilan insiden kandidiasis vulvovaginitis meningkat dua kali lipat pada trimester ketiga. Bayi yang dilahirkan dari ibu yang mengalami kandidiasis vulvovaginitis selama kehamilan akan terkena infeksi *Candida albicans* sekitar 70-80% (Aslam *et al.*, 2008). Gejala kandidiasis pada kehamilan dapat berupa rasa gatal di daerah vulva dan vagina, *fluor albus* seperti susu berwarna putih kekuningan. Pada kondisi yang berat dapat menimbulkan rasa panas, nyeri setelah miksi, dan dispareunia (Bioemraad, 2007)

Kolonisasi *Candida albicans* sangat mudah terbentuk terutama pada kehamilan. Selama kehamilan, hormon estrogen dan progesteron akan

meningkat sehingga kedua hormon tersebut berperan penting untuk menimbulkan kandidiasis. Hormon progesteron tersebut memiliki peran untuk mengganggu aktivitas kerja neutrophil sebagai anti *Candida*. Sementara hormon estrogen berperan untuk mengurangi kemampuan sel epitel vagina yang dapat mengganggu metabolisme glikogen dan menurunkan imunoglobulin dalam cairan vagina sehingga meningkatkan kerentanan wanita hamil untuk terjadi kandidiasis pada vagina (Aslam *et al.*, 2008)

Selama kehamilan infeksi *Candida albicans* pada vagina akan dapat masuk ke dalam intrauterine sehingga dapat menimbulkan korioamniotitis dan infeksi maternal (Hermitasari, 2013). Selain itu, bayinya akan mengalami infeksi *Candida albicans* melalui jalan lahir selama proses persalinan sehingga akan menimbulkan kandidiasis oral dan proses menyusui akan terganggu (Glenville, 2009). Pada masa postpartum dapat menimbulkan infeksi puerperium yaitu endometritis dan sepsis (Hermitasari, 2013)

2.2.5 Diagnosis

Spesimen meliputi *swab* dan kerokan dari lesi permukaan, darah, cairan spinal, biopsi jaringan, urin, eksudat dan material dari selang infus yang dilepas (Jawetz *et al.*, 2008)

2.2.6 Pemeriksaan Laboratorium

2.2.7.1 Cara Pemeriksaan

a. Pemeriksaan Langsung / Mikroskopis (*Direct Microscopic Assessment*)

Sediaan apusan diwarnai dengan *wet mounts*, gram, Giemsa, *Periodic Acid Shift* (PAS) untuk mencari elemen-elemen jamur yaitu *pseudohifa* dan sel-

sel bertunas (*budding yeast cell*) yang karakteristik untuk *Candida*. Konsentrasi yang dibutuhkan untuk mendeteksi *Candida* pada sediaan apus darah adalah $1,5 \times 10^7$ colony-forming units (CFU/ml), batasan ini dapat diturunkan sampai adalah $1,5 \times 10^5$ CFU/ml jika mikroskop dikhususkan untuk mencari jamur. Kerokan kulit atau kuku diletakkan pada tetesan kalium hidroksida 10%, dengan cara pemeriksaan ini dapat membantu penegakkan diagnosa lebih cepat (Brooks *et al.*,2004).

b. Pemeriksaan Biakan / Kultur

Semua bahan termasuk kultur darah, kultur spesimen biopsi, aspirasi, kultur dari permukaan yang terlibat, urin, luka operasi, drainase luka, cairan peritoneum, sputum, spesimen *bronchoalveolar lavage* (BAL) atau cairan serebrospinal. Isolasi *Candida* dari kulit, urin, luka, sputum, atau spesimen feses tidak bersifat diagnostik, tetapi pertumbuhan spesies *Candida* dari spesimen steril (darah, cairan serebrospinal) hampir selalu bersifat diagnostik (Annaissie, 2007; Brooks *et al.*,2004).

Semua bahan dibiakkan pada agar *Saboraud* pada suhu kamar dan pada suhu 37°C , koloni-koloni khas diperiksa untuk adanya sel-sel dan pseudomiselium yang bertunas. Pembentukan kladidokonidia *Candida albicans* pada agar tepung jagung atau pembenihan lain yang menyuburkan konidia merupakan tes diferensiasi yang penting (Jawetz E *et al.*,2008).

c. Tes Serologi

Pada kandidiasis sistemik, peningkatan titer antibodi terhadap *Candida* dapat ditemukan melalui macam-macam tes, misalnya aglutinasi, prespitasi gel, *immunoassay enzim* , immunoelektroforesis. Deteksi antigen spesifik *Candida*

pada serum (*free mannan*) memungkinkan dengan menggunakan reaksi aglutinasi dengan partikel lateks yang terikat dengan antibodi monoklonal (Brooks *et al.*,2004; Kayser *et al.*,2005)

Tes serologi terbaru yaitu dengan (1,3)-*beta-D glucan*, yang mana *beta-D glucan* adalah komponen yang penting dari dinding sel *Candida* dan dapat dideteksi serta dikuantifikasi pada aliran darah pasien dengan *Candidiasis hematogen* (Annaissie, 2007).

d. Histopatologi

Keuntungan utama dari pemeriksaan ini adalah cepat, biaya rendah, identifikasi presumtif dari jamur yang spesifik dan demonstrasi dari reaksi jaringan. Tetapi kalau tidak menggunakan tehnik spesial, misal *immunofluoresen* atau organismenya memiliki struktur yang unik, sulit untuk melakukan diagnosis histopatologi. Pewarna histologi yang digunakan untuk visualisasi jamur termasuk Gomori methenamine silver (GMS) dan PAS, GMS lebih disukai karena dapat mewarnai elemen jamur lebih efisien dari yang lainnya. Hematoxylin dan eosin (H&E) sangat berguna untuk visualisasi respon tubuh inang tetapi tidak dapat mewarnai semua jamur. Sehingga GMS dan H&E biasanya digunakan bersamaan untuk melihat komponen jamur dan reaksi jaringan (Annaissie, 2007).

e. Tes Kulit

Tes *Candida* pada orang dewasa normal hampir selalu positif. Oleh karena itu tes tersebut digunakan sebagai indikator kompetensi imunitas seluler (Jawetz E *et al.*,2008).

2.2.7 Terapi Kandidiasis

2.2.7.1 Pengobatan Yang Telah Ada Saat Ini

Pengobatan yang bertujuan untuk menghindari atau menghilangkan faktor predisposisi dengan mengobati lesi-lesi lokal dengan menghilangkan penyebabnya, yaitu menghindari basah, mempertahankan daerah-daerah tersebut tetap sejuk, berbedak, dan kering serta penghentian pemakaian antibiotika (Brooks *et al.*, 2004).

Saat ini banyak tersedia obat antijamur untuk pemakaian oral maupun topikal sebagai terapi kandidiasis vaginalis. Pengobatan kandidiasis umumnya menggunakan antijamur yang menghambat ergosterol seperti ketoconazole, namun penggunaan antijamur ini dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti iritasi dan gatal (Indriana, 2006)

Ketokonazol telah menjadi obat oral aktif pertama untuk antijamur, dosis untuk kandidiasis vaginalis adalah 200 mg dua kali sehari selama 5 hari. Merupakan inhibitor poten dari sitokrom enzim-enzim P450, terutama CYP3A4, yang memediasi metabolisme banyak obat dan sintesis dan / atau metabolisme steroid endogeneous seperti kortisol, estradiol dan testosteron. Hal ini juga dapat meningkatkan level enzim hati selama terapi dan hepatotoksisitas telah diperkirakan terjadi pada 0,1-1,0% dari pasien yang diobati, namun penggunaan antijamur ini dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti iritasi dan gatal (Indriana, 2006).

Fluconazole digunakan untuk mengobati infeksi jamur pada vagina, mulut dan kerongkongan yang disebabkan oleh *Candida*. Hal ini juga mungkin efektif

dalam mengobati infeksi saluran, peritonitis pneumonia dan infeksi yang disebabkan oleh *Candida*. Fluconazole juga digunakan untuk mengobati kriptokokal meningitis dan pencegahan infeksi *Candida* pada pasien dalam pengobatan kemoterapi atau radiasi setelah transplatasi sumsum tulang (Ogbru, 2009).

Flukonazol dianggap mahal, oleh karena itu Susilo *et al.*,(2011) melakukan penelitian dengan membandingkan dosis rendah fluconazole dalam kombinasi dengan dosis rendah ketoconazole diuji terhadap *Candida albicans* dalam upaya untuk mengganti dosis tinggi tunggal dari fluconazole dengan dosis tunggal kombinasi, sebagai terapi kandidiasis vaginalis dengan biaya lebih rendah. Dari penelitian ini ditarik kesimpulan bahwa dosis efikasi dan keamanan ketokonazol 100 mg dan fluconazole 40mg. Kombinasi itu tidak kalah dibandingkan dengan fluconazole 150 mg dalam dosis tunggal untuk pengobatan kandidiasis vaginalis. Sementara itu, keampuhan dari fluconazole 150 mg dosis tunggal dalam penelitian ini agak lebih rendah dibandingkan dengan kinerjanya dalam penelitian sebelumnya.

2.2.8.2 Pencegahan

Tindakan pencegahan paling penting adalah menghindari gangguan keseimbangan pada flora normal dan gangguan daya tahan tubuh. Infeksi *Candida* tidak menular, karena sebagian individu dalam keadaan normal sudah mengandung organisme tersebut (Brooks *et al.*, 2004).

Profilaksis efektif pada pasien dengan risiko tinggi. Walaupun flukonazol mengurangi insiden *Candidiasis* invasif, dampak positif pada angka kematian

tidak terlihat kecuali pada individu *immunocompromises* misal pasien netropenia, transplantasi organ (Annaissie, 2007).

2.3 Sirih Hijau

Sirih hijau (*Piper betle* L) merupakan salah satu dari tanaman obat yang dipercaya menyembuhkan berbagai macam penyakit. Secara tradisional tanaman sirih hijau dipakai untuk mengatasi bau badan dan mulut, sariawan, mimisan, gatal-gatal dan koreng serta mengobati keputihan pada wanita. Daunnya digunakan untuk mengobati mata merah, membuat suara nyaring, juga mengobati disfungsi ereksi. Tanaman yang sejak tahun 600 SM ini mengandung zat antiseptik yang mampu membunuh kuman. Kandungan fenol dalam sifat antiseptiknya lima kali lebih efektif dibandingkan dengan fenol biasa (Triarsari, 2009).

2.3.1 Taksonomi Tanaman

- Kingdom : *Plantae*
- *Phylum* : *Tracheophyta*
- Class : *Magnoliopsida*
- Order : *Piperales*
- Family : *Piperaceae*
- Genus : *Piper*
- Spesies : *betle*
- Nama botani : *Piper betle* L (USDA, ARS, National Genetic Resources Program, 2008)
- Nama Umum/dagang : Sirih
- Nama daerah (Redaksi Betterbook, 2009) :

- Sumatera : Ranub (Aceh), Sereh (Gayo), Belo (Batak), Burangir (Mandailing, Cabai (Mentawai), Siho (Kerinci), Sirih (Palembang) Sิริesti (Minangkabau), Cambai (Lampung), Furuk Jwe (Enggano)
- Jawa : Seureuh (Sunda), Suruh (Jawa tengah)
- Bali : Base
- Sulawesi : Leko (Sasak), Nahi (Bima), Kowak (Sumba), Mengim (Ende), Malu (Solor), Maio (Alor), Donille (Gorontalo), Parigi (Toli-toli), Gamnjeng (Makassar)
- Maluku : Gies (Halmahera), Bido (Ternate)

2.3.2 Morfologi Tanaman Sirih Hijau (*Piper betle L*)

Sirih termasuk perdu yang merambat. Batang sirih berkayu, bulat, berbuku-buku, beralur, dan berwarna hijau. Bentuk daun sirih bulat, panjang, tunggal, dengan pangkal berbentuk jantung dan ujung meruncing, tepi daun rata. Panjang daun sirih adalah 5-8 cm, sedangkan lebarnya 2-5 cm. Daun sirih bertangkai, permukaannya halus, mempunyai pertulangan menyirip, berwarna hijau muda sampai hijau tua (Hendrayani, 2005).

Batangnya berwarna coklat kehijauan, berbentuk bulat dan berkerut. Sirih hidup subur dengan ditanam di daerah tropis dengan ketinggian 300-1000 m di atas permukaan laut terutama di tanah yang banyak mengandung bahan organik dan air (Rini dan Mulyono, 2003).



Gambar 2.4 Daun Sirih Hijau (dok.penulis)

2.3.3 Kandungan Kimiawi Daun Sirih Hijau sebagai Antifungal

Daun sirih hijau mengandung senyawa *kavikol*, *karvakrol*, *kavibetol*, *metil eugenol*, *sinoel*, *estragol*. *Alik pirokatekol*, *terpen*, *kariofilen*, *kadinen*, *seskuiterpen*, *P-simen* dan *polimerized oil* (Hendrayani, 2005). Daun sirih mengandung minyak atsiri di mana komponen utamanya terdiri atas fenol dan senyawa turunannya seperti *kavikol*, *kavibetol*, *karvacol*, *eugenol*, dan *allilpyrocatechol* (Adeltrudes and Marina, 2010; Diyah, 2003). Selain minyak atsiri, daun sirih juga mengandung karoten, tiamin, riboflavin, asam nikotinat, vitamin C, tannin, gula, pati dan asam amino (Rini dan Mulyono, 2003). Kandungan *eugenol* dalam daun sirih mempunyai sifat antifungal (Adeltrudes and Marina, 2010; Diyah, 2003). Daun sirih yang sudah dikenal sejak tahun 600 SM ini mengandung zat antiseptik yang dapat membunuh bakteri sehingga banyak digunakan sebagai antibakteri dan antijamur (Rini dan Mulyono 2003).

Hal ini disebabkan oleh turunan fenol yaitu kavikol dalam sifat antiseptiknya lima kali lebih efektif dibandingkan fenol biasa (Diyah, 2003)

Eugenol dalam daun sirih bersifat antifungal dengan menghambat pertumbuhan yeast (sel tunas) dari *Candida albicans* dengan cara merubah struktur dan menghambat pertumbuhan dinding sel. Ini menyebabkan gangguan fungsi dinding sel dan peningkatan permeabilitas membran terhadap benda asing dan seterusnya menyebabkan kematian sel (Tsair and Sang, 2006)

Pada penelitian Rahmah dan Aditya (2010) dibuktikan bahwa ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle L*) pada konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan koloni *C.albicans* namun hanya pada konsentrasi 80% dan 100% yang dapat mempengaruhi pertambahan massa sel *C.albicans* yang berarti mengganggu metabolisme jamur.

Salah satu dari senyawa-senyawa yang bersifat fungistatik yang terkandung dalam ekstrak daun sirih segar adalah fenil propane (senyawa fenolik) (Damayanti dan Mulyono, 2008). Senyawa tersebut dapat menyebabkan denaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat aslinya (Jawetz *et al.*, 2008).

Protein merupakan komponen yang sangat penting bagi semua sel hidup termasuk sel-sel *Candida albicans*. Terdenaturasinya protein dinding sel *C. albicans* tentunya akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel tersebut sehingga mudah di tembus zat-zat aktif lainnya yang juga bersifat fungistatik. Jika protein yang terdenaturasi adalah protein enzim maka enzim tidak dapat bekerja yang menyebabkan metabolisme terganggu sehingga proses reproduksi pun terhambat. Denaturasi protein pada enzim-enzim eksternal yang di produksi

sel-sel *C. albicans* menyebabkan enzim-enzim tersebut tidak dapat mendegradasi di sekelilingnya menjadi senyawa sederhana sehingga proses penyerapan nutrisi terganggu (Rahmah dan Aditya, 2010). Fenil propano sebagai senyawa fenolik dapat mengganggu aktivitas enzim protease, dimana enzim tersebut sangat dibutuhkan oleh *C. albicans* untuk mendegradasi protein sehingga mengakibatkan metabolisme terganggu dan pertumbuhan terhambat (Rahmah dan Aditya, 2010).

Meskipun sebagian besar (60 – 80%) dari minyak atsiri daun sirih merupakan fenil propano (Rahmah dan Aditya, 2010), senyawa tersebut bukan satu-satunya bahan aktif yang berperan dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Tanin yang juga terkandung dalam daun sirih segar (Rahmah dan Aditya, 2010) dapat menghambat kerja enzim-enzim termasuk enzim katalase. Salah satu dari enzim tersebut adalah enzim *C-14 demethylase* yang berfungsi untuk memacu pembentuk ergosterol. Ergosterol merupakan komponen utama membran plasma fungi dan sel fungi. Dengan terganggunya fungsi enzim ini maka fungi tidak dapat mensintesis ergosterol secara normal (Rahmah dan Aditya, 2010). Hal tersebut menyebabkan struktur membran plasma tidak terbentuk dengan baik dan fungsinya pun terganggu.

Membran plasma sel-sel eukariotik seperti sel *C. albicans* berperan penting dalam regulasi osmotik, penyerapan nutrisi, ekskresi, dan biosintesis dinding sel. Selain sebagai komponen utama membran plasma, ergosterol juga terlibat dalam pembentukan khitin yang merupakan salah satu komponen polisakarida dinding sel dan mempunyai peran yang sangat penting dalam pertunasan (Rahmah dan Aditya, 2010). Peran khitin dalam pertunasan yaitu adanya sekumpulan khitin dalam jumlah besar pada leher pertunasan. Dengan

demikian, penghambatan terhadap pembentukan ergosterol membran plasma sel-sel *C. albicans* juga berarti penghambatan terhadap reproduksinya (Rahmah dan Aditya, 2010).

2.4 Sirih Merah



Gambar 2.5 Daun Sirih Merah (dok.penulis)

Tanaman sirih merah tumbuh menjalar seperti sirih hijau, batangnya bersulur dan beruas dengan setiap buku tumbuh bakal akar , daunnya bertangkai membentuk jantung dengan bagian atas meruncing, mempunyai warna yang khas yaitu permukaan atas hijau gelap berpadu dengan tulang daun berwarna merah hati keunguan, daun berasa pahit, berlendir, serta mempunyai bau yang khas seperti sirih (Duryatmo, 2005). Tanaman sirih merah bisa tumbuh dengan baik di tempat yang teduh dan tidak terlalu banyak terkena sinar matahari agar warna merah daunnya tidak menjadi pudar, buram, kurang menarik

(Sudewo,2007). Yang membedakan dengan sirih hijau adalah selain daunnya berwarna merah keperakan, bila daunnya disobek maka akan berlendir serta aromanya lebih wangi (Manoi, 2007).

2.4.1 Taksonomi Tanaman

Nama ilmiah	: <i>Piper ornatum</i>
Nama daerah	: -
Nama asing	: -
Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper ornatum</i> (Citra dkk.,2009)

2.4.2 Morfologi Tanaman

a. Daun

Daunnya berwarna hijau dengan semburat pink. Daun membentuk jantung hati dan bagian ujung meruncing, mengkilat dan tidak merata, tepinya rata, permukaan mengilap, tidak berbulu dan bila daunnya dirobek maka akan mengeluarkan lendir, terasa pahit dan aromanya lebih wangi. Panjang daunnya

kurang lebih 15-20 cm. Warna daun pada bagian atas hijau bercorak warna putih keabu-abuan, sedangkan bagian bawah daun berwarna merah hati cerah (Sudewo, 2010).

b. Batang

Batang berwarna hijau agak kemerahan dan permukaan kulitnya berkerut. Batang bersulur dan beruas dengan jarak buku 5-10 cm (Sudewo, 2010).

c. Akar

Bakal akar tumbuh di setiap buku batang (Sudewo, 2010).

2.4.3 Habitat

Tanaman sirih merah tergolong tanaman langka, karena tidak tumbuh di setiap tempat atau daerah. Sirih merah tidak dapat tumbuh subur di daerah panas. Sementara itu, di tempat berhawa dingin sirih merah dapat tumbuh dengan baik. Jika terlalu banyak terkena sinar matahari, batangnya cepat mengering, tetapi jika disiram terlalu berlebihan akar dan batangnya cepat membusuk. Pada musim hujan banyak tanaman sirih merah yang mati akibat batang membusuk dan daunnya rontok. Tanaman sirih merah dapat tumbuh dengan baik jika mendapatkan 60-75% cahaya matahari agar hasilnya baik (Sudewo, 2005).

2.4.4 Distribusi

Belum dapat dipastikan asal tanaman sirih merah ini, namun di Indonesia sendiri tanaman ini tersebar di daerah Sulawesi, Yogyakarta, Papua, Jawa, Kalimantan dan beberapa daerah lainnya (Sudewo, 2010).

2.4.5 Penggunaan Tanaman Sirih Merah

Sirih telah dikenal sejak 600 SM sebagai antiseptik karena kandungan senyawa kavibetol dan kavikolnya. Selain itu, sirih juga mengandung kalsium nitrat, sedikit gula, dan pati (Duryatmo, 2005). Berdasarkan pengalaman suku Jawa tanaman sirih merah mempunyai manfaat menyembuhkan penyakit ambeien, keputihan, dan obat kumur (Manoi, 2007). Tanaman sirih terdiri dari beberapa jenis, salah satunya adalah sirih merah. Sirih merah (*Piper ornatum*) merupakan jenis sirih yang banyak dimanfaatkan sebagai tanaman hias pada tahun 1900-an namun sekarang mengalami perubahan fungsi menjadi tanaman obat sejak dikenalkan oleh Bambang Sudewo, seorang produsen tanaman obat di Blunyahrejo (Sudewo, 2007).

2.4.6 Kandungan Ekstrak Daun Sirih Merah sebagai Antifungal

Kandungan kimia yang terdapat pada tanaman sirih merah mengandung metabolit sekunder yang menyimpan senyawa aktif seperti *alkali*, *flavonoid*, *polivenol*, *tanin*, minyak atsiri, *saponin*, *hidroksikaficol*, *kavicol*, *kavibetol*, *karvakrol*, *cyanogenic*, *eugenol*, *cineole*, *kadimen*, *glucoside*, *isoprenoid*, *nonprotein amino acid*, *terpenena*, dan *fenil propada* (Mulyanto dkk., 2003; Sudewo, 2010).

Kandungan minyak atsiri yang terdapat di daun sirih merah adalah golongan monoterpen (*p-cymene*). Golongan seskueterpen (*caryofelen*, *kadimen* *estragol*), *phenylpropane* (*hidroksikavicol*, *eugenol*, *kavicol*, *kavibetol*), *phenol* (*karvakrol*), *allypyrokatekol* dan *terpenena* (Manoi, 2007). *Karvakrol* bersifat desinfektan, antijamur, sehingga bisa digunakan untuk obat antiseptik pada bau mulut dan keputihan (Kusuma dkk., 2009). Kandungan minyak atsiri dalam sirih merah merupakan minyak yang menguap dari beberapa tanaman yang bersifat

biologis seperti antibakteri dan antijamur (Elistina, 2005 dalam Harnas, 2012). Minyak atsiri pada umumnya dibagi menjadi dua komponen yaitu golongan hidrokarbon dan hidrokarbon teroksidasi (fenol) (Harnas, 2012). Senyawa fenol cenderung mudah larut air dan pelarut semipolar karena fenol seringkali berikatan dengan gula sebagai glikosida dan senyawa fenol ini diduga memiliki daya anti bakteri yang kuat (Harnas, 2012).

Sebagai antijamur, molekul hidrofobik penyusun minyak atsiri dapat mempengaruhi permeabilitas membran dan kerusakan membran sehingga dapat menyebabkan kematian sel. Selain itu juga minyak atsiri dapat mengganggu enzim-enzim yang terikat pada membran sel, sehingga dapat mengganggu aktivitas kerja membran sel yang berakhir pada kerusakan sel (Kubo *et al.*, 2003; Leopold *et al.*, 2005 dalam Harnas, 2012)

Flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar pada tumbuhan, yang disintesis dalam jumlah sedikit (0,5-1,5%) (Harnas, 2012). Memiliki sifat antioksidan, senyawa fenol yang bersifat sebagai koagulator protein, antidiabetik, antijamur, antikanker, imunostimulan, antioksidan, antiseptik, antihepatotoksik, antihiperlipidemia, vasodilatator dan antiinflamasi (Prawito, 2008). Kemampuan dalam membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan juga dinding sel diperkirakan menyebabkan peningkatan aktivitas flavonoid. Sifatnya yang lipofilik, flavonoid mungkin dapat merusak membran sel mikroba (Harnas, 2012).

Senyawa eugenol memiliki kandungan analgetik dan antifungal dengan menghambat pertumbuhan yeast (sel tunas) dari *Pytirosporom ovale* dengan cara mengubah struktur dan menghambat dinding sel, sehingga meningkatkan

permeabilitas membran terhadap benda asing dan menyebabkan kematian sel (Plewig and Jansen, 2008).

Saponin pada sirih merah menunjukkan efek antijamur, antibakteri, dan imunomodulator (Lamore *et al.*, 2010). Saponin memiliki molekul amfipatik (mengandung bagian hidrofilik dan hidrofobik) yang dapat melarutkan protein membran. Ujung hidrofobik saponin akan berikatan pada region hidrofobik protein membran dengan menggeser sebagian *unsure lipid* yang terikat. Ujung hidrofobik saponin merupakan ujung bebas yang akan membawa protein ke dalam larutan sebagai kompleks saponin-protein, ikatan tersebut mengganggu permukaan membran sel yang akan menyebabkan membran pecah, sel lisis dan mati (Soetan *et al.*, 2006).

Pada penelitian Sukmadewi (2013), konsentrasi ekstrak daun sirih merah yang dapat menghambat *Candida albicans* adalah 12% dan KBM 30%. Pada penelitian tersebut untuk menghitung Kadar Hambat Minimum (KHM) tidak menggunakan *Tube Dillution Test* seperti pengukuran Kadar Bunuh Minimum (KBM) namun menggunakan *Agar Dillution Test*. Sedangkan pada penelitian ini untuk menghitung KHM dan KBM akan dilakukan dengan *Tube Dillution Test*.

2.4.7 Perbandingan Kandungan Sirih Merah dan Sirih Hijau yang Diduga Sebagai Antifungal

Tabel 2.1 Kandungan Dalam Sirih Hijau (*Piper betle* L) dan Sirih Merah (*Piper ornatum*) Berdasarkan Asal Tanaman

Penelitian	Asal Sirih	Jenis Sirih	Jumlah Kandungan sebagai Antifungal
Satyal and Setzer, 2012	Nepal	Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L)	Senyawa Fenol mengandung : chavicol (0.4%), eugenol (0.4%), chavibetolb (80.5%), methyl eugenol (0.4%)
Arambewela et.al.,2005	Srilanka	Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L)	Leaf Oil : Eugenol (11,93g/100g), Chavibetol acetate (12,55 g/100g)
Pradhan et.al.,2013	India	Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L)	<ul style="list-style-type: none"> ➤ Di dalam daun sirih hijau terkandung zat antifungal seperti Tannin (0.1-1.3%) ,alkaloid (arakene) ➤ Total fenol yang terkandung di dalamnya bervariasi menurut gender. Male plant mengandung fenol tiga kali lipat lebih tinggi dibandingkan pada female plant. Kualitas daun tergantung pada kandungan fenol, semakin fenolik kualitas daun semakin baik. ➤ Tannin dalam jumlah besar terkandung pada bagian tengah tanaman
Adnan dkk.,2011	Palembang, Indonesia	Sirih Merah (<i>Piper crocatum</i>)/ (<i>Piper ornatum</i>)	Kandungan yang dikenal sebagai antibiotic seperti chavicol, estragol, eugenol, dan methyl eugenol tidak ditemukan pada minyak esensial daun sirih merah

Tabel 2.2 Perbandingan Senyawa yang Terkandung dalam Minyak Esensial Dalam Daun Sirih Merah (*Piper ornatum*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper betle* L) (Adnan dkk., 2011)

Asal	Sirih Merah (<i>Piper ornatum</i>)	Sirih Hijau (<i>Piper betle</i> L)
Palembang, Indonesia	Monoterpen (C10) Hydrocarbons (tidak terdeteksi)	Monoterpen (C10) Hydrocarbons p-Cymene Terpinen
	Monoterpens Teroksigenasi (1.48%) α-Terpineol (0.33%) trans-Geraniol (0.09%) Geraniol (0.63) Geranyl acetate (0.43%)	Monoterpens Teroksigenasi Eucalytol Carvacrol
	Sesquiterpen (C15) Hydrocarbons (56.39%) β-Elemene (0.32%) α-Bergamotene (0.35%) trans-Caryophyllene (2.37%) β-Sesquiphellandrene (1.32%) α-Humulene (0.29%) t-β-Farnesene (3.61%) γ-Curcumene (1.99%) ar-Curcumene (0.56%) α-Cedrene (3.70%) β-Sesquiphellandrene (1.32%) cis-γ-Bisabolene (0.27%) β-Bisabolene (0.97%) trans-Caryophyllene (2.37%) Sesquisabinenehydrate (22.83%) γ-Curcumene (11.16%) γ-Cadinene (2.96%)	Sesquiterpen (C15) Hydrocarbons Cadinene Cayophyllene
	Sesquiterpens Teroksigenasi (24.28%) Torreyol (0.33%) α-Cedrol (2.33%) 8-epi-Bisabolol (17.24%) Anymol (3.90%) Farnesol (0.48%)	Sesquiterpens Teroksigenasi (tidak ada keterangan)
	Benzene derivatives (1.12%) 4-Vinyl-2-methoxy-phenol (0.13%) Benzyl benzoate (0.20%) 7,12-dihydro-7-Benz(a)anthracene (0,10%) 2-hydroxy-phenylmethyl Benzoic acid (0.16%) 1,2-Benzenedicarboxylic acid (0.53%)	Benzene derivatives Chavibetol (3-hydroxy-4-methoxyallylbenzene) Chavicol (4-allyl-phenol) Estragole (4-methoxy-allylbenzene) Eugenol (4-hydroxy-3-methoxy-allylbenzene) Methyl eugenol (3,4-dimethoxy-allylbenzene)

2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

2.5.1 Metode Dilusi (*Dillution*)

Metode dilusi adalah suatu metode uji antimikroba untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM). Terdapat dua metode dilusi yakni metode dilusi cair (*broth dillution*) dan metode dilusi agar (*agar dillution*) (Forbes *et al.*, 2007).

2.5.1.1 Dilusi Cair (*Broth Dillution*)

Dilusi cair (*broth dillution*) adalah suatu metode uji antimikroba dengan cara pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan mikroba uji. Metode dilusi cair dibagi menjadi dua kategori *microdillution* dan *macrodillution* namun pada prinsipnya sama hanya berbeda pada volume cairan yang akan digunakan untuk proses pengenceran. Pada *microdillution* total volume cairan yang digunakan adalah 0,05 ml atau 0,1 ml, sedangkan pada *macrodillution* total volume yang digunakan biasanya 1ml atau lebih (Forbes *et al.*, 2007)

Standarisasi suspensi bakteri ditentukan oleh kekeruhan standart McFarland ($1,5 \times 10^5$ CFU/ml). Yang terpenting dalam inokulasi adalah persiapan dari sediaan yang segar, penginapan, keaslian kultur organisme. Setelah diinkubasi, nampan mikrodilusi diuji untuk pertumbuhan bakteri. Setiap nampan harus meliputi sebuah kontrol tumbuh yaitu nampan tidak mengandung agen antimikroba dan sebuah kontrol yang disterilkan tanpa diinokulasi. Profil pertumbuhan pada setiap dilusi antimikroba dapat menentukan KHM (Forbes *et al.*, 2007).

2.5.1.2 Dilusi Agar (*Agar Dillution*)

Pada metode dilusi agar, konsentrasi antimikroba dan organisme akan diuji dalam medium agar, metode ini lebih baik daripada pada media cair. Masing-masing penggandaan dilusi antimikroba agen dimasukkan ke dalam piring agar, sehingga pengujian enam dilusi memerlukan enam piring, ditambah *positive growth control*. Satu atau lebih isolat mikroba diuji pada setiap piring. Setelah diinkubasi, piring-piring diuji pertumbuhan oganismenya dan KHM terbukti pada piring yang konsentrasi paling rendah, hal ini menunjukkan agen antimikroba dapat menghambat pertumbuhan (Forbes *et al.*, 2007)

2.5.2 Metode Difusi (*Diffussion*)

Metode difusi yang paling sering digunakan adalah difusi cakram (*disk diffussion*) yang digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi dengan media agar dan akan membuat konsentrasi di sekitar piringan. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorgnisme oleh agen antimikroba di permukaan media agar. Setelah diinkubasi, zona hambatan sekitar cakram dipergunakan untuk mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji (Forbes *et al.*, 2007; Jawetz *et al.*, 2008)

2.6 Ekstraksi

Ekstraksi adalah sebuah proses pemindahan zat aktif yang semula berada di dalam sel oleh pelarut sehingga menjadi larutan zat aktif dalam pelarut tersebut (Lathifah, 2008).

2.6.1 Metode Ekstraksi

2.6.1.1 Cara Dingin

➤ Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia dengan menggunakan pelarut dengan perendaman atau beberapa kali pengocokkan atau pengadukan pada temperatur ruangan (suhu kamar) (Harnas, 2012).

➤ Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna (*exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan (Harnas, 2012).

2.6.1.2 Cara Panas

➤ Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Harnas, 2012).

➤ Soxhlet

Soxhlet adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan pendingin balik (Harnas, 2012).

➤ Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰ C (Harnas, 2012).

➤ **Infus**

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98^oC) selama waktu tertentu (15-20 menit) (Harnas, 2012)

➤ **Dekok**

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Harnas, 2012)

2.7 Ekstraksi Daun Sirih Hijau dan Daun sirih Merah

Ekstraksi merupakan salah satu cara untuk memisahkan satu atau lebih senyawa dari suatu bahan. Bahan tersebut dapat berupa suatu jaringan atau organ tumbuhan (Alfarabi, 2010). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi. Metode ini dilakukan dengan cara merendam jaringan atau organ tumbuhan dengan larutan yang tepat untuk mendapatkan senyawa yang diinginkan (Alfarabi, 2010). Daun yang digunakan harus daun sirih merah segar (Alfarabi, 2010).

Daun sirih 100 gram digerus, kemudian ditambahkan 100 ml aquades, lalu disaring dan disentrifuge selama 20 menit. Selanjutnya dibuat larutan uji dengan konsentrasi yang telah diuji pendahuluan (Rahmah dan Aditya, 2010).

Ekstraksi daun sirih merah menggunakan pelarut ethanol 96% , berbeda dengan penelitian Alfarabi (2010) yang menggunakan ethanol 70% ,namun dalam penelitian tersebut dijelaskan bahwa kadar ethanol yang tinggi dapat mengekstrak senyawa-senyawa bioaktif dari daun sirih merah lebih banyak daripada kadar ethanol yang lebih rendah. Berdasarkan uji fitokimia pada penelitian Safihtri dan Fahma (2005), daun sirih merah mengandung senyawa

flavonoid, alkaloid, dan tannin, maka senyawa tersebut bersifat polar terutama flavonoid. Selain ethanol, pelarut-pelarut lain yang dapat digunakan untuk mengekstrak senyawa bersifat polar adalah methanol dan aseton, namun tingkat toksisitasnya lebih tinggi dibandingkan ethanol (Alfarabi, 2010).

Walaupun ethanol merupakan pelarut yang tepat, namun perlu dilakukan hal yang dapat membantu proses ekstraksi menjadi lebih efisien, yaitu penggerusan daun. Penggerusan daun bertujuan memperbesar peluang terlarutnya senyawa-senyawa yang ingin diekstrak dengan ethanol karena adanya penggerusan maka dinding dan membran sel daun akan rusak sehingga memudahkan ethanol berinteraksi dengan senyawa-senyawa yang ingin diekstrak (Alfarabi, 2010)

Penggunaan ethanol konsentrasi tinggi dalam maserasi ini bertujuan untuk dapat mengekstrak senyawa aktif yang bersifat polar atau semipolar. Selain itu dapat mencegah berkembangnya mikroba karena penggunaan daun segar rentan terkontaminasi mikroba. Setelah dimaserasi, larutan tersebut dipekatkan dengan rotavapor dengan suhu 50° C. Penggunaan suhu 50° bertujuan untuk mencegah rusaknya senyawa yang diekstrak oleh suhu tinggi. Setelah itu ekstrak dikeringkan dengan *freeze dryer* untuk menghilangkan pelarut-pelarut yang masih terdapat dari hasil pemekatan dengan rotavapor (Alfarabi, 2010).

Penggunaan pelarut ethanol dalam proses ekstraksi lebih selektif karena pelarut ini dapat melarutkan sebagian besar komponen zat aktif bahan uji yang terkandung di dalam daun sirih merah dan daun sirih hijau. Pada ekstraksi daun sirih merah dan hijau telah dilakukan evaporasi untuk menghilangkan pelarut

ethanol sehingga ekstrak yang dihasilkan tidak mengandung ethanol melainkan komponen zat aktif yang dapat membunuh jamur (Visht, 2012)

