

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan metode eksperimental murni (*true experimental design*) dengan *post test only control group design*. Desain ini terdapat dua kelompok yang masing-masing dipilih secara acak. Kelompok pertama diberi perlakuan yang disebut kelompok eksperimen dan kelompok lain yang tidak diberi perlakuan disebut kelompok kontrol. Kemudian kedua kelompok ini dibandingkan setelah diberi tindakan. (Emzir, 2009). Penelitian dilakukan secara *in vitro* untuk mengetahui apakah distilasi uap minyak atsiri serai dapur (*Cymbopogon citratus*) mempunyai efek antifungi terhadap *Candida albicans*. Metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram yang bertujuan untuk mengetahui diameter zona hambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Penelitian ini menggunakan isolat jamur *Candida albicans* yang diperoleh dari stok kultur Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Sebelum jamur tersebut digunakan untuk penelitian, dilakukan tes identifikasi jamur terlebih dahulu untuk memastikan jamur tersebut adalah benar spesies *Candida albicans*. Tes identifikasi jamur ini meliputi pewarnaan Gram dan uji *germinating tube*. Hasil tes pewarnaan Gram, gambaran mikroskopis dengan pembesaran 1000x menunjukkan *Candida albicans* berbentuk *budding cell*, oval dan berwarna ungu (Gram positif) (Bhavan *et al.*, 2010). Hasil uji *germinating tube*, *Candida albicans* diinkubasi dalam serum selama ± 90 menit pada suhu 37°C kemudian diamati pada mikroskop dengan

pembesaran 400x terdapat gambaran sel-sel ragi membentuk *germ tube* berbentuk seperti kecambah/seperti tabung panjang memanjang dari sel ragi (Jawetz *et al.*, 2010). Pembentukan *germ tube* ini merupakan ciri khas *Candida albicans* yang membedakan *Candida albicans* dari spesies *Candida* lainnya (Kim *et al.*, 2002). Berdasarkan hasil kedua tes identifikasi ini, dapat dibuktikan bahwa jamur yang diteliti tersebut benar *Candida albicans*. Secara makroskopis ketika koloni *Candida albicans* ditanam pada medium padat SDA, berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus/lunak, dan licin, berwarna putih kekuningan/krem dan berbau asam/seperti ragi (Bhavan *et al.*, 2010; Geo *et al.*, 2004). Setelah tes identifikasi dilakukan, selanjutnya dibuat biakan *Candida albicans* pada media SDA steril. Kultur tersebut kemudian dicocokkan dengan standar 0.5 Mc Farland, diukur *Optical Density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda_{maks} = 530 \text{ nm}$, sehingga diperoleh hasil suspensi sel jamur yang mengandung $1 \times 10^6 - 5 \times 10^6 \text{ CFU/ml}$ (Sheehan *et al.*, 2004).

Serai dapur yang digunakan pada penelitian ini didapat dari Balai Materia Medica, UPT Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur, Kota Batu dan selanjutnya dilakukan tes identifikasi tanaman di tempat yang sama untuk membuktikan bahwa serai dapur yang digunakan pada penelitian ini adalah spesies *Cymbopogon citratus* (Lampiran 1). Serai dapur (*Cymbopogon citratus*) yang diperoleh kemudian diekstraksi dengan menggunakan metode distilasi uap di Fakultas Pertanian Universitas Brawijaya sehingga diperoleh hasil minyak atsiri serai dapur. Metode distilasi uap dipilih karena metode ini banyak digunakan, sederhana dan ekonomis, sehingga dapat diaplikasikan dalam industri rumah tangga (Ariyani dkk., 2008). Ini sejalan dengan pernyataan (Ganjewala, 2009) bahwa minyak atsiri dari genus *Cymbopogon* biasanya diekstraksi dengan

metode distilasi uap. Ekstraksi minyak dengan cara lain seperti dengan metode penyarian dengan lemak dan penyarian dengan pelarut yang mudah menguap tidak cocok untuk serai karena metode ini lebih cocok untuk mengambil minyak atsiri dengan mutu dan rendemen yang tinggi khususnya untuk bunga seperti bunga cempaka, melati dan mawar (Guenther, 2006).

Penelitian dengan menggunakan serai dapur telah dilakukan dengan beberapa macam ekstraksi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Hamza *et al.*(2009) menggunakan ekstrak methanol serai dapur diperoleh konsentrasi untuk menghambat *Candida albicans* pada konsentrasi 5000 µg/ml dengan diameter zona hambat 8 mm (Hamza *et al.*, 2009). Penelitian lain yang dilakukan oleh Osanaiye *et al.*(2007) diperoleh hasil bahwa minyak atsiri serai dapur memiliki aktivitas antimikroba yang tinggi pada bakteri *Salmonella typhi*, *Eschericia coli* dan *Staphylococcus aureus*, sedangkan ekstraksi menggunakan air menunjukkan serai tidak memiliki efek/tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut. Hal tersebut disebabkan komposisi aktif dari tanaman serai dapur tidak dapat diekstrak dengan menggunakan air sebagai pelarut (Osanaiye *et al.*, 2007). Minyak atsiri merupakan senyawa non polar. Senyawa non polar mampu menginduksi perubahan permeabilitas *Candida albicans* melalui interaksi antara sisi aktif senyawa dengan sisi aktif membran sel terutama bagian kolesterol dan ergosterol. Interaksi tersebut menghasilkan perubahan energi kinetik membran yang menyebabkan perubahan permeabilitas dan menyebabkan membran sel menjadi tidak stabil sampai menimbulkan kematian sel (Kusumaningtyas dkk., 2008). Berdasarkan data tersebut, peneliti menggunakan metode ekstraksi penyulingan (distilasi) untuk memperoleh minyak atsiri serai dapur. Hal ini disebabkan penggunaan minyak atsiri serai dapur lebih

efektif menyebabkan efek antifungi sehingga konsentrasi minyak yang dibutuhkan sebagai antifungi lebih sedikit.

Hasil penyulingan minyak atsiri serai dapur dengan metode distilasi uap didapatkan minyak atsiri yang memiliki aroma seperti lemon karena memiliki kandungan utama *citral* (Ambarwati, 2011), berbentuk cair, jernih dan berwarna kuning. Jika dimasukkan ke dalam air, maka lapisan minyak akan berada di atas air, hal ini disebabkan karena berat jenis minyak lebih ringan daripada berat jenis air (Ariyani dkk., 2008). Oleh karena itu dibutuhkan suatu pelarut untuk melarutkan minyak atsiri. Pengenceran berseri untuk minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan *dimethyl sulfoxide* (DMSO) yang juga digunakan sebagai kontrol negatif (Matasyoh et al., 2011). Sebelum digunakan untuk melarutkan minyak atsiri serai dapur DMSO 1% (v/v) diencerkan dulu dengan menggunakan aquades steril dengan perbandingan (aquades : DMSO = 9 : 1), sehingga diperoleh konsentrasi DMSO 0,1% (v/v). Hal ini dilakukan untuk mencegah DMSO agar tidak memiliki efek antifungal yaitu konsentrasi DMSO yang digunakan harus dibawah 0,3% (Hili et al., 1997).

Uji kepekaan terhadap antimikroba dapat dilakukan secara *in vitro* melalui dua cara, yaitu metode dilusi dan metode difusi disk/cakram. Uji efektivitas zona hambat dengan menggunakan metode difusi cakram (*Paper disc diffusion*) digunakan untuk mengetahui aktivitas minyak atsiri (Souza et al., 2005). Sehingga metode yang dilakukan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram yang bertujuan untuk mengetahui diameter zona hambat pertumbuhan *Candida albicans*. Prinsip metode ini adalah antimikroba dijenuhkan ke dalam kertas saring (kertas cakram), kemudian ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji,

kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih di sekitar kertas cakram yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen dkk., 2003).

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan, maka konsentrasi minyak atsiri serai dapur yang digunakan dalam penelitian ini adalah 40%, 20%, 10%, 5% dan 2,5% (v/v). Berdasarkan hasil penelitian dengan metode difusi cakram diperoleh efek minyak atsiri serai dapur dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 5% (v/v) dengan rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,1125 mm. Konsentrasi ini sudah dikatakan efektif menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena sesuai pada standar umum obat asal tanaman yaitu diameter zona hambat di sekitar *disc* ekstrak berukuran 12-24 mm (Hermawan, 2007).

Rata-rata diameter zona hambat sebesar 12,1125 mm pada Konsentrasi 5% (v/v) ini lebih rendah daripada rata-rata zona hambat kontrol positif (*Nystatin* 100.000 IU/ml) sebesar 15,4 mm. Hal ini dapat disebabkan oleh mutu minyak atsiri serai dapur yang dipengaruhi berbagai faktor. Secara garis besar, faktor yang mempengaruhi mutu minyak atsiri serai dapur adalah jenis dan kualitas bahan baku, jalannya proses pengambilan minyak atsiri dan pengemasan serta penyimpanan minyak atsiri yang dihasilkan. Mutu dan kualitas minyak atsiri serai dapat menurun disebabkan proses penyulingan dilakukan dengan cara yang kurang baik dan menggunakan ketel suling yang masih primitif. Hal ini juga disebabkan tidak diketahuinya usia bahan yang digunakan dan waktu pemanenan bahan pada musim hujan sehingga kadar air yang dikandung lebih banyak daripada kadar minyaknya. Disamping itu faktor kesuburan tanah dan iklim juga mempengaruhi mutu minyak yang dihasilkan (Sari dan Chairul, 2005).

Minyak atsiri dari tumbuhan yang berbeda kuantitas juga berbeda, bahkan tumbuhan sama juga dapat menghasilkan minyak atsiri yang berbeda kualitas dan kuantitasnya. Selain cara pengolahan dan alat destilasi yang digunakan, lokasi pengambilan sampel juga sangat mempengaruhi hasil distilasi minyak atsiri yang diperoleh. Hal ini dapat dipengaruhi oleh faktor iklim, keadaan tanah, sinar matahari dan cara pengolahannya. Kondisi penyulingan bisa menyebabkan mutu minyak atsiri yang dihasilkan tidak sama baiknya dengan minyak alamiahnya (Guenther, 2006). Selain dari faktor mutu minyak atsiri, penurunan efektivitas ini juga dapat disebabkan karena penguapan sebagian zat aktif pada saat penyimpanan (Roudhatini, 2013).

Data pengukuran diameter zona hambat *Candida albicans* dilakukan analisis data dengan menggunakan uji *One Way Anova* dan uji korelasi-regresi. Analisis data menggunakan uji *One Way Anova* karena pada penelitian ini terdiri lebih dari 2 kelompok data tidak berpasangan (Dahlan, 2008). Hasil uji *One Way ANOVA* pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa efek pemberian berbagai konsentrasi minyak atsiri serai dapur terhadap zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* terdapat perbedaan signifikan.

Analisis data dengan uji korelasi-regresi karena pada penelitian ini terdiri dari dua variabel yaitu variabel tergantung dan variabel bebas serta skala pengukuran yang dipakai adalah skala rasio (Santoso, 2010). Hasil uji korelasi-regresi didapatkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian distilasi uap minyak atsiri serai dapur terhadap zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Besar koefisien korelasi *Pearson* adalah 0,857. Apabila nilai koefisien korelasi

mendekati 1, maka hubungan kedua variabel tersebut sangat kuat. Nilai 0,857 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang sangat kuat antara perlakuan konsentrasi minyak atsiri dengan zona hambat pertumbuhan jamur. Koefisien korelasi bernilai positif yang berarti semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri serai dapur maka semakin besar diameter zona hambat yang terbentuk. Sehingga dapat disimpulkan hubungan kedua variabel tersebut kuat positif. Uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi minyak atsiri serai dapur terhadap zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* (Santoso, 2010). Berdasarkan hasil uji regresi, nilai *R Square* (R^2) yang didapatkan adalah sebesar 0,735 menunjukkan bahwa kontribusi pemberian minyak atsiri serai dapur dalam mempengaruhi diameter zona hambat pertumbuhan *Candida albicans* sebesar 73,5%, sedangkan sisanya 26,5% disebabkan oleh faktor lain yang tidak diteliti. Faktor lain ini misalnya waktu penyimpanan ekstrak, kualitas alat-alat laboratorium, waktu inkubasi agar, waktu perendaman disk, atau resistensi jamur itu sendiri.

Berdasarkan hasil statistik penelitian ini dapat disimpulkan bahwa, semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri serai dapur maka semakin luas diameter zona hambat pertumbuhan jamur yang berarti semakin sedikit jumlah jamur yang tumbuh. Hal ini menunjukkan adanya aktivitas minyak atsiri serai dapur dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Hasil penelitian ini serupa dengan penelitian yang dilakukan oleh Yusdar dkk.(2013) yang menunjukkan bahwa minyak atsiri serai dapur dapat menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* pada konsentrasi 6,25% (v/v) dengan diameter zona hambat sebesar 14,1 mm. Minyak atsiri serai dapur juga terbukti dapat menghambat pertumbuhan jamur spesies *Aspergillus* (*Aspergillus*

flavus, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus ochraceus* dan *Aspergillus niger* (Shaaban *et al.*, 2013), *Aspergillus fumigatus* (Matasyoh *et al.*, 2011)), dan jamur lain seperti *Penicillium citrinum* dan *Fusarium verticillioides* (Sessou *et al.*, 2012). Minyak atsiri serai dapur juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan diameter zona hambat sebesar 19,3-18,6 mm dan *Escherichia coli* sebesar 18,5-18,1 mm pada konsentrasi 50% (b/v) (Rahman dkk, 2013). Berdasarkan data tersebut, dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri serai dapur dapat menghambat pertumbuhan jamur, bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif, sehingga minyak atsiri serai dapur dapat dikembangkan menjadi antiseptik.

Selain itu, penelitian dengan menggunakan minyak atsiri dari beberapa tumbuhan sebagai antijamur terhadap *Candida albicans* juga telah diteliti. Pada penelitian yang dilakukan oleh Arini dkk.(2006) dengan menggunakan minyak atsiri beluntas, diperoleh konsentrasi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 12,5%. Penelitian dengan menggunakan minyak atsiri daun sirih merah dan daun sirih hijau diperoleh konsentrasi untuk menghambat *Candida albicans* pada konsentrasi 12,5% (daun sirih merah) dan 6,25% (daun sirih hijau) (Maytasari, 2010). Sedangkan pada minyak atsiri Lengkuas diperoleh konsentrasi untuk menghambat *Candida albicans* pada konsentrasi 8% (Soeratri dkk., 2005). Pada keempat minyak atsiri ini mengandung senyawa antifungi yang sama dengan senyawa pada minyak atsiri serai dapur yaitu senyawa terpen. Dari hasil keempat macam minyak atsiri tersebut, dapat disimpulkan sementara bahwa minyak atsiri serai dapur lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan konsentrasi 5% (v/v). Konsentrasi yang lebih rendah

pada minyak atsiri serai dapur ini menyebabkan efek samping yang mungkin muncul juga semakin kecil, tetapi memiliki efek antijamur yang sama.

Aktivitas antifungi pada minyak atrisi serai disebabkan adanya komponen yang memiliki aktivitas biologis. Komponen utama minyak serai yang terdiri dari *geranial*, *neral* dan *geraniol* dilaporkan memiliki aktivitas antifungal yang kuat (Lee *et al.*, 2008). Berdasarkan literatur diketahui bahwa *geranial*, *neral*, *geraniol*, *limonene* dan β -*myrcene* ditemukan sebagai komponen utama serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dengan citral sebagai komponen kimia utama minyak serai dapur (*lemongrass*) (Hyunh *et al.*, 2008). Ini sejalan dengan penelitian yang lain yang menyebutkan bahwa kandungan minyak atsiri serai didominasi oleh *monoterpene* yang terdiri dari *geranial*, *neral*, *myrecene* dan *geraniol* (Matasyoh *et al.*, 2011). Serai memiliki kandungan utama berupa *citral* sebanyak \pm 80% - 84% (Khanuja *et al.*, 2005).

Citral yang merupakan kandungan terbesar minyak serai adalah kelompok senyawa terpen campuran alami dari dua isomer asiklik monoterpen aldehid, yakni *geranial* (α -*citral*) dan *neral* (β -*citral*) dilaporkan menyebabkan adanya aktivitas antifungal yang kuat (Tzortzakakis and Economakis, 2007; Lee *et al.*, 2008; Matasyoh *et al.*, 2011).

Komponen utama lain yang dimiliki oleh minyak atsiri adalah *geraniol*. *Geraniol* dilaporkan memiliki aktivitas antifungal dengan cara mencegah pertumbuhan sel *yeast* (ragi) menyebabkan peningkatan kobocoran ion kalium (K^+) dari sel ragi dan menginduksi perubahan pada komposisi membran sel dengan meningkatkan proporsi asam lemak jenuh dan mengurangi asam lemak tak jenuh, sehingga dapat menghambat pertumbuhan jamur (Prasad *et al.*, 2009)

Selain kandungan utama tersebut minyak atsiri serai dapur juga memiliki kandungan lain cineole, α -pinene, α -terpineol, β -sitosterol, caryophyllene, citronellal, citronellol, dipentene, geraniol, limonene, linalool, luteolin, myrcene, neral, nerol dan quercetin yang memiliki aktivitas antibakteri dan antijamur (Bassolé *et al.*, 2011). Aktivitas antifungi yang kuat pada minyak atsiri ini dimungkinkan karena adanya dua isomer (*geranial* dan *neral*) tersebut, walaupun begitu, komponen minor penyusun minyak atsiri serai seperti α -pinene dilaporkan menjadi penyebab utama aktivitas antifungi pada *Pistacia lentiscus* (*Anacardiaceae*) (Magiatis *et al.*, 1999). Sehingga kemungkinan juga komponen minor ini ikut membantu untuk menghambat pertumbuhan jamur karena memiliki aktivitas antifungi. α -pinene merubah morfologi ultrastruktur fungi, mengakibatkan dinding sel dan membran sitoplasma pecah, selain itu α -pinene juga menghambat sintesis polisakarida dinding sel dan ergosterol membran sitoplasma (Xia *et al.*, 1999). Minyak atsiri serai dapur juga mengandung monoterpen hidrokarbon seperti limonene. Senyawa ini memiliki aksi antimikrobal dengan cara berdifusi ke dalam sel dan merusak struktur membran sel (Meincken *et al.*, 2005). Monoterpen minor lain seperti linalool dilaporkan memiliki aktivitas antifungal dan antibakteri yang luas. Penelitian yang telah dilakukan menyebutkan bahwa linalool memiliki efek inhibisi yang kuat terhadap 17 bakteri dan 10 jamur (Pattnaik *et al.*, 1997). Linalool diketahui dapat menghambat germinasi spora dan pertumbuhan jamur (Matasyoh *et al.*, 2011). Linalool bekerja dengan cara mengganggu biosintesis ergosterol dan integritas membran sel jamur (Khan *et al.*, 2010).

Minyak atsiri memiliki aksi menghambat yang kuat menyebabkan perubahan struktur sel pada pertumbuhan *mycelium*. Diduga minyak atsiri serai

merusak membran plasma dan merubah struktur mitokondria (De-Billerbeck *et al.*, 2001). Penelitian lain menemukan minyak atsiri serai dapur mengakibatkan perubahan ultrastruktural pada hifa dan hilangnya ion kalsium, kalium dan magnesium dari *mycelium* (Helal *et al.*, 2006).

Penelitian lain menyebutkan bahwa uap minyak atsiri serai dapur dapat menginduksi perubahan dan kerusakan permukaan yang diikuti dengan kerusakan membran. Hal ini sejalan dengan penelitian yang menyebutkan bahwa senyawa terpen dapat merubah permeabilitas sel yang menyebabkan perubahan sifat dan fungsi dengan meningkatkan cairan membran dan merusak permeabilitas membrane (Braga *et al.*, 2007).

Aktivitas antifungi yang dimiliki tanaman serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dimungkinkan memiliki kesamaan mekanisme dengan golongan *azole*, suatu gen antifungi dimana golongan *azole* tersebut akan berinteraksi dengan C-14 α *demetilase* (enzim P-450 sitokrom) untuk menghambat demetilasi *lanosterol* menjadi *ergosterol* yang merupakan sterol penting untuk membran fungi. Proses penghambatan ini akan mengganggu fungsi jamur dan meningkatkan permeabilitas (Yusdar dkk., 2013). Berdasarkan pemaparan tersebut dapat disimpulkan bahwa kandungan zat pada minyak atsiri serai dapur mempunyai mekanisme antifungi yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Serai dapur biasanya digunakan sebagai bumbu penyedap masakan di Asia, bahan wangi-wangian, sabun dan deterjen (Ganjewala, 2009). Sedangkan citral sendiri merupakan material mentah penting yang digunakan pada industri farmasi, parfum dan kosmetik (Mirghani *et al.*, 2012). Secara biologis dan farmakologis minyak atsiri serai dapur dikembangkan dan memiliki manfaat

sebagai antiinflamasi, antikanker dan menghilangkan radikal bebas (Ganjewala, 2009). Diharapkan dari hasil penelitian ini dapat digunakan sebagai dasar untuk penelitian lebih lanjut sehingga dapat menambah nilai manfaat dari serai dapur dan dapat diaplikasikan secara klinis.

Berdasarkan hasil penelitian ini, yaitu terbentuknya zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* setelah pemberian berbagai konsentrasi minyak atsiri serai dapur kemudian diperkuat dengan hasil analisis data dan kandungan zat aktif minyak atsiri serai dapur yang mempunyai mekanisme antifungi menunjukkan bahwa hipotesis pada penelitian ini terbukti yaitu distilasi uap minyak atsiri serai dapur (*Cymbopogon citratus*) memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dengan metode difusi cakram.

