

BAB VI

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan efek antifungal ekstrak minyak atsiri kayu manis dengan ketokonazol 2% terhadap *Candida albicans* secara in vitro. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode difusi agar dengan cara sumuran. Menggunakan metode ini kita akan dapat mengetahui zona hambat dari setiap perlakuan dibandingkan satu sama lain.

Jamur yang digunakan pada penelitian ini disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Jamur diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 100x. Pada pengamatan didapatkan sel ragi berwarna ungu yang menunjukkan sifat Gram positif. Uji *Germinating Tube* dilakukan untuk membedakan spesies *Candida albicans* dengan spesies *Candida* yang lain. Dengan uji *Germinating Tube*, didapatkan gambaran pseudohifa memanjang yang hanya didapati pada *Candida albicans*. Pengamatan secara makroskopis juga dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* ada *Sabouraud Dextrose Agar*. Pada pengamatan makroskopis, terlihat koloni yang berwarna putih kekuningan pada *Sabouraud Dextrose Agar*. Pertubuhan koloni jamur *Candida albicans* juga mudah dikenali dengan aroma khas seperti tape (Suprihatin, 1982). Isolat tersebut kemudian dibuat biakan cair dengan standar kepadatan $0,5 \times 10^4$ hingga $2,5 \times 10^4$ CFU/ml.

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu kayu manis didapat dari Materia Medika Batu yang diekstrak dengan metode *soxhlet* menggunakan pelarut hexana untuk diambil minyak atsiri.

Sebelum memutuskan untuk menggunakan metode difusi agar, metode yang pertama kali digunakan adalah metode difusi tabung karena ini memungkinkan penentuan KHM dan KBM dari masing-masing perlakuan. Namun setelah dilakukan penelitian eksplorasi untuk menemukan konsentrasi minyak atsiri kayu manis yang sesuai, ditemukan bahwa minyak atsiri kayu manis menyebabkan kekeruhan pada tabung dan tidak bisa bercampur dengan pelarut yang menyebabkan pengamatan KHM tidak dapat dilakukan. Pada proses *streaking* pada media SDA juga tidak didapatkan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada semua perlakuan kecuali pada control jamur. Oleh karena itu setelah dipertimbangkan lagi, maka dilakukan penggantian metode menjadi metode difusi agar.

Pada metode difusi agar, penelitian eksplorasi dilakukan terlebih dahulu sebelum penelitian untuk mendapatkan konsentrasi perlakuan. Dari penelitian eksplorasi dapat diketahui konsentrasi yang menghasilkan diameter zona hambatan yang terlalu luas. Konsentrasi awal dimulai dari 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125% dan 0%. Pada konsentrasi 12,5%, lebar dari diameter zona hambatan sudah melebihi 30 mm dan efeknya sudah mempengaruhi daerah sumuran disekitarnya. Pada konsentrasi 6,25%, didapat bahwa ukuran diameternya cukup besar namun luas diameter yg lebar dari konsentrasi 6,25% ini kemungkinan juga terpengaruh oleh konsentrasi lain, 12,5% yang berada disebelahnya.

Setelah memikirkan beberapa pertimbangan, konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 0%,0,5%, 1%, 2%, 4% dan 8% selain tentu saja penggunaan ketokonazol 2% sebagai pembanding. Konsentrasi-konsentrasi tersebut digunakan dalam penelitian ini karena berdasarkan hasil eksplorasi awal, yaitu dikisaran 6,25%. Untuk pemilihan rentang konsentrasi kecil, ini dimaksudkan untuk menemukan konsentrasi yang sekecil mungkin untuk bisa menyaingi efektifitas ketokonazol 2%.

Berapa pun jarak antar konsentrasinya, hal pokok yang perlu ditekankan adalah mencari bukti adanya *dose-effect relationship* antara konsentrasi ekstrak minyak atsiri kayu manis dan pertumbuhan koloni *Candida albicans*.

Komponen-komponen dalam kayu manis memiliki prosentase yang bervariasi, meskipun kayu manis masih diekstrak dari satu spesies yang sama. Faktor yang menyebabkan perbedaan yang bervariasi ini antara lain bagian kayu manis yang dijadikan bahan ekstrak, lokasi dan perbedaan waktu panen, serta perbedaan metode ekstraksi. Namun secara umum, komponen terbesar dari kayu manis, serta yang paling dominan berperan sebagai agen fungitoksik adalah sinamaldehyd dan eugenol (Jham et al, 2005).

Sinamaldehyd termasuk dalam flavonoid. Sebagai antifungal, flavonoid dapat menghambat pertumbuhan jamur secara in-vitro. Flavonoid menunjukkan toksisitas rendah pada mamalia, sehingga beberapa flavonoid digunakan sebagai obat bagi manusia. Sinamaldehyd yang berperan sebagai antifungal merupakan flavonoid yang mekanisme kerjanya mengganggu proses difusi makanan ke dalam sel sehingga pertumbuhan jamur terhenti atau sampai jamur tersebut mati (Tampierri, 2005). Mekanisme ini dikarenakan flavonoid dikenal

dapat melisis membran sel. Aktivitas ini merupakan akibat dari afinitas moiety aglycone terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air (Bangdham et al, 1962). Kemampuan sinamaldehyd untuk berinteraksi dengan membran sel ini menyebabkan gangguan yang cukup berarti pada pergerakan ion proton yang dimulai karena adanya kebocoran beberapa ion yang tanpa dibarengi adanya kerusakan yang luas pada komponen sel yang lebih besar, seperti ATP. Apabila membran sel dirusak, produksi dinding sel pun akan terganggu. Akibatnya *Candida albicans* akan kehilangan integritas struktural selnya dan mati (Masood, 2006).

Komponen aktif lainnya yaitu eugenol yang merupakan golongan fenol dengan rumus kimia $C_{10}H_{12}O_2$. Satu gugus OH fenolik bebas pada lingkaran aromatik dan satu gugus OH termetilasi berperan penting dalam aktivitas eugenol dalam menghambat koloni *Candida albicans*. Aktifitas antifungal oleh golongan fenol juga tergantung pada besar gugusan alkil yang ditambahkan, yaitu semakin besar gugusan alkil tersebut maka aktivitas antifungalnya pun semakin besar. Eugenol berpotensi mengakibatkan perubahan permeabilitas dinding sel sampai pada batas tertentu dan mengakibatkan kebocoran ion potasium. Kebocoran ion potasium merupakan indikator awal terjadinya kerusakan membran sel. Selain itu, diketahui bahwa eugenol juga menghambat peningkatan level ATP yang terjadi, sehingga mengakibatkan penurunan ATP sebagai sumber energi sel (Masood, 2006). Di samping itu, sistem kerja dari eugenol dalam agen antifungal yaitu menghambat kolonisasi *Candida albicans* dalam proses pembelahan sel (Jianhua et al, 2009).

Kandungan zat-zat antifungal pada ekstrak minyak atsiri kayu manis tersebut akan menjadikan kandungan minyak atsiri kayu manis sebagai zat antifungal terhadap *Candida albicans* yang ideal.

Kayu manis (*Cinnamomum burmannii*) adalah salah satu tanaman yang digunakan sebagai bumbu di Indonesia yang manfaatnya sebagai antifungi belum banyak diaplikasikan. Penelitian pada tahun 2004 menunjukkan bahwa kandungan minyak atsiri pada kulit kayu manis mempunyai aktivitas yang kuat terhadap semua bakteri dan fungi uji seangkan minyak atsiri daun aktif terhadap semua bakteri uji tetapi tidak aktif terhadap dua marga fungi yaitu *Aspergillus* dan *Scedosporium*. (Sukandar et al., 2004).

Pada penelitian selanjutnya, Shan, Cai, Brooks, dan Corke (2007) melakukan eksplorasi efek ekstrak minyak atsiri kayu manis terhadap berbagai macam bakteri. Dari hasil penelitian tersebut, terbukti bahwa ekstrak minyak atsiri kayu manis mempunyai efek anti bakterial yang luas baik terhadap bakteri Gram-positif maupun bakteri Gram-negatif. Disana juga disebutkan bahwa komponen utama dari minyak atsiri kayu manis ada sinamaldehyd dengan kandungan yang berbeda-beda tergantung dari bagian tanaman mana asal dari minyak atsiri tersebut. Sinamaldehyd ini lah yang nantinya juga akan menjadi komponen utama dari aktifitas antifungal dan antimikroba dari minyak atsiri kayu manis.

Berdasarkan hasil-hasil penelitian terdahulu, dapat disimpulkan bahwa ekstrak minyak atsiri kayu manis mempunyai efek antifungal dan antimikroba yang cukup poten. Di lain pihak, ketokonazol 2% adalah jenis sediaan obat jamur yang biasa ditemukan dijual bebas untuk pengobatan jamur. Jadi oleh karena itu

ketokonazol 2% bisa menjadi bahan studi yang ideal untuk menjadi pembanding efektifitas antifungal dari ekstrak minyak atsiri kayu manis.

Dari penelitian uji antifungi terhadap jamur *Candida albicans* diperoleh hasil sebagai berikut. Saat dibandingkan dengan sesama minyak atsiri kayu manis, didapatkan perbedaan hasil yang signifikan antara satu konsentrasi dengan konsentrasi yang lain dengan konsentrasi 8% menghasilkan rata-rata diameter zona hambatan yang paling besar sedangkan pada konsentrasi 0% dan 0,5% sendiri tidak ditemukan pembentukkan zona hambatan. Dibandingkan dengan ketokonazol 2%, ditemukan perbedaan hasil yang signifikan antara tiap konsentrasi dengan ketokonazol 2%. Dari pengamatan ditemukan juga bahwa hanya konsentrasi 8% saja yang menghasilkan diameter yang lebih besar. Pada ketokonazol 2% sendiri ditemukan bahwa terdapat dua diameter yang ditemukan, diameter kecil zona hambatan yang bening dan diameter besar zona hambatan yang agak keruh. Pada akhirnya diputuskan untuk menggunakan data dari diameter kecil zona hambatan yang bening karena bagian bening itu menunjukkan bahwa zona itu bebas dari koloni *Candida albicans* sedangkan pada diameter yang besar walaupun terlihat tidak sekeruh pada sampel kontrol namun sedikit kekeruhan itu menunjukkan bahwa masih ditemukan pertumbuhan *Candida albicans* di dalamnya. Penyebab terjadinya peristiwa ini masih belum diketahui pasti dan diharapkan pada ke depannya akan mendapatkan penjelasan yang lebih jelas.

Karena keterbatasan alat, penelitian ini tidak bisa menunjukkan hasil yang lebih mendetail untuk mendapatkan pemahaman yang lebih mendalam tentang mekanisme kerja zat aktif minyak atsiri kayu manis dan faktor-faktor lain yang mempengaruhi dibelakangnya. Penelitian ini sendiri dilakukan bertujuan

untuk mengeksplorasi lebih lanjut mengenai efektifitas dari minyak atsiri kayu manis dibandingkan dengan ketokonazol 2% yang merupakan salah satu obat lini pertama dari pengobatan jamur. Ketokonazol 2% adalah salah satu obat antijamur golongan azol yang walaupun masih banyak ditemukan dijual bebas, namun sekarang sudah ditemukan mempunyai resistensi yang tinggi terhadap *Candida albicans* (Muller et al., 2000). Pada penelitian-penelitian sebelumnya, yang selalu menjadi pokok bahasan adalah benar apa tidaknya kayu manis mempunyai efek antifungal yang poten. Namun dari semuanya jarang yang ada membandingkan langsung efek dari minyak atsiri kayu manis terhadap obat-obat jamur yang ada di jual bebas.

Keberhasilan penelitian ini nantinya dapat digunakan sebagai dasar ilmiah terhadap terapi alternatif kandidiasis non-sistemik yang dapat dimanfaatkan oleh masyarakat luas. Hasil penelitian ini juga bisa memberikan solusi alternatif untuk terapi kandidiasis bagi masyarakat yang kurang mempercayai pengobatan konvensional dan lebih mempercayai terapi alami.

Sebelum bisa digunakan secara luas, tentu saja uji lanjutan mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping juga uji secara *in vivo* dari ekstrak minyak atsiri kayu manis sendiri masih diperlukan. Selain itu, perbedaan geografi antar negara dan antar daerah dalam satu negara perlu diperhitungkan. Begitu juga dengan metode ekstraksi yang lebih efektif masih perlu dicari. Oleh karena itu penelitian ini masih belum bisa diterapkan secara langsung dalam kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans* dan masih diperlukan penelitian lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.