

EFEK ANTIJAMUR MINYAK ATSIRI JAHE PUTIH KECIL (*ZINGIBER OFFICINALE* VAR. *AMARUM*) TERHADAP *CANDIDA ALBICANS*

Huanny Satriyani, Lakshmi A. Leepel, Antonia Tanzil

Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia

Abstract

The side effects of many antifungal drugs make it necessary to find an herbal alternative with reduced side effects. Many herbals are known to have an antifungal effect, including ginger with its volatile oil composition. However, the specific antifungal effect and optimal concentration of the volatile oil from *Zingiber officinale* var. *amarum* against *C. albicans* is not yet known. This research was done to verify the antifungal effect of *Zingiber officinale* var. *amarum* volatile oil on *C. albicans*, to determine its optimal concentration, and to determine the relation between the volatile oil concentration and the inhibition zone. Material and method: The *C. albicans* strain was obtained from Department of Parasitology, Faculty of Medicine, University of Indonesia and the volatile oil was provided by water and steam distillation at BALITRO, Bogor. The colonies were double counted in two steps. First, the volatile oil at concentrations of 100%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25%, 3.125%, 1.56% and 0.78% were applied for treatment, whereas in the second step concentrations of 100%, 90%, 80%, 70%, 60%, and 50% were used. In the disk diffusion method, the volatile oil concentrations of 100%, 70%, 60%, 50%, 25%, 12.5%, 6.25% and 3.125% were applied in triplicate in Petri dishes containing *C. albicans* by using 6 mm blank disks. Result: Mann-Whitney test showed the significant decrease of the colonies between 6.25% and 3.125% of the volatile oil concentration ($\alpha = 0.021$), and also between the volatile oil concentration 6.25% and the control group ($\alpha = 0.014$). The Spearman test showed a positive and strong correlation between the volatile oil of *Zingiber officinale* var. *amarum* and its inhibition zone ($r = 0.91$). Conclusion: The volatile oil of *Zingiber officinale* var. *amarum* has an antifungal effect against *C. albicans* with an optimal concentration of 6.25%, and increasing volatile oil concentration is followed by increasing inhibition zone.

Keywords : Volatile oil, *Zingiber officinale* var. *amarum*, *Candida albicans*, antifungal

Pendahuluan

Candida albicans dianggap sebagai spesies paling patogen dan menjadi penyebab utama terjadinya infeksi yang disebut kandidiasis.^{1,2} Meningkatnya prevalensi kandidiasis di kalangan

masyarakat dapat disebabkan oleh berbagai faktor predisposisi, antara lain rendahnya daya tahan tubuh hospes; pasien yang menjalani pengobatan dengan antibiotik spektrum luas dalam jangka panjang; iritasi kronik akibat pemakaian protesa yang tidak sesuai; pola makan yang cenderung tinggi gula.^{3,4}

Berbagai obat-obatan antijamur telah dikembangkan dengan mekanisme kerja yang berbeda-beda, antara lain dengan menghambat sintesis dinding sel dan menyebabkan kebocoran membran sel.^{1,2,5} Tetapi, beberapa kendala kemudian timbul akibat penggunaan berbagai obat antijamur yang telah beredar, seperti daya beli masyarakat yang masih rendah padahal harga berbagai obat antijamur tersebut relatif mahal; resistensi jamur terhadap beberapa jenis obat antijamur; efek samping berbagai obat antijamur bagi tubuh manusia.⁶ Misalnya resistensi terhadap amfoterisin B terjadi karena berkurangnya ikatan sterol; nistatin tidak dapat diserap tubuh, sehingga aplikasinya terbatas hanya secara topikal.⁷ Oleh karena itu, alternatif pengobatan yang dikenal masyarakat luas dengan harga terjangkau dan efek samping yang rendah sangat dibutuhkan.

Untuk memenuhi kriteria tersebut, telah dikembangkan berbagai alternatif pengobatan herbal termasuk jahe. Menurut WHO, jahe merupakan salah satu jenis obat tradisional yang banyak digunakan di dunia.⁸ Sukandar EY, dkk. (1996) telah meneliti mengenai efek antijamur minyak atsiri jahe terhadap beberapa jenis jamur patogen.⁹ Kelebihan jahe sebagai tanaman herbal yang bersifat antijamur antara lain karena keberadaannya yang telah dikenal masyarakat luas dan harganya yang juga terjangkau. Selain itu, efek samping yang ditimbulkan jahe sangat rendah, hanya ditemukan pada orang yang alergi; iritasi saluran pencernaan; pada wanita hamil dan menyusui.¹⁰

Pada penelitian sebelumnya, efek antijamur pada minyak atsiri jahe terhadap beberapa jenis jamur patogen telah dilakukan dengan mengukur zona hambat dan menentukan konsentrasi hambat minimumnya, tetapi konsentrasi optimalnya belum diketahui. Oleh karena itu, selain menentukan zona hambat yang terbentuk, penelitian ini juga dilakukan untuk menentukan konsentrasi optimal efek antijamur pada minyak atsiri jahe putih kecil terhadap *C. albicans*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek antijamur minyak atsiri jahe putih kecil terhadap *C. albicans* beserta konsentrasi optimalnya dan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil dengan zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*. Hasil penelitian ini dapat diharapkan mengembangkan manfaat tanaman tradisional Indonesia dan memberikan informasi kepada masyarakat mengenai manfaat minyak atsiri jahe putih kecil sebagai obat antijamur alternatif terhadap

C. albicans. Selain itu, data penelitian ini diharapkan dapat menjadi data awal bagi penelitian lebih lanjut.

Bahan dan Cara Kerja

Bahan

Strain *C. albicans* didapat dari Departemen Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, dengan persetujuan dari Komisi Etik Penelitian Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Indonesia dengan nomor 23/EthicalClearance/II/FKGUI/2007. Minyak atsiri jahe putih kecil didapat dari hasil pengolahan jahe putih kecil segar dengan metode destilasi kukus yang dilakukan di BALITTRO, Bogor. Media perbenihan *C. albicans* yang digunakan adalah SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan SDB (*Sabouraud Dextrose Broth*) siap pakai yang telah disterilkan.

Pembiakan dilakukan dengan menginkubasi *C. albicans* dalam larutan SDB pada suhu 37° C selama 72 jam. Setelah itu, dilanjutkan dengan pembuatan pengenceran *C. albicans* dari pengenceran 10 kali hingga pengenceran 10¹⁰ kali untuk kemudian dipilih suspensi *C. albicans* pada pengenceran yang dapat dihitung jumlah koloninya, dengan kriteria tidak terlalu padat dan tidak terlalu sedikit. Suspensi *C. albicans* dengan kriteria inilah yang digunakan dalam pengujian spesimen.

Metode Penghitungan Koloni

Pada metode penghitungan koloni, dilakukan dua tahap penelitian yaitu penelitian orientasi dan penelitian lanjutan. Pada penelitian orientasi, digunakan minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi 100 %, 50 %, 25%, 12,5 %, 6,25 %, 3,125 %, 1,56 %, dan 0,78 %. Sedangkan pada penelitian lanjutan, digunakan minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi yang lebih spesifik yaitu 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, dan 50 %.

Pembuatan berbagai konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil pada penelitian orientasi, dilakukan dengan menyiapkan delapan tabung reaksi steril yang tertutup kapas dan diberi nomor. Tabung reaksi nomor 1 diisi dengan minyak atsiri jahe putih kecil sebanyak 1,8 ml dengan menggunakan pipet Eppendorf sehingga diperoleh minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi 100 %. Masing-masing tabung reaksi nomor 2 sampai nomor 8 diisi SDB sebanyak 900 µl. Kemudian diambil 900 µl

larutan dari tabung reaksi nomor 1, dimasukkan ke dalam tabung reaksi nomor 2 sehingga diperoleh konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil sebesar 50 %. Prosedur yang sama seperti di atas dilakukan pada tabung reaksi selanjutnya sampai tabung nomor 8 sehingga didapat larutan minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,125 %, 1,56 %, dan 0,78 %. Untuk mendapatkan volume yang sama dengan larutan lainnya, 900 µl larutan dengan konsentrasi 0,78 % dibuang. Dilakukan pengemulsian untuk menyatukan minyak atsiri jahe putih kecil dan SDB mulai dari konsentrasi terkecil (0,78 %) hingga konsentrasi terbesar (100 %).

Diberikan 100 µl suspensi *C. albicans* hasil pengenceran yang sesuai dengan kriteria (suspensi *C. albicans* pada pengenceran 10³ kali) pada setiap konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil.

Digunakan tiga kontrol pada penelitian ini. Yang pertama berisi 900 µl SDB untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada media pertumbuhan jamur yang digunakan; yang kedua berisi 900 µl SDB dengan 100 µl suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10³ kali sebagai pembanding untuk melihat pertumbuhan jamur; yang ketiga sebagai kontrol minyak atsiri jahe putih kecil untuk melihat ada tidaknya kontaminasi pada larutan uji ini.

Sebanyak 10 µl larutan dari seluruh spesimen uji dan kontrol ditanam dalam cawan petri berisi SDA secara duplo dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 72 jam. Setelah itu, dilakukan penghitungan koloni dengan menggunakan *colony counter* dan dicatat.

Pada penelitian lanjutan, proses yang dilakukan sama seperti pada penelitian orientasi, tetapi dengan konsentrasi yang lebih spesifik. Pembuatan berbagai konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil pada penelitian lanjutan dapat dilihat pada Tabel 1

Tabel 1. Formula Pembuatan Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Putih Kecil

Konsentrasi	SDB	Minyak atsiri jahe putih kecil
100 %	-	900 µl
90 %	90 µl	810 µl
80 %	180 µl	720 µl
70 %	270 µl	630 µl
60 %	360 µl	540 µl
50 %	450 µl	450 µl

Metode Difusi Cakram

Dilakukan untuk menentukan zona hambat dari setiap konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil terhadap *C. albicans*. Untuk membandingkan zona hambat yang terbentuk, digunakan empat konsentrasi dari penelitian orientasi (25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,125 %) dan empat konsentrasi dari penelitian lanjutan (100 %, 70 %, 60 %, 50 %).

Sebanyak 1 ml suspensi *C. albicans* dengan pengenceran 10⁴ dimasukkan ke dalam cawan petri yang berisi 20 ml SDA, dengan menggunakan pipet Eppendorf. Suspensi *C. albicans* dalam cawan petri digoyang sampai rata lalu didiamkan beberapa saat supaya suspensi jamur terserap dalam SDA. Cara yang sama dilakukan terhadap dua cawan lainnya (triplo).

Pengujian spesimen dilakukan dengan memasukkan satu *blank disk* ke dalam cawan petri dengan posisi yang telah diatur dengan menggunakan pinset steril. Minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi 100 % diteteskan ke atas *blank disk* tersebut sedikit demi sedikit sampai terlihat jenuh (sekitar 5 µl). Hal yang sama dilakukan terhadap dua cawan lainnya. *Blank disk* berikutnya dimasukkan kembali dalam cawan petri sesuai posisi yang telah diatur, kemudian diteteskan minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi 70 %, demikian juga terhadap dua cawan lainnya. Prosedur yang sama dilakukan untuk minyak atsiri jahe dengan konsentrasi 60 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, dan 3,125 %. *Blank disk* terakhir diletakkan di tengah cawan dan ditetesi dengan larutan kontrol berupa SDB sebanyak 5 µl.

Semua cawan diinkubasi pada suhu 37° C dan diamati selama 72 jam. Zona hambat yang terbentuk pada setiap konsentrasi, diukur dengan menggunakan penggaris dan dicatat. Rumus penghitungan zona hambat dapat dilihat pada Gambar 1.



Keterangan gambar :

a - b = daerah jernih tanpa pertumbuhan *C. albicans* yang mengelilingi kertas cakram, tempat larutan minyak atsiri jahe terdifusi

b = diameter *blank disk* (6 mm)

Gambar 1. Rumus pengukuran zona hambat dengan metode difusi cakram

Hasil

Pada penelitian orientasi dilakukan pengamatan efek minyak atsiri jahe putih kecil dengan konsentrasi 100 %, 50 %, 25 %, 12,5 %, 6,25 %, 3,125 %, 1,56 %, 0,78 % terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Pertumbuhan *C. albicans* terlihat mulai dari konsentrasi 0,78 % hingga 50 %, sedangkan pada konsentrasi 100 % tidak ada pertumbuhan (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil Penghitungan Koloni *C. albicans* (CFU) Pada Penelitian Orientasi

Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Putih Kecil	Jumlah Koloni Jamur (CFU/ml)
100 %	0
50 %	25
25 %	100
12,5 %	3163
6,25 %	3638
3,125 %	15813
1,56 %	16075
0,78 %	20800
0 % (kontrol)	16800

Penelitian lanjutan diberi perlakuan yang sama dengan penelitian orientasi tetapi dengan kisaran konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil yang lebih spesifik, yaitu konsentrasi 100 %, 90 %, 80 %, 70 %, 60 %, dan 50 %. Pada penelitian ini, *C. albicans* hanya tumbuh pada konsentrasi 50 %, sedangkan pada konsentrasi lainnya, tidak nampak pertumbuhan *C. albicans* (Tabel 3). Hasil penghitungan koloni menunjukkan bahwa konsentrasi terkecil minyak atsiri jahe putih kecil tanpa pertumbuhan *C. albicans* terletak pada konsentrasi 60 %.

Tabel 3. Hasil Penghitungan Koloni *C. albicans* (CFU) Pada Penelitian Lanjutan

Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Putih Kecil	Jumlah Koloni Jamur (CFU/ml)
100 %	0
90 %	0
80 %	0
70 %	0
60 %	0
50 %	30

Tampak adanya penurunan tajam jumlah koloni *C. albicans* dari konsentrasi 3,125 % ke konsentrasi 6,25 %, dengan jumlah koloni yang lebih sedikit dibanding kontrol. Analisis data dengan uji Mann Whitney ($\alpha = 0,021$) menunjukkan perbedaan yang bermakna antara kedua konsentrasi tersebut. Selain itu, analisa data dengan uji Mann Whitney ($\alpha = 0,014$) juga menunjukkan perbedaan bermakna antara konsentrasi 6,25 % dan 0 % (kontrol).

Selain penghitungan koloni, digunakan juga metoda difusi cakram dengan *blank disk*. Zona hambat pada metoda difusi cakram ini sudah mulai terbentuk pada konsentrasi 3,125 %, sebesar 0,125 mm, sedangkan zona hambat terbesar terbentuk pada konsentrasi 100 %, sebesar 7,585 mm (Tabel 4).

Tabel 4. Hasil Penghitungan Zona Hambat Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Putih Kecil Terhadap *C. albicans*

Konsentrasi Minyak Atsiri Jahe Putih Kecil	Diameter Zona Hambat (mm)	Zona Hambat (mm)
100%	15,17	7,585
70%	13,54	6,77
60%	5,75	2,875
50%	5,71	2,855
25%	2,04	1,02
12,5%	0,58	0,29
6,25%	0,33	0,165
3,125%	0,25	0,125
0 % (kontrol)	0	0

Dari hasil penelitian ini terlihat bahwa peningkatan konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil diikuti oleh peningkatan besarnya zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*. Analisis data dengan uji Spearman ($r = 0,91$) menunjukkan korelasi yang positif dan kuat antara konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil dengan zona hambat yang terbentuk.

Pembahasan

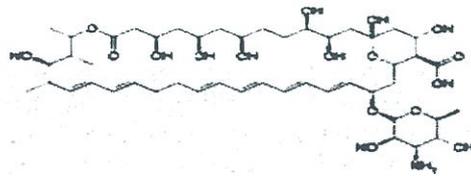
Pada penelitian orientasi dengan metode penghitungan koloni, ternyata pada konsentrasi 50 % masih terjadi pertumbuhan *C. albicans*, sedangkan *C. albicans* sudah tidak tumbuh lagi pada konsentrasi 100 %, sehingga untuk mendapatkan kisaran konsentrasi yang lebih spesifik perlu dilakukan

penelitian lanjutan. Dari hasil penghitungan koloni *C. albicans* pada penelitian lanjutan, terlihat konsentrasi terkecil minyak atsiri jahe putih kecil yang bersifat fungisid terletak pada konsentrasi 60 %. Konsentrasi optimal minyak atsiri jahe putih kecil yang memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* terletak pada konsentrasi 6,25 %. Hal ini ditunjukkan oleh adanya penurunan jumlah koloni *C. albicans* yang tajam pada konsentrasi 6,25 % bila dibandingkan dengan jumlah koloni *C. albicans* pada konsentrasi 3,125 %. Uji Mann Whitney juga menunjukkan perbedaan bermakna antara kedua konsentrasi tersebut dengan $\alpha < 0,05$. Penurunan koloni yang tajam pada konsentrasi 6,25 % tersebut juga efektif bila dihubungkan dengan kontrol. Uji Mann Whitney menunjukkan perbedaan bermakna antara konsentrasi 6,25 % dengan kontrol ($\alpha < 0,05$).

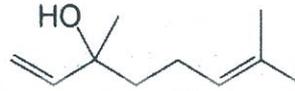
Pada metode pengukuran zona hambat berbagai konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil terhadap *C. albicans*, hubungan antara konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil dengan besarnya zona hambat yang terbentuk berbanding lurus. Hal ini menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil diikuti dengan peningkatan besarnya zona hambat yang terbentuk. Hasil uji Spearman untuk mengetahui korelasi kedua variabel ini menunjukkan korelasi yang kuat dan positif dengan $r > 0,5$.

Penelitian sebelumnya mengenai efek antijamur minyak atsiri jahe terhadap *C. albicans* yang dilakukan oleh Sukandar EY, dkk menunjukkan terbentuknya zona hambat sebesar 9,5 mm pada konsentrasi minyak atsiri jahe 100 %, sedangkan pada penelitian ini terbentuk zona hambat sebesar 7,585 mm pada konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil 100 %. Perbedaan tersebut dapat disebabkan oleh beberapa hal, antara lain perbedaan jenis jahe yang digunakan, perbedaan volume minyak atsiri yang diteteskan ke *blank disk*, dan perbedaan banyaknya suspensi *C. albicans* yang ditanam dalam SDA.

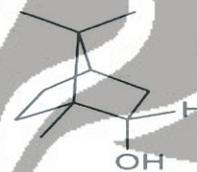
Dari hasil penelitian ini, diperkirakan bahwa minyak atsiri jahe putih kecil yang mengandung seskuiterpen dan monoterpen memiliki senyawa fenol dan alkohol yang bersifat antijamur terhadap *C. albicans*.^{11,12,13} Komponen minyak atsiri jahe ini mempunyai gugus -OH yang sama dengan nistatin sehingga diduga cara kerjanya sebagai antijamur sama seperti nistatin, yaitu dengan cara mengikat sterol (ergosterol) pembentuk membran sel jamur sehingga terjadi kebocoran membran sel dan akhirnya menyebabkan kematian sel.^{6,7} Gugus kimia nistatin dan beberapa gugus kimia senyawa dalam minyak atsiri dapat dilihat dari Gambar 2-5.



Gambar 2. Gugus kimia nistatin¹⁴



Gambar 3. Gugus kimia linalool (monoterpen asiklik alkohol)¹⁵



Gambar 4. Gugus kimia borneol¹⁶



Gambar 5. Gugus kimia zingiberol¹⁷

Kesimpulan dan Saran

Dari hasil penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri jahe putih kecil memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans*. Konsentrasi optimal minyak atsiri jahe putih kecil yang memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* terletak pada konsentrasi 6,25 %. Dengan metode difusi cakram, dapat disimpulkan bahwa peningkatan konsentrasi minyak atsiri jahe putih kecil diikuti dengan peningkatan besarnya zona hambat yang terbentuk terhadap *C. albicans*.

Untuk mengetahui efek antijamur minyak atsiri jahe putih kecil yang lebih pasti, perlu dilakukan penelitian secara *in vivo* dan diteliti efeknya terhadap jamur patogen lainnya. Selain itu, untuk melihat keefektifannya sebagai obat antijamur alternatif, perlu dilakukan perbandingan dengan obat antijamur standar seperti nistatin dan amfoterisin B.

Daftar Acuan

1. Suprihatin SD. *Candida dan Candidiasis pada Manusia*. Jakarta : FKUI. 1982: 3–19, 25–32.
2. Ridhawati. Mengenal Jamur *Candida* spp sebagai penyebab keputihan. *Kumpulan Makalah Ilmiah Bagian Parasitologi FK UI*. 1994: 195-202.
3. Lynch MA, Brightman VJ, and Greenberg MS. *Burket's Oral Medicine, Diagnosis and Treatment*. 8th ed. Philadelphia: JB Lippincott Company. 1984. pp. 221–236.
4. Malcolm W. *How Do We Get Candida? Candida vs. Healthy Bacteria – The Ongoing Battle*. <http://www.puristat.com/candida/05/11/2007>.
5. *Candidiasis (Profesional Guide to Diseases)*. <http://www.wrongdiagnosis.com/o/oral/thrush/book-diseases-7a.htm>. 09/07/2007.
6. Clark AM, Walker LA. *Biologically Active Natural Products : Pharmaceuticals*; Cutler S.J., Cutler HG. (ed). London: CRC Press.2000. pp. 95–105.
7. Katzung BG. *Basic and Clinical Pharmacology*. 7th ed. London: Prentice Hall International.1998. pp. 780–786.
8. Polasa K dan Nirmala K. *Ginger: Its Role in Xenobiotic Metabolism*. <http://icmr.nic.in/BUJUNE03new.pdf>. 2003. 18/07/2007.
9. Sukandar EY, Suganda AG, dan Afrida. Penapisan aktivitas minyak atsiri dari *Zingiber officinale* terhadap bakteri dan jamur. *Simposium Penelitian Bahan Obat Alami VIII*. 1996. hal. 420–423.
10. Ginger: Safety and Interactions. <http://www.enotalone.com/article/9300.html> 11/12/2007.
11. *Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods*. <http://www.kmitl.ac.th/sisc/GC-MS/paper/food%20no1.pdf> 19/07/2007.
12. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, et al. *Fundamentals of Pharmacognosy and Phytotherapy*. London : Churcill Livingstone. 2004. pp. 78– 82.
13. Wagner dikutip dari *Tumbuhan Obat sebagai Antijamur*. <http://www.kalbe.co.id/files/cdk/files/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntijamur130.pdf/11InformasiTumbuhanObatsebagaiAntijamur130.htm> 12/06/2007.
14. Wikipedia, the free encyclopedia. *Nystatin*. <http://www.wikipedia/antifungal drug/nystatin>. 22/11/2007.
15. Wikipedia, the free encyclopedia. *Linalool*. <http://www.wikipedia.org/wiki/linalool>. 16/08/2007.
16. Wikipedia, the free encyclopedia. *Borneol*. <http://www.wikipedia.org/wiki/borneol>. 16/08/2007.
17. Wikipedia, the free encyclopedia. *Zingiberenol*. <http://www.wikipedia.org/wiki/zingiberenol>. 16/08/2007.