

POTENSI ANTIFUNGI EKSTRAK KAYU MANIS (*Cinnamomum burmanii*)

TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA *in Vitro*

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Afandi Dwi Harmoko

G.0008043

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS SEBELAS MARET**

Surakarta

2012
commit to user

PENGESAHAN SKRIPSI

Skripsi dengan judul : Potensi Antifungi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *in Vitro*

Afandi Dwi Harmoko, NIM : G0008043, Tahun : 2012

Telah diuji dan sudah disahkan di hadapan **Dewan Penguji Skripsi**

Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta

Pada Hari Rabu, Tanggal 11 Januari 2012

Pembimbing Utama

Nama : Darukutni, dr., Sp. ParK. (.....)
NIP : 19470809 197603 1 001

Pembimbing Pendamping

Nama : Sri Haryati, dra., M.Kes (.....)
NIP : 19610120 198601 2 001

Penguji Utama

Nama : Cr Siti Utari, dra., M.Kes (.....)
NIP : 19540505 198503 2 001

Penguji Pendamping

Nama : Leli Saptawati, dr., Sp.MK (.....)
NIP : 19761227 200501 2 001

Surakarta, _____

Ketua Tim Skripsi

Dekan FK UNS

Muthmainah, dr., M.Kes.

NIP 19660702 199802 2 001

Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp.PD-KR-FINASIM

NIP 19510601 197903 1 002

PERNYATAAN

Dengan ini menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi, dan sepanjang pengetahuan penulis juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.



Surakarta, _____ 2012

Afandi Dwi Harmoko
NIM. G0008043

ABSTRAK

Afandi Dwi Harmoko, G.0008043, Tahun 2011. Potensi Antifungi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* secara *in Vitro*. **Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.**

Tujuan Penelitian: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar potensi antifungi dari ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

Metode Penelitian: Metode penelitian menggunakan eksperimental laboratorium. Subjek penelitian adalah biakan *Candida albicans* dan diambil secara *random sampling*. Penelitian ini menggunakan 11 kelompok perlakuan, yaitu etanol sebagai kontrol negatif, ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% dan 100%, serta *fluconazole* 25 µg sebagai kontrol positif. Penelitian diulang tiga kali untuk mengecilkan terjadinya bias. Cawan petri kemudian disimpan pada suhu kamar selama 24 jam dan diukur diameter zona hambat yang terbentuk. Data yang diperoleh dianalisis dengan uji Kruskal-Wallis dilanjutkan uji *post-hoc* Mann Whitney dengan menggunakan SPSS 17,0 for Windows.

Hasil : Hasil analisis statistik dengan uji Kruskal-Wallis menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada kesebelas kelompok perlakuan ($p < 0,05$). Zona hambat yang dihasilkan semakin meningkat seiring dengan meningkatnya konsentrasi. Kelompok kontrol negatif maupun positif menunjukkan perbedaan yang signifikan dengan semua kelompok.

Simpulan : Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) menunjukkan zona hambatan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* mulai konsentrasi 10% sampai 100%, namun zona hambatan yang ditimbulkan masih lebih kecil apabila dibandingkan dengan minyak atsiri kayu manis dan *fluconazole* 25µg/ml.

Kata kunci : Potensi Antifungi, Ekstrak Kayu Manis, *Candida albicans*

ABSTRACT

Afandi Dwi Harmoko, G.0008043, 2011. Antifungal Potential of Cinnamon Extract (*Cinnamomum burmanii*) against *Candida albicans* Growth *in Vitro*. Faculty of Medicine, Sebelas Maret University, Surakarta.

Research Objective: The aim of this research to determine antifungal potential of cinnamon extract (*Cinnamomum burmanii*) against *Candida albicans* growth *in vitro*.

Research Method: The research was performed as experimental laboratory. The subject of this research were cultured of *Candida albicans* and taken by randomized sampling. This research used 11 treatment groups, there were ethanol as negative control, cinnamon extract with concentration of 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80% and 100 %, and also fluconazole 25 mg as positive control. This research was repeated by three times to minimize the occurrence of bias. The plate was kept at room temperature for 24 hours and then inhibitory diameter zone formed was measured. The data was analyzed by Kruskal-Wallis test and then continued by post-hoc Mann Whitney test on SPSS 17.0 for Windows.

Research Results: The results of statistical analysis using Kruskal-Wallis test showed that there are significant differences on eleven treatment group. The inhibition diameter increased with increasing concentrations. Negative and positive control group showed a significant difference in all groups.

Research Conclusion: Cinnamon extract (*Cinnamomum burmanii*) showed inhibition zone on *Candida albicans* growth *in vitro* start on concentration of 10% up to 100%, but that inhibition zone less than cinnamon oil and fluconazole 25µg/ml.

Keywords: Antifungal Potential, Cinnamon Extract, *Candida albicans*

PRAKATA

Syukur Alhamdulillah ke hadirat Allah SWT atas segala karunia dan rahmat yang dilimpahkanNya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “Potensi Antifungi Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* secara *in Vitro*”. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar Sarjana Kedokteran di Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari segala bimbingan serta bantuan dari berbagai pihak yang penulis terima. Untuk itu perkenankanlah dengan setulus hati penulis menyampaikan rasa terima kasih kepada:

1. Prof. Dr. Zainal Arifin Adnan, dr., Sp.PD-KR-FINASIM, selaku Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.
2. Muthmainah, dr., M.Kes, selaku Ketua Tim Skripsi Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
3. Darukutni, dr., Sp.Park, selaku Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi bagi penulis.
4. Sri Haryati, dra., M.Kes, selaku Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, dan motivasi bagi penulis.
5. Cr Siti Utari, dra., M.Kes, selaku Penguji Utama yang telah memberikan saran, nasehat, dan melengkapi kekurangan dalam penulisan skripsi ini.
6. Leli Saptawati, dr., Sp.MK, selaku Penguji Pendamping yang telah memberikan saran, nasehat, dan melengkapi kekurangan dalam penulisan skripsi ini.
7. Bagian skripsi Fakultas Kedokteran UNS, yang telah berkenan memberikan informasi dan bimbingan dalam penyusunan skripsi ini.
8. Dosen dan Staf Laboratorium Parasitologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran UNS.
9. Ibu (Sumiwi), Ayah (Tukino), dan kakak (Andri Kusuma H & Elfina Yuke K) dan keponakanku (Naura Ardelia H) yang selalu menjadi motivasi terbesar penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
10. Pendidikan Dokter 2008, Kos An-Nur Putra, Bu Jamilah, Pak Roto sekeluarga, Yasjudan, Dimas Yuliar, Alvin, Digdo, Novian dan lain-lain.
11. Keluarga di Kastrat de Geneeskunde, terutama Sekre's Angel (Mustiqa, Muvida, Rizka, Putri) yang mengusir kegalauan menjelang deadline.
12. Semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu, yang telah membantu dalam penyusunan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih jauh dari sempurna. Maka penulis mengharapkan kritik serta sumbang saran di masa mendatang untuk peningkatan karya ini. Semoga karya sederhana ini bermanfaat bagi semua.

Surakarta, _____2012

commit to user

Afandi Dwi Harmoko

DAFTAR ISI

	hal.
PRAKATA	vi
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah.....	1
B. Perumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian	5
BAB II LANDASAN TEORI	
A. Dasar Teori.....	7
B. Kerangka Pemikiran	20
C. Hipotesis	21
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Jenis Penelitian	22
B. Lokasi Penelitian	22
C. Waktu Penelitian	22
D. Subjek Penelitian	22
E. Teknik Sampling	23
F. Identifikasi Variabel	23
G. Skala Variabel	24
H. Definisi Operasional Variabel	24
I. Instrumen Penelitian	25
J. Cara Kerja Penelitian	26
K. Desain Penelitian	32
L. Teknik Analisis Data	33
BAB IV HASIL PENELITIAN	
A. Hasil Penelitian	35
B. Analisis Data	38
BAB V PEMBAHASAN	41
BAB VI SIMPULAN DAN SARAN	
A. Simpulan	44
B. Saran	44
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan pada Uji Pendahuluan.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan pada Uji Penelitian.

Tabel 3. Ringkasan Hasil Uji *post-hoc* Mann Whitney.



commit to user

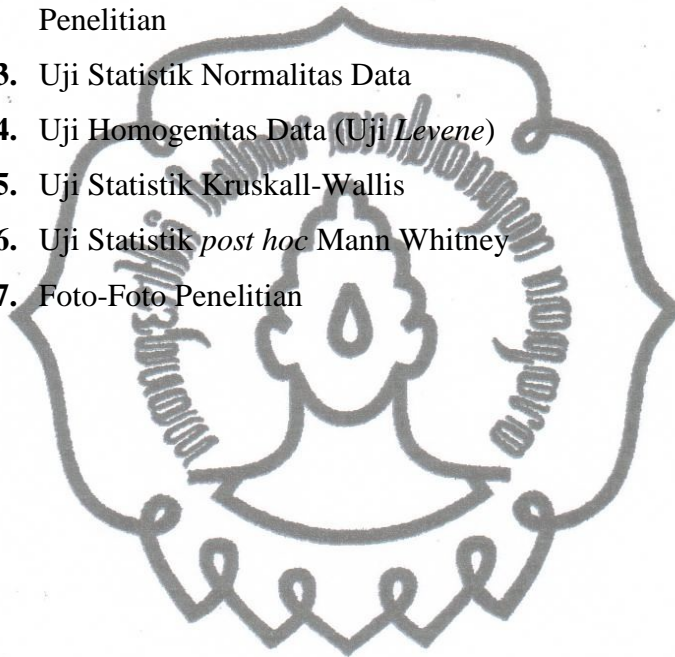
DAFTAR GAMBAR

- Gambar 1.** Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii*).
- Gambar 2.** Potensi antifungi minyak kayu manis dibandingkan minyak lain terhadap penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*.
- Gambar 3.** Skema Kerangka Pemikiran
- Gambar 4.** Skema Alur Kerja Tahap Uji Pendahuluan
- Gambar 5.** Skema Alur Kerja Tahap Uji Penelitian
- Gambar 6.** Grafik Batang Rata-rata Diameter Zona Hambat pada Masing-masing Kelompok Perlakuan



DAFTAR LAMPIRAN

- Lampiran 1.** Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan pada Uji Pendahuluan
- Lampiran 2.** Tabel Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan pada Uji Penelitian
- Lampiran 3.** Uji Statistik Normalitas Data
- Lampiran 4.** Uji Homogenitas Data (Uji *Levene*)
- Lampiran 5.** Uji Statistik Kruskal-Wallis
- Lampiran 6.** Uji Statistik *post hoc* Mann Whitney
- Lampiran 7.** Foto-Foto Penelitian



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Candidiasis merupakan salah satu infeksi nosokomial yang penting di seluruh dunia dengan angka morbiditas, mortalitas dan pembiayaan kesehatan yang cukup tinggi (Simatupang, 2009). Di negara berkembang, seperti Indonesia, insidensi kejadian *candidiasis* masih sangat tinggi (Adiguna, 2001). Kementerian Kesehatan Republik Indonesia melaporkan adanya 6.605 kasus *oropharyngeal candidiasis* pada 22.726 penderita AIDS pada bulan September 2010 (Departemen Kesehatan RI, 2010). Sedangkan *vaginal candidiasis* ditemukan pada 13% dari 250 wanita penaja seks di Bandung (Silfanus *et al*, 2005).

Candidiasis pertama kali didapatkan di dalam mulut sebagai *oral thrush* yang dilaporkan oleh Francois Valleix (1836). Langerbach (1839) menemukan jamur penyebab *oral thrush*, kemudian Berhout (1923) memberi nama organisme tersebut *Candida* (Kuswadji, 2007). Lebih dari 150 spesies *Candida* telah diidentifikasi (Anaissie, 2007).

Candida adalah anggota flora normal terutama pada saluran pencernaan, selaput mukosa saluran pernafasan, vagina, uretra, kulit dan di bawah kuku jari-jari tangan dan kaki. Di tempat-tempat ini pertumbuhan *Candida albicans* dapat menjadi dominan dan menyebabkan keadaan-keadaan patologik ketika daya tahan tubuh menurun baik secara lokal maupun sistemik (Tortora, 2004).

commit to user

Beberapa kondisi yang dapat menyebabkan jamur *candida* tumbuh berlebihan (*overgrowth*) terjadi pada pasien yang mengalami penurunan sistem imun (*immunocompromized*), misalnya pada kondisi stres psikis, pasien AIDS, defisiensi gizi, maupun pada pasien dengan pengobatan kanker atau transplantasi. Penyakit sistemik, seperti diabetes melitus dan penggunaan antibiotik juga dilaporkan dapat menyebabkan peningkatan risiko terjadinya *candidiasis* (Tjampakasari, 2006).

Candidiasis dapat bermanifestasi secara superfisial, seperti pada *oral thrush* dan *vulvovaginal candidiasis*, maupun secara sistemik dan berpotensi menjadi penyakit yang mengancam jiwa, misalnya: *candidemia*, endokarditis, meningitis, *hepatoplenic candidiasis* dan *candida pyelonephritis*. *Candidiasis* kronik dapat bermanifestasi sebagai *candidemia*. Penyebaran jamur *candida* melalui darah tercatat telah menyebabkan kematian sebanyak 30-40%, walaupun telah dilakukan perawatan intensif (Gudlaugsson *et al*, 2003). *Candida* juga terbukti dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, tromboflebitis, endokarditis, atau infeksi pada mata dan organ-organ lain bila masuk ke dalam aliran intravena (Arnita, 2007).

Saat ini, pengobatan standar yang saat ini digunakan terhadap *candidiasis* yang paling banyak diberikan adalah golongan *azole*, seperti *fluconazole*. Obat ini ditujukan untuk menghambat sintesis ergosterol yang merupakan komponen penting membran sel jamur (Arnita, 2007). Namun, akses masyarakat Indonesia terhadap pengobatan yang baik masih tergolong kurang. Hal ini disebabkan karena harga obat yang kurang terjangkau bagi sebagian kalangan

(Hidayat, 2005). Selain itu, penggunaan obat antifungi, seperti golongan *azole* dalam jangka panjang akan menyebabkan peningkatan resistensi terhadap obat tersebut (Khodavandi A *et al*, 2009). *Candida albicans* terbukti telah menunjukkan resistensi terhadap obat antifungi dengan angka kejadian 40% dari penderita *candidiasis* (Ramali dan Werdani, 2001; Carrodegua *et al*, 2002). Penelitian yang dilakukan oleh Sanguineti *et al* (1993) membuktikan bahwa *Candida albicans*-resisten *fluconazole* muncul setelah penggunaan *fluconazole* selama 600 hari. Oleh karena itu, penggunaan alternatif pengobatan mulai dikembangkan, terutama pengobatan herbal. Pengobatan herbal tersebut umumnya menggunakan bahan-bahan yang relatif mudah didapatkan dan tumbuhannya mudah dikembangbiakkan sehingga masyarakat lebih mudah mendapatkannya (Ariyani *et al*, 2007).

Pengobatan herbal yang berpotensi sebagai alternatif pengobatan *candidiasis* di antaranya adalah kayu manis (*Cinnamomum burmanii*). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Pratiwi (2007), daya hambat minyak atsiri *Cinnamomum burmanii* dengan konsentrasi 1% (25,5 mm); 1,5% (25,75 mm); 2% (36,5 mm); 2,5% (40 mm); dan 3% (48,5 mm) terbukti jauh lebih tinggi daripada *fluconazole* kadar 25µg (20,5 mm). Minyak atsiri kayu manis mengandung senyawa lipofilik berupa *benzoic acid*, *benzaldehyde* dan *cinnamic acid* (Ramos-Nino *et al*, 1996). Selain itu, minyak atsiri kayu manis juga mengandung *trans-cinnamaldehyde* (60-75%) dan eugenol (4-8%) (Paimin dan Rismunandar, 2001; Ranasinghe *et al*, 2002). Senyawa-senyawa ini terbukti sangat poten sebagai antimikroba dan tingkat kelarutan airnya

sangat rendah (tingkat kelarutan lemaknya tinggi), sehingga sangat mudah diabsorpsi oleh jaringan (Charai *et al*, 1996). Aktivitas senyawa-senyawa tersebut juga didukung oleh adanya *cinnamyl acetate* (8,7%) dan *o-methoxycinnamaldehyde* (0,79%) (Senhaji *et al*, 2004; Gupta *et al*, 2008; *The Good Scents Company*, 2011). Namun, pemanfaatan minyak atsiri kayu manis hanya terbatas pada penggunaan secara topikal (eksternal) (Prescott dan Campbell, 2000; Crow, 2004). Oleh karena itu, diharapkan adanya pemanfaatan dari ekstrak kayu manis yang dapat digunakan sebagai pengobatan internal pengganti obat-obatan sintetik.

Bentuk ekstrak dari kayu manis juga telah dibuktikan efektif terhadap beberapa fungi. Beberapa fungi tersebut adalah *Alternaria sp.*, *Aspergillus fumigatus*, *A. niger*, *Penicillium sp.*, dan *Rhizomucor sp.* (Gupta *et al*, 2008). Dalam penelitian ini, teknik ekstraksi yang digunakan adalah teknik ekstraksi maserasi dengan penyari etanol. Penggunaan teknik ini didasarkan pada kandungan senyawa dari kayu manis, yaitu *o-methoxycinnamaldehyde*. Senyawa aktif ini bersifat lebih mudah larut dalam etanol daripada pelarut lain seperti hexan dan metanol (Senhaji *et al*, 2004). Oleh karena itu, penggunaan ekstrak kayu manis terhadap pertumbuhan *Candida albicans* tersebut perlu diteliti dengan tujuan untuk mengetahui bentuk sediaan yang paling efektif untuk dimanfaatkan sebagai terapi internal antifungi terhadap *Candida albicans*, sehingga potensi kayu manis dapat dioptimalkan untuk digunakan oleh masyarakat luas.

B. Perumusan Masalah

Bagaimana potensi antifungi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui seberapa besar potensi antifungi dari ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

D. Manfaat Penelitian

1. Aspek Teoritik

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai potensi antifungi ekstrak dari kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

2. Aspek Aplikatif

- a. Untuk peneliti: penelitian ini diharapkan dapat menjadi referensi untuk dilakukan penelitian selanjutnya.
- b. Untuk masyarakat: sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat untuk menggunakan pengobatan herbal karena penggunaan obat-obatan sintetik terbukti mulai menimbulkan resistensi.
- c. Untuk perusahaan farmasi: hasil penelitian berupa potensi antifungi dari ekstrak kayu manis diharapkan nantinya dapat diaplikasikan untuk

masyarakat, sehingga ekstrak kayu manis dapat menjadi salah satu produk yang dikembangkan oleh perusahaan farmasi.

- d. Untuk petani setempat: dengan adanya penggunaan ekstrak kayu manis, diharapkan pendapatan petani kayu manis setempat dapat meningkat sekaligus dapat membuka peluang pekerjaan baru bagi masyarakat.



BAB II

LANDASAN TEORI

A. Dasar Teori

1. *Candida albicans*

a. Taksonomi

- 
- 1) Kingdom : *Fungi*
 - 2) Subkingdom : *Dikarya*
 - 3) Filum : *Ascomycota*
 - 4) Subfilum : *Saccharomycotina*
 - 5) Kelas : *Saccharomycetes*
 - 6) Ordo : *Saccharomycetales*
 - 7) Famili : *Saccharomycetaceae*
 - 8) Genus : *Candida*
 - 9) Spesies : *Candida albicans*

(National Center for Biotechnology Information, 2011)

b. Sinonim

Candida stellatoidea (National Center for Biotechnology Information, 2011); *Oidium albicans* (Barnett, 2004)

c. Deskripsi

Candida spp. merupakan fungi oportunistik yang normal ditemukan pada mulut orang sehat. Selain itu, *Candida* spp. juga berkoloni pada

commit to user

mukosa, kulit, dan saluran pencernaan. *Candida albicans* merupakan spesies yang paling banyak ditemukan (Moris *et al*, 2008).

Koloni *Candida albicans* pada media *Sabouraud Dekstrosa Agar* (SDA) setelah diinkubasi pada temperatur 37°C selama 48 jam berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, licin, berwarna krem, halus, berbentuk pasta, berbau asam, dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat pada koloni yang sudah tua (Geo *et al*, 2004).

Candida albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang memanjang dan membentuk pseudohifa. Selain itu, sel tunas juga dapat berkembang menjadi blastospora. Pada tahap selanjutnya, blastospora akan berubah menjadi klamidospora (Tjampakasari, 2006).

Pertumbuhan *Candida albicans* optimal pada pH 4,5-6,5 dan suhu 28°-37° C. Untuk pertumbuhan maupun proses metabolismenya, fungi tersebut membutuhkan karbohidrat sebagai sumber karbon (Tjampakasari, 2006)

Jamur tersebut merupakan organisme fakultatif anaerob. Dalam kondisi aerob, *Candida albicans* mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam proses metabolismenya. Sedangkan pada kondisi anaerob, metabolismenya menghasilkan hasil fermentasi berupa asam laktat, etanol, dan CO₂ (Tjampakasari, 2006).

d. Patofisiologi

Penyakit *candidiasis* merupakan infeksi oportunitis yang disebabkan karena pertumbuhan jamur genus *Candida* yang berlebihan.

Pertumbuhan berlebihan *Candida albicans* biasa terjadi pada pasien *immunocompromized* akibat kondisi tertentu, di antaranya: kehamilan, kontrasepsi oral, diabetes, terapi steroid, maupun endokrinopati (Habif, 2004). Pemberian antibiotika yang menurunkan jumlah flora normal juga dapat menyebabkan pertumbuhan berlebih dari *Candida albicans* sehingga mampu menginvasi epitel usus maupun kapiler darah (Moris *et al*, 2008).

Faktor virulensi utama *Candida albicans* adalah kemampuannya untuk memproduksi dan mensekresikan enzim aspartil protease yang dapat mencerna protein *host*. Penelitian pada hewan coba memperlihatkan aktivitas protease yang secara langsung berpengaruh terhadap patogenesisnya. Aktifitas enzim protease dari spesies ini menunjukkan virulensi yang lebih tinggi dibandingkan dengan spesies *Candida* lainnya (Waltimo *et al*, 2003).

Virulensi *Candida albicans* juga berhubungan dengan kemampuan untuk melakukan perubahan fenotip, yang berperan untuk adaptasi terhadap lingkungan sekitar. Perubahan fenotip tersebut meliputi perubahan morfologi maupun aktivitas protease yang disekresinya. Perubahan ini dikenal sebagai *switching fenotipic* (Waltimo *et al*, 2003). Bentuk *yeast* dari *Candida albicans* lebih banyak ditemukan dalam bentuk komensal, sedangkan bentuk hifa lebih terlihat saat terjadi infeksi oportunistik (Hogan dan Kolter, 2002). Bentuk hifa menyebabkan *Candida albicans* lebih mudah melakukan penetrasi ke dalam jaringan

sehingga meningkatkan mortalitas pada penelitian *iv vivo*. Hal ini disebabkan karena dalam bentuk hifa, produk gen-terkait virulensi sangat meningkat (Calderone dan Fonzi, 2001). Kondisi ini menyebabkan hifa *Candida albicans* akan memiliki kemampuan tigmotropisme sehingga dapat tumbuh sepanjang lekukan atau lubang yang ada di sekitarnya (Waltimo *et al*, 2003). Perubahan bentuk tersebut dipengaruhi beberapa faktor, yaitu: pH (optimal pada pH 4,5-6,5), ketersediaan cadangan makanan, suhu (optimal pada 28°-37° C), dan faktor kimiawi (misalnya steroid) (Brown, 2002).

Candida albicans secara superfisial dapat menyerang *stratum corneum* dari epitel mukosa dan kulit, seperti pada *vaginal candidiasis*. Infeksi biasanya terjadi pada daerah mukosa dan lipatan kulit yang bersifat hangat dan lembab. Infeksi tersebut menimbulkan gejala yang berbeda pada setiap daerah yang diinfeksi (Kumamoto, 2005).

Aktivitas adhesi dari *Candida albicans* diperankan oleh manan, manoprotein, dan khitin. Setelah melakukan adhesi, fungi tersebut dapat melakukan invasi melalui endotel pembuluh darah untuk kemudian melakukan migrasi ke jaringan lain, misalnya otak, ginjal, jantung, hepar, dan paru-paru. Kondisi tersebut disebut dengan *systemic candidiasis*. Secara histologis, pada jaringan yang terinfeksi akan tampak hifa dari *Candida albicans* dan beberapa bentuk *yeast*. Tampak pula nodul sklerotik multipel dan abses yang mengakibatkan kerusakan organ tersebut dan akhirnya mengakibatkan kegagalan fungsi organ yang

terinfeksi. Respon imun yang diperankan oleh sel fagosit, terutama neutrofil dan makrofag sangat berperan dalam mencegah penyebaran infeksi *Candida albicans* di dalam tubuh. Oleh karena itu, mayoritas *systemic candidiasis* terjadi pada neutropenia atau kerusakan fungsi neutrofil dan makrofag lainnya (Grubb *et al*, 2008).

e. *Systemic Candidiasis*

1) *Candidemia*

Systemic candidiasis yang paling umum terjadi adalah *candidemia*. *Candidemia* didefinisikan sebagai ditemukannya jamur *candida* di dalam darah. Penyebaran secara hematogen kemudian dapat diikuti dengan pembentukan mikroabses di berbagai organ. *Candida albicans* telah diketahui menjadi penyebab kasus keracunan darah pada pasien rumah sakit sebanyak 15% (Kuswadji, 2007).

2) Endokarditis

Endokarditis sering terdapat pada penderita morfinis sebagai akibat komplikasi penyuntikan yang dilakukan sendiri. Penyakit ini juga dapat diderita oleh penderita pasca operasi jantung (Kuswadji, 2007).

3) Meningitis

Meningitis terjadi karena penyebaran hematogen dari jamur. Gejala yang terjadi mirip dengan meningitis karena infeksi tuberkulosis maupun bakteri lain (Kuswadji, 2007).

4) *Hepatosplenic Candidiasis*

Hepatosplenic candidiasis dapat terjadi pada pasien dengan neutropenia berat, terutama pada leukemia akut. Gejala yang ditimbulkan berupa demam, hepatosplenomegali dan peningkatan konsentrasi fosfatase alkali dalam darah. Pada pemeriksaan histopatologi menunjukkan kerusakan luas pada hepar, lesi nekrotik dan abses limpa yang mengandung pseudohifa (Kuswadji, 2007).

5) *Candida Pyelonephritis*

Candida pyelonephritis umumnya berupa infeksi yang berasal dari saluran kencing bagian bawah yang naik melalui ureter, kandung kemih dan uretra. *Candida pyelonephritis* juga dapat disebabkan karena penyebaran jamur *candida* secara hematogen dari organ lain. Gejala yang terjadi umumnya demam, kaku, sakit pada pinggang dan perut (Kuswadji, 2007).

f. Pengobatan

Pengobatan *candidiasis* meliputi pengobatan sistemik maupun pengobatan topikal. Salah satu obat antijamur yang sering digunakan adalah golongan *imidazole* dan *triazole* yang mempunyai spektrum luas. Obat tersebut mampu menghambat pembentukan ergosterol dengan cara mengganggu kerja *lanosterol 14 α -demethylase*, yang merupakan sitokrom P₄₅₀ yang berfungsi untuk mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Berkurangnya jumlah ergosterol menyebabkan instabilitas dan hiperpermeabilitas membran sel fungi (Setyabudi dan Bahry, 2007).

Kelompok *imidazole* terdiri atas *ketokonazole*, *mikonazole*, dan *kotrimazole*. Sedangkan, kelompok *triazole* meliputi *itrakonazole*, *fluconazole*, dan *vorikonazole*. Obat yang sering digunakan dalam pengobatan *candidiasis* mulut dan tenggorokan pada pasien AIDS adalah *fluconazole*. Obat ini merupakan suatu *fluorinated bis-triazole* yang dapat diserap secara sempurna tanpa dipengaruhi oleh asam lambung. Namun, penggunaan *fluconazole* juga memiliki beberapa efek samping, yaitu gangguan saluran cerna, urtikaria, eosinofilia, *Steven-Johnson syndrome*, gangguan fungsi hati yang tersembunyi maupun trombositopenia (Setyabudi dan Bahry, 2007).

2. Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

a. Taksonomi

- 1) Kingdom : *Plantae*
- 2) Divisi : *Gymnospermae*
- 3) Subdivisi : *Spermatophyta*
- 4) Kelas : *Dicotyledonae*
- 5) Subkelas : *Dialypetalae*
- 6) Ordo : *Policarpicae*
- 7) Famili : *Lauraceae*
- 8) Genus : *Cinnamomum*
- 9) Spesies : *Cinnamomum burmanii*

(Paimin dan Rismunandar, 2001)

b. Sinonim

Cinnamomum burmanii (ness) Bl.

Batavia Cassia

Batavia Cinnamon

Padang-Cassia

Panang Cinnamon

(Barnes *et al.*, 2002)

c. Deskripsi

Cinnamomum burmanii adalah tanaman yang berasal dari Asia Tenggara, khususnya Indonesia, yang biasa digunakan sebagai bumbu masakan maupun alat kerajinan. Tanaman ini memiliki pohon yang panjangnya bisa mencapai 15 meter. Batang berkayu dan bercabang-cabang. Daun tunggal berbentuk lanset, daun muda berwarna merah pucat dan setelah tua berwarna hijau. Bunga berbentuk malai, warna kuning, tumbuh di ketiak daun. Buah yang muda berwarna hijau dan setelah tua berwarna hitam. Akar jenis tunggang. Kulit batang pohon yang dikeringkan disebut *cassiavera*. Dapat ditanam di daratan rendah sampai dataran tinggi yang kurang dari 1.500 meter di atas permukaan laut. Untuk pertumbuhannya, tanaman ini membutuhkan udara dengan kelembaban tinggi, curah hujan yang tinggi (2.000-2.500 mm) dan merata sepanjang tahun, tanah yang berhumus dan dalam, serta tekstur remah berpasir (Starr *et al.*, 2003).

Produk utama yang dihasilkan dari kayu manis berupa potongan kulit yang dikeringkan. Sebelum dijemur, kulit dikikis atau dibersihkan dari kulit luar, lalu dipotong-potong menjadi berukuran lebar 3-4 cm. Selanjutnya kulit yang sudah bersih dijemur di bawah terik matahari selama 2-3 hari. Kulit dinyatakan kering kalau bobotnya menyusut sekitar 50% (Paimin dan Rismunandar, 2001).



Gambar 1. Kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Sumber: Roy, 2009

d. Kandungan Kimia

Cinnamomum burmanii mengandung minyak atsiri, tanin, kalsium oksalat, safrole, *cinneylanin*, *coumarin*, *mucilage*, resin dan gula (Barnes *et al*, 2002). Komponen terbesar minyak atsiri *Cinnamomum burmanii* adalah *trans-cinnamaldehyde* (60-75%) dan eugenol (4-8%) (Paimin dan Rismunandar, 2001). Selain itu, kayu manis juga mengandung *cinnamic acid* dan *o-methoxycinnamaldehyde* (0,79%) (Morozumi, 1978; *The Good Scents Company*, 2011).

Senyawa lain adalah *terpenes*, yang merupakan senyawa *phenolic* yang memiliki aktivitas antimikroba dan mempunyai bentuk aktif berupa

mono dan *sesquiterpenes* dalam melawan bakteri, fungi, virus, maupun protozoa (Habtemariam *et al*, 1993).

e. Manfaat

Cinnamomum burmanii biasa digunakan sebagai bumbu masakan. Dalam beberapa penelitian, ekstrak kulit batang tanaman tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakterial pada beberapa bakteri patogen, seperti: *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella anatum*. Unsur utama yang ditemukan dalam minyak atsiri batang *Cinnamomum burmanii* adalah *trans-cinnamaldehyde* (Shan *et al*, 2007).

Trans-cinnamaldehyde diketahui menghambat pertumbuhan beberapa bakteri, yaitu: *P. aeruginosa*, *E. faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA), *Klebsiella pneumoniae*, dan *Vibrio parahaemolyticus* (Chang *et al*, 2001). Selain itu komponen minyak atsiri *Cinnamomum burmanii* tersebut juga terbukti efektif sebagai antifungal terhadap beberapa fungi, termasuk *Alternaria alternata* dan *Malassezia furfur* (Leela, 2008). Selain itu, *trans-cinnamaldehyde* juga terbukti memiliki efek penghambatan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (Pratiwi, 2007).

Senyawa lain yang terkandung dalam minyak atsiri kayu manis juga memiliki beberapa manfaat. *Eugenol* telah terbukti menghambat pertumbuhan *Listeria monocytogenes* dan *Lactobacillus sakei* (Gill dan Holley, 2004). Selain itu, *eugenol* juga memiliki efek antifungal terhadap

fungi patogen, termasuk *Candida albicans* dan *Saccharomyces cerevisiae* (Tsair-Bor dan Shang-Tzen, 2008).

f. Aktivitas Antifungi *Cinnamomum burmanii*

Minyak atsiri *Cinnamomum burmanii* memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans in vitro*. Daya hambat minyak atsiri *Cinnamomum burmanii* dengan konsentrasi 1% (25,5 mm); 1,5% (25,75 mm); 2% (36,5 mm); 2,5% (40 mm); dan 3% (48,5 mm) terbukti jauh lebih tinggi daripada *fluconazole* kadar 25 μ g (20,5 mm) (Pratiwi, 2007). Penelitian lain juga mengungkapkan bahwa minyak atsiri kayu manis dapat menghambat pertumbuhan beberapa strain *Candida albicans* yang telah resisten terhadap *fluconazole* (Heller, 2005).

Trans-cinnamaldehyde (TC) yang merupakan produk natural dari *cinnamaldehyde* yang terkandung di dalam kayu manis merupakan inhibitor non-kompetitif dari β -(1,3)-*glucan synthase* (Bang *et al*, 2000). β -(1,3)-*glucan* adalah komponen utama penyusun biofilm dari *Candida albicans* yang pembentukannya dikodekan oleh gen *ZAP1* (Heller, 2009). Penghambatan terhadap pembentukan biofilm ini akan mengakibatkan kegagalan kolonisasi, pertumbuhan, maupun penyebaran dari *Candida albicans* (Kaplan *et al*, 2003). Selain itu, TC juga menghambat sintesis *exopolysaccharide matrix*, pembentukan maupun fungsi dari flagela, dan sinyal antar sel melalui penurunan beberapa ekspresi gen (Amalaradjou dan Venkitanarayanan, 2010).

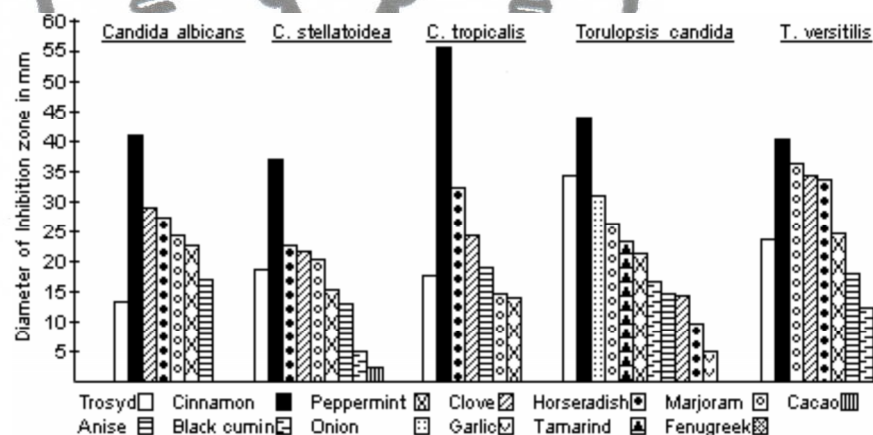
Selain menghambat sintesis β -(1,3)-glucan, TC juga bersifat sebagai inhibitor dari *chitin synthase genes isoenzymes*, yang merupakan enzim yang berperan dalam *chitin synthase* (Bang *et al*, 2000). Senyawa β -(1,3)-glucan dan *chitin* merupakan komponen utama dari dinding sel fungi (Bang *et al*, 2000). Oleh karena itu, kerusakan dinding sel *Candida albicans* akan meningkat akibat aktivitas TC tersebut. *Trans-cinnamaldehyde* juga terbukti dapat menghambat adhesi *Candida albicans* pada sel epitel mukosa rongga mulut (Bo *et al*, 2010).

Eugenol merupakan senyawa yang sangat berpengaruh pada morfologi hifa, berupa koagulasi sitoplasmik, vakuolasi, dan pemendekan hifa. *Eugenol* juga dapat menginduksi pembentukan H_2O_2 dan meningkatkan jumlah Ca^{2+} bebas dalam sitoplasma. Hal ini membuktikan efek antifungi *eugenol* berhubungan dengan stres oksidatif dan perubahan permeabilitas, yang mengakibatkan destabilisasi dan kerusakan membran plasma (Wang *et al*, 2010).

Sifat hidrofobik mendukung daya antifungi dua komponen tersebut. Senyawa-senyawa tersebut mampu memecah lapisan lipid membran sel sehingga permeabilitas sel meningkat. Akibatnya, berbagai molekul dan ion penting keluar dari membran sel sehingga sel akan mati (Juliani *et al*, 2003; Seenivasan *et al*, 2006).

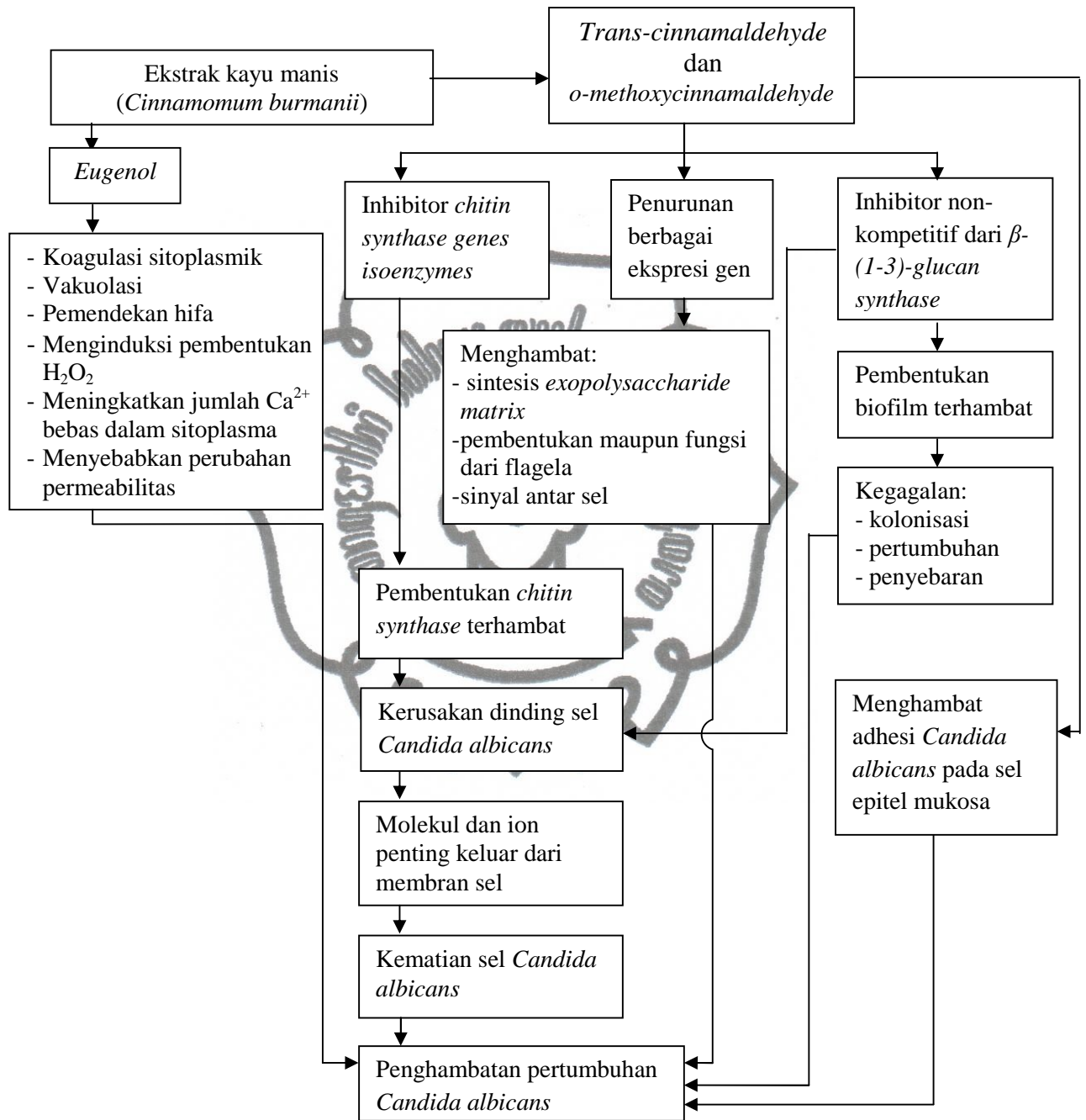
Senyawa aktif lain yang terkandung di dalam ekstrak kayu manis adalah *o-methoxycinnamaldehyde*. Senyawa ini dapat berinteraksi dengan senyawa lain dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Bahkan *o-*
commit to user

methoxycinnamaldehyde juga terbukti mampu menghambat pertumbuhan beberapa spesies dermatofita, salah satunya adalah *Microsporum canis* (Morozumi, 1978). Pemberian *t-methoxycinnamaldehyde* dan *o-methoxycinnamaldehyde* per oral juga terbukti mampu menghambat *candidiasis* dengan MIC (*minimum inhibitory concentration*) sebesar 0,03-0,05 mg/ml. Bersama dengan *trans-cinnamaldehyde*, senyawa ini merupakan senyawa antifungi utama yang terkandung dalam ekstrak kayu manis. *O-methoxycinnamaldehyde* bersifat lebih mudah larut dalam etanol daripada pelarut lain seperti hexan dan metanol (Senhaji *et al*, 2004).



Gambar 2. Potensi antifungi minyak kayu manis dibandingkan minyak lain terhadap penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*. Sumber: Mallek *et al*, 1994.

B. Kerangka Pemikiran



Gambar 3. Skema Kerangka Pemikiran

C. Hipotesis

Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) memiliki potensi antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium.

B. Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Parasitologi dan Mikologi Universitas Sebelas Maret Surakarta.

C. Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan pada bulan Mei-Desember 2011

D. Subjek Penelitian

Subjek penelitian yang digunakan adalah sampel klinis *Candida albicans* yang diperoleh dari instalasi Laboratorium Parasitologi dan Mikologi Rumah Sakit Dr. Moewardi, Surakarta yang kemudian dikultur pada media *Sabouraud Dektrosa Agar* (SDA). Koloni yang diperoleh berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, licin, berwarna krem, halus, berbentuk pasta, berbau asam, dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat pada koloni yang sudah tua (Geo *et al*, 2004).

E. Teknik Sampling

Pengambilan sampel dilakukan dengan cara *random sampling* (Nasution, 2003). Sampel yang dipilih adalah biakan *Candida albicans* isolat klinis yang berumur 2 hari. Koloni *Candida albicans* diambil dari beberapa tempat secara random untuk diencerkan dengan NaCl 0,9% sampai kekeruhannya ekuivalen dengan standarisasi 0,5 Mc Farland (Jayatilake *et al*, 2005).

F. Identifikasi Variabel

1. Variabel bebas: Konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)
2. Variabel terikat: Diameter zona hambatan pertumbuhan *Candida albicans*
3. Variabel luar:
 - a. Variabel luar terkendali
 - Umur biakan
 - Jumlah biakan
 - Tumbuhnya kuman lain
 - Volume pengenceran
 - Waktu pengeraman
 - b. Variabel luar tak terkendali
 - Kecepatan tumbuh *Candida albicans*

G. Skala Variabel

1. Konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Skala ordinal

2. Diameter zona hambatan pertumbuhan *Candida albicans*

Skala rasio

H. Definisi Operasional Variabel

1. Konsentrasi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) yang digunakan diperoleh dari FarizLab Jogjakarta dengan metode maserasi menggunakan penyari etanol. Ekstrak yang didapatkan kemudian diencerkan dengan seri pengenceran yang bertingkat menggunakan etanol 70%, sehingga didapatkan larutan ekstrak dengan konsentrasi yang berbeda-beda sesuai dengan konsentrasi dari hasil uji pendahuluan.

2. Diameter zona hambatan pertumbuhan *Candida albicans*

Diameter zona hambatan dimanifestasikan sebagai potensi antijamur yang ditimbulkan oleh obat atau zat antijamur. Diameter zona hambatan adalah diameter hambatan pertumbuhan *Candida albicans* yang terbentuk di sekeliling sumuran berupa zona jernih. Diameter yang diukur termasuk diameter sumuran yang digunakan untuk meletakkan ekstrak yang berukuran 6 mm.

3. Variabel luar yang terkendali

a. Umur biakan *Candida albicans*

Umur fungi dapat dikendalikan dengan memilih biakan *Candida albicans* pada *Saboraud Dextrose Agar* yang berumur 2 hari, karena proses pertumbuhan *Candida albicans* hingga terbentuknya koloni yang matur memakan waktu kurang lebih selama 24-48 jam (Jayatilake *et al*, 2005).

b. Jumlah biakan *Candida albicans*

Jumlah *Candida albicans* yang dibiakkan dapat dikendalikan dengan standar 0,5 Mc Farland (Jayatilake *et al*, 2005).

c. Tumbuhnya kuman lain

Untuk mengendalikan tumbuhnya kuman, maka media *Saboroud Dextrose Agar* yang sudah dibuat disterilisasi ke dalam *autoclave* terlebih dahulu dengan suhu 121°C selama 15 menit.

4. Variabel luar yang tak terkendali

Kecepatan pertumbuhan *Candida albicans* merupakan variabel luar yang tidak dapat dikendalikan karena pertumbuhannya dipengaruhi oleh beberapa faktor, salah satunya adalah sebaran koloni.

I. Instrumen Penelitian

1. Bahan

a. *Saboroud Dextrose Agar* (SDA)

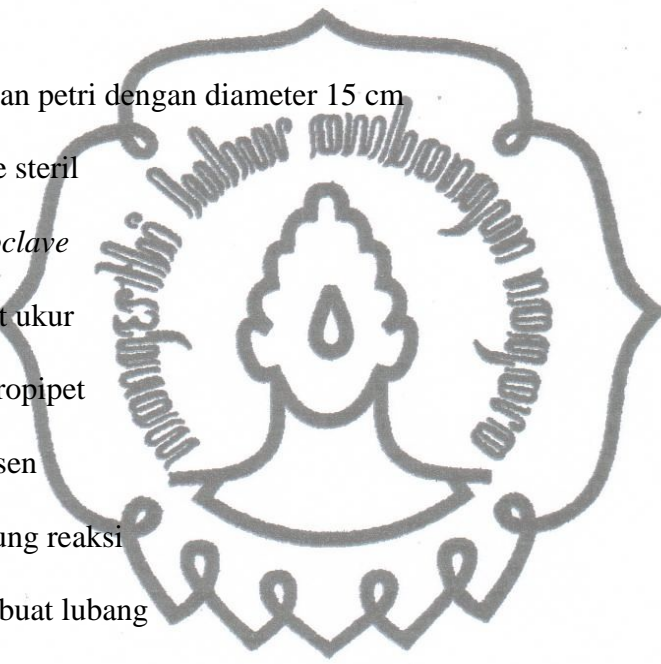
b. Biakan *Candida albicans*

commit to user

- c. Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)
- d. Etanol 70%
- e. Kapsul *fluconazole*
- f. Standar 0,5 Mc Farland

2. Alat

- a. Cawan petri dengan diameter 15 cm
- b. Oshe steril
- c. *Autoclave*
- d. Pipet ukur
- e. Mikropipet
- f. Bunsen
- g. Tabung reaksi
- h. Pembuat lubang
- i. Penggaris



J. Cara Kerja Penelitian

1. Tahap Persiapan

- a. Pembuatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*)

Kayu manis kering dimasukkan ke dalam alat penghancur dan diberi etanol 70% sebanyak 1.000 mL, lalu dicampur. Maserasi selama 72 jam, kemudian disaring dengan corong Buchner. Filtrat hasil jaringan diuapkan dengan vacum evaporator. Setelah dievaporator didapatkan hasil 10 gr ekstrak. Hasil ini menunjukkan 100% ekstrak. Ekstrak kayu

manis kemudian ditimbang sebanyak 0,4 mg, 0,8 mg, 1 mg, 1,2 mg, 1,6 mg, 2 mg, 2,4 mg, 2,8 mg, 3 mg, 3,2 mg, dan 4 mg. Masing-masing ekstrak yang telah ditimbang dilarutkan dalam aquadest steril sampai mencapai volume 4 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan ekstrak sebesar 10%, 20%, 25%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 75%, 80%, dan 100%. Pembuatan ekstrak dengan konsentrasi 90% tidak bisa dilakukan karena sudah berbentuk pasta, sehingga tidak bisa ditara dengan mikropipet. Pembuatan ekstrak dilakukan di FarizLab Jogjakarta.

Biakan klinis jamur diperoleh dari instalasi Laboratorium Parasitologi dan Mikologi Rumah Sakit Dr. Moewardi, Surakarta. Sampel yang berupa usapan tenggorok tersebut dikirim ke Laboratorium Parasitologi dan Mikologi Fakultas Kedokteran UNS.

Pemeriksaan yang dilakukan untuk identifikasi sampel adalah secara langsung atau dengan menggunakan kultur. Identifikasi langsung dilakukan dengan pengecatan Giemsa. Sampel diidentifikasi sebagai *Candida albicans* dengan ditemukannya pseudohifa pada pewarnaan Giemsa.

Sedangkan identifikasi dengan kultur dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni jamur. Apabila didapatkan koloni yang berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, licin, berwarna krem, halus, berbentuk pasta, dan berbau asam, maka koloni jamur tersebut diidentifikasi sebagai koloni *candida* (Geo *et al*, 2004). Pemeriksaan dilanjutkan dengan *germ tube test* dengan media serum. Pemeriksaan ini

dilakukan dengan cara meletakkan sedikit koloni pada tetesan serum di atas *objek glass* kemudian diinkubasi dalam suhu 37°C selama 3 jam. Sampel kemudian diperiksa di bawah mikroskop. Apabila ditemukan perkecambahan dari *yeast cell*, sampel diidentifikasi sebagai *Candida albicans*.

Selanjutnya dilakukan pembiakan *Candida albicans* pada media *Saboraud Dextrose Agar* dengan cara sebagai berikut: biakan *Candida albicans* murni diambil dengan menggunakan oshe steril dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9% sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan standar 0,5 Mc Farland. Kemudian subkultur *Candida albicans* tersebut siap digunakan dalam tahap selanjutnya.

2. Tahap Uji Pendahuluan

a. Pembuatan larutan antifungi *fluconazole* sebagai kontrol

Preparat *fluconazole* yang dipakai adalah Diflucan. Satu kapsul Diflucan mengandung 50 mg flukonazol.

Dalam penelitian ini, kadar *fluconazole* yang digunakan adalah 25 µg karena konsentrasi ini adalah konsentrasi yang optimal terhadap *Candida albicans*. Kadar tersebut diperoleh melalui rumus berikut:

$$N_1 \cdot V_1 = N_2 \cdot V_2$$

$$1,5 \text{ mg} \cdot 0,05 \text{ ml} = 25 \text{ } \mu\text{g} \cdot V_2$$

$$V_2 = \frac{1500 \text{ } \mu\text{g} \cdot 0,05}{5 \mu\text{g}}$$

$$V_2 = 3 \text{ ml}$$

Keterangan:

N_1 = Konsentrasi awal

V_1 = Volume awal

N_2 = Konsentrasi yang dibutuhkan

V_2 = Volume yang dibutuhkan

Jadi, untuk mendapatkan kadar *fluconazole* 25 µg, 1,5 gram *fluconazole* dilarutkan ke dalam 0,05 ml aquades. Kemudian diencerkan kembali sehingga menjadi 3 ml.

b. Pembuatan media agar dari *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)

Pembuatan media agar dari *Saboraud Dextrose Agar* adalah sebagai berikut:

- Setiap 6,5 gr bubuk *Saboraud Dextrose Agar* ditambahkan dengan aquades hingga mencapai volume 100 mL, diaduk, kemudian dipanaskan sampai mendidih. Dalam uji ini, digunakan 3,25 gr bubuk *Saboraud Dextrose Agar* yang dilarutkan ke dalam aquades sehingga mencapai volume 50 mL untuk tiap cawan petri.
- *Saboraud Dextrose Agar* cair dituang ke dalam cawan petri dan dibiarkan dingin, kemudian dibungkus dengan kertas.
- Media *Saboraud Dextrose Agar* disterilkan dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit bersama peralatan lain yang akan digunakan
- Kemudian dibuat sumuran pada cawan petri dengan diameter 6 mm.

c. Pembuatan subkultur *Candida albicans*

Biakan *Candida albicans* murni diambil dengan menggunakan oshe steril dan dimasukkan ke dalam larutan NaCl 0,9 % sampai mencapai kekeruhan yang ekuivalen dengan standar 0,5 Mc Farland. Kemudian 200 µL sampel cair *Candida albicans* dimasukkan ke dalam cawan petri yang telah berisi media *Saboraud Dextrose Agar* dengan

menggunakan mikropipet. Cawan petri kemudian digoyang sampai sampel tersebut merata.

- d. Pengenceran ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dengan etanol 70%. Konsentrasi yang dipakai untuk masing-masing perlakuan awalnya adalah 25%, 50%, 75%, dan 100%.
- e. Setiap seri konsentrasi dibuat 2 sumuran.
- f. Untuk kontrol negatif, dibuat 1 sumuran yang diisi dengan 50 μ L etanol 70%. Sedangkan, untuk kontrol positif, dibuat 1 sumuran yang diisi dengan 50 μ L larutan obat antifungi.
- g. Cawan petri disimpan dengan suhu kamar selama 48 jam.
- h. Zona jernih yang terbentuk di sekeliling sumuran diukur dengan penggaris.

3. Tahap Penelitian

- a. Penentuan Besar Ulangan

Penentuan besar ulangan dihitung dengan rumus Federer:

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15$$

Keterangan:

n = besar ulangan

t = jumlah kelompok perlakuan

Karena penelitian ini menggunakan 9 kelompok perlakuan, maka:

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) (9 - 1) \geq 15$$

$$(n - 1) \frac{15}{8}$$

$$n \geq 1,875 + 1$$

$$n \geq 2,875$$

Berdasarkan perhitungan di atas, setiap kelompok harus memiliki besar ulangan (sampel) minimal sebanyak 3 kali. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan digunakan 3 kali pengulangan untuk setiap kelompok.

b. Pembuatan media *Saboraud Dextrose Agar*

Pembuatan media *Saboraud Dextrose Agar* dilakukan dengan cara yang sama seperti pada tahap uji pendahuluan.

c. Penanaman *Candida albicans*

- Penanaman *Candida albicans* dilakukan dengan cara yang sama seperti pada tahap uji pendahuluan. *Saboraud Dextrose Agar* yang sudah jadi kemudian dilubangi, sehingga setiap SDA terdapat 9 sumuran.

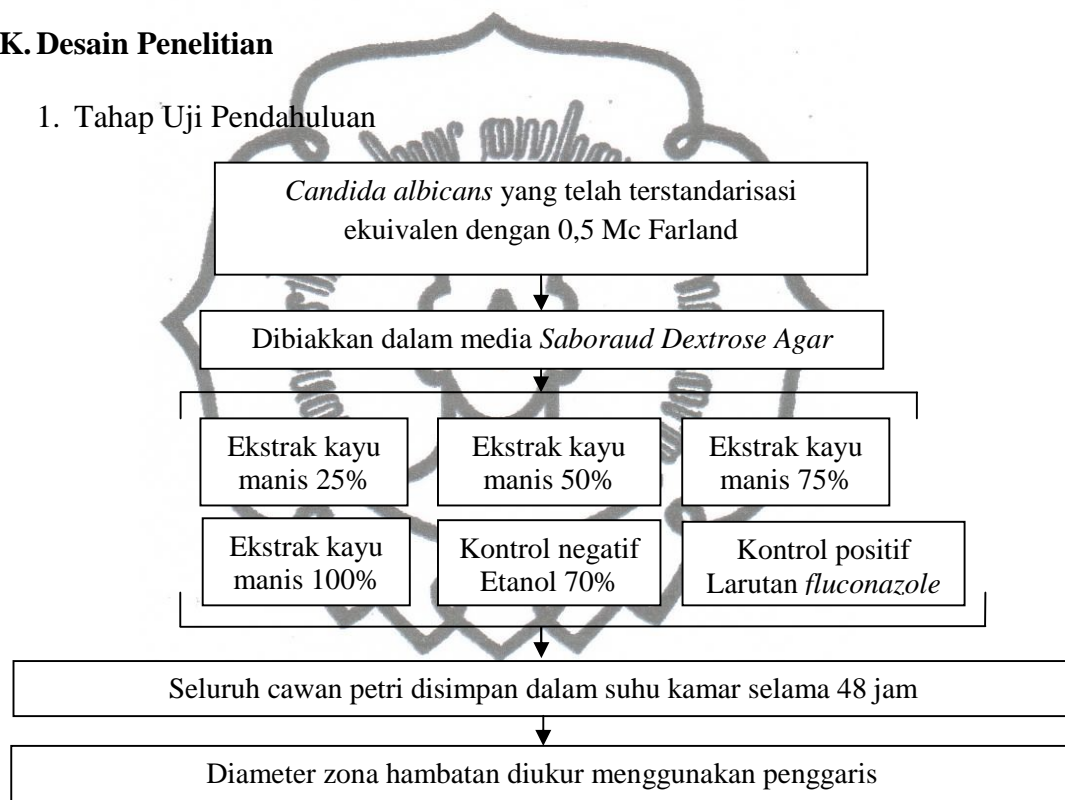
- Masing-masing sumuran pada *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) diisi dengan 50 μ L etanol 70% sebagai kontrol negatif, 50 μ L ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dengan konsentrasi 10%, 20%, 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 100%, dan 50 μ L larutan *fluconazole* 25 μ g sebagai kontrol positif. Setiap kelompok perlakuan diuji dalam 3 sumuran.

commit to user

- Semua cawan petri kemudian disimpan dalam suhu kamar selama 48 jam.
- Zona jernih yang terbentuk di sekeliling sumuran diukur dengan penggaris.

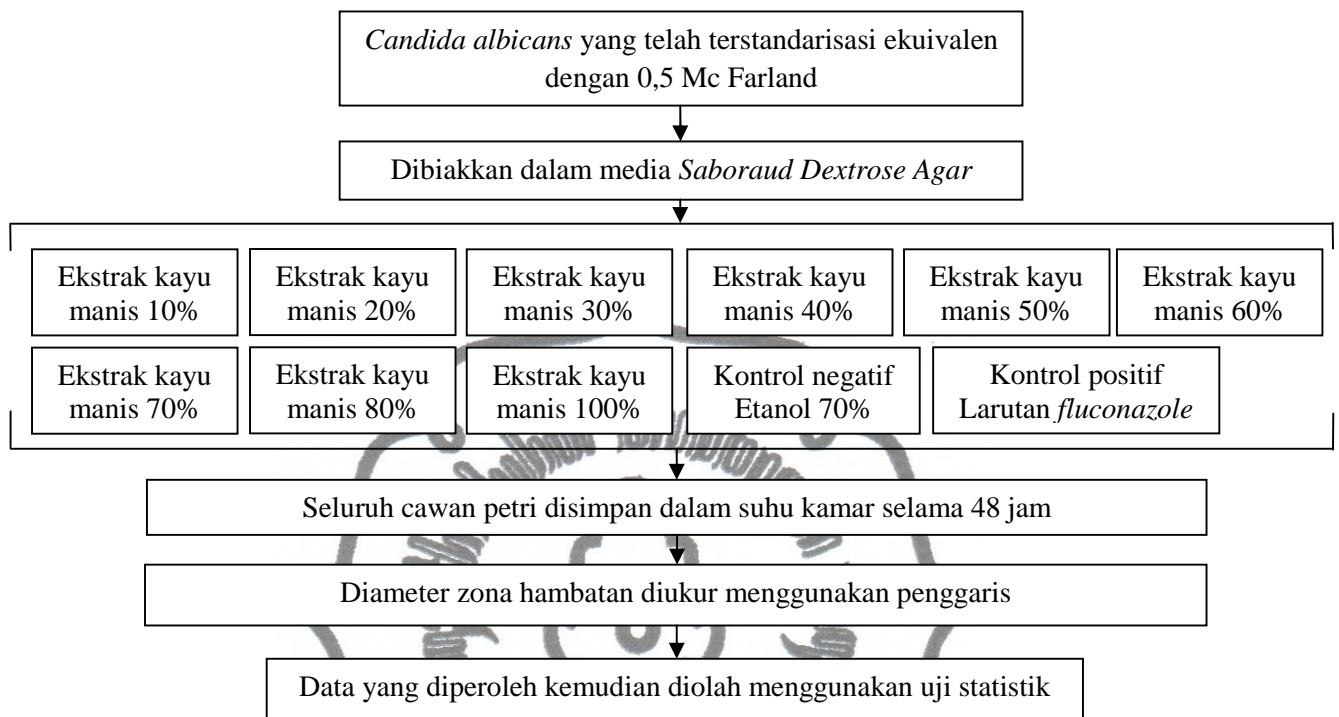
K. Desain Penelitian

1. Tahap Uji Pendahuluan



Gambar 4. Skema Alur Kerja Tahap Uji Pendahuluan

2. Tahap Penelitian



Gambar 5. Skema Alur Kerja Tahap Uji Penelitian

L. Teknik Analisis Data

Dalam penelitian ini data diolah menggunakan uji statistik parametrik, yaitu *One Way ANOVA* kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Test LSD*. Uji ANOVA dilakukan untuk membandingkan rata-rata diameter dari lima kelompok perlakuan sehingga dapat diketahui apakah lima kelompok perlakuan tersebut memiliki rata-rata diameter zona hambatan yang berbeda secara signifikan atau tidak. Kalau ada perbedaan yang signifikan, kemudian dilanjutkan uji LSD untuk melihat perbedaan antar kelompok. Penggunaan uji ANOVA digunakan apabila syarat normalitas dan homogenitas data terpenuhi. Jika data tidak memenuhi syarat tersebut, maka data akan diolah dengan uji

nonparametrik, yaitu uji *Kruskall-Wallis* dan dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney*. Data akan diolah dengan menggunakan *Statistical Product and Services Solution* (SPSS) 17.0.



BAB IV

HASIL PENELITIAN

A. Hasil Penelitian

Dari uji pendahuluan efek antifungi ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*, diperoleh hasil sebagai berikut:

Tabel 1. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan pada Uji Pendahuluan

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)*		Rata-rata
	Ulangan		
	1	2	
Kontrol (-)	6	6	6
Kontrol (+)	27	28	27,5
Ekstrak 25%	7	7	7
Ekstrak 50%	10	10	10
Ekstrak 75%	12,5	12	12,25
Ekstrak 100%	16	15,5	15,75

*Keterangan: Pengukuran diameter zona hambatan termasuk diameter sumuran 6 mm

Hasil uji pendahuluan di atas dapat dilihat bahwa mulai konsentrasi 25% sudah menunjukkan efek antifungi.

Uji pendahuluan dilanjutkan dengan uji penelitian dari konsentrasi 10% hingga 100% dengan interval 10%, diharapkan semakin pendek intervalnya

commit to user

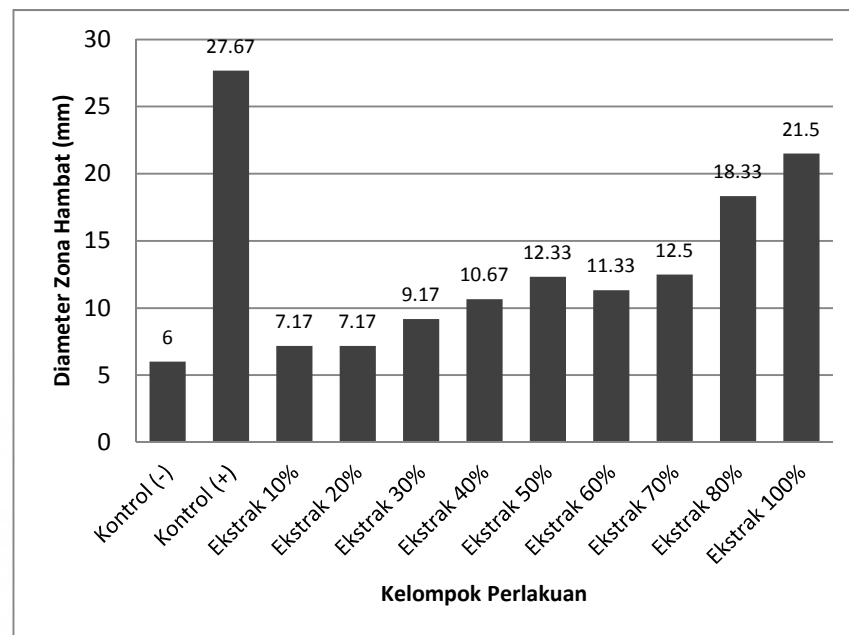
dapat diperoleh hasil yang lebih baik. Ringkasan hasil uji penelitian dapat dilihat pada tabel 2. Untuk hasil lengkapnya terlampir di lampiran 2.

Tabel 2. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambatan pada Uji Penelitian

Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)*			Rata-rata
	Ulangan			
	1	2	3	
Kontrol (-)	6	6	6	6
Kontrol (+)	27	28	28	27,67
Ekstrak 10%	7	7,5	7	7,17
Ekstrak 20%	7	7	7,5	7,17
Ekstrak 30%	10	8,5	9	9,17
Ekstrak 40%	11	11	10	10,67
Ekstrak 50%	12	12,5	12,5	12,33
Ekstrak 60%	11	11	12	11,33
Ekstrak 70%	12,5	13	12	12,5
Ekstrak 80%	19	18	18	18,33
Ekstrak 100%	21,5	21	22	21,5

*Keterangan: Pengukuran diameter zona hambatan termasuk diameter sumuran 6 mm

Data pada tabel 2 di atas dibuat diagram yang menggambarkan zona hambatan ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* pada masing-masing kelompok perlakuan (gambar 6).



Gambar 6. Grafik Batang Rata-rata Diameter Zona Hambat pada Masing-masing Kelompok Perlakuan

Diagram di atas menunjukkan adanya perbedaan rata-rata diameter zona hambatan pada masing-masing kelompok perlakuan. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin besar zona hambatan yang terbentuk. Kelompok perlakuan kontrol negatif (etanol) tidak menunjukkan adanya zona hambatan. Sedangkan kelompok perlakuan kontrol positif (*fluconazole* 25 μ g) menunjukkan rata-rata diameter zona hambatan 27,67 mm.

Data tersebut menunjukkan bahwa semua kelompok yang diberikan perlakuan berupa pemberian ekstrak kayu manis (konsentrasi 10% sampai 100%) memiliki potensi antifungi yang lebih rendah daripada kontrol positif (*fluconazole* 25 μ g). Namun, potensi antifungi tersebut diketahui lebih tinggi daripada kontrol negatif (etanol). Hal ini diketahui melalui diameter zona hambat ekstrak etanol yang lebih luas daripada kontrol negatif (etanol).

B. Analisis Data

1. Uji Normalitas dan Homogenitas Data

Normalitas sebaran data diuji dengan menggunakan uji Shapiro-Wilk (lampiran 3). Hasil analisis menunjukkan bahwa data tidak terdistribusi dengan normal ($p < 0.05$). Uji *Levene* menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0.05$). Oleh karena syarat terdistribusi normal tidak terpenuhi, digunakan uji alternatif nonparametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis dan dilanjutkan dengan uji *post-hoc* Mann Whitney.

2. Uji Kruskal-Wallis

Hasil uji Kruskal-Wallis menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan ($p < 0,05$) (lampiran 4). Untuk mengetahui perbedaan antar kelompok maka dilakukan uji *post-hoc* Mann Whitney.

3. Uji *post-hoc* Mann Whitney

Uji ini untuk membandingkan rerata diameter zona hambatan antar kelompok perlakuan sehingga dapat diketahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dengan kelompok lain ($p < 0,05$) (lampiran 5).

Tabel 3. Ringkasan Hasil Uji *post-hoc* Mann Whitney

Perlakuan	10%	20%	30%	40%	50%	60%	70%	80%	100%	Kontrol -	Kontrol +
10%	■	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
20%	-	■	+	+	+	+	+	+	+	+	+
30%	+	+	■	-	+	+	-	+	-	+	+
40%	+	+	-	■	+	-	+	+	+	+	+
50%	+	+	+	+	■	-	-	+	+	+	+
60%	+	+	+	-	-	■	-	+	+	+	+
70%	+	+	-	+	-	-	■	+	-	+	+
80%	+	+	+	+	+	+	+	■	+	+	+
100%	+	+	-	+	+	+	-	+	■	+	+
Kontrol -	+	+	+	+	+	+	+	+	+	■	+
Kontrol +	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	■

Keterangan:

(+) : ada perbedaan yang signifikan antar kelompok perlakuan

(-) : ada perbedaan yang tidak signifikan antar kelompok perlakuan

Secara singkat, hasil uji *post hoc* Mann Whitney tersebut dapat terlihat bahwa diameter zona hambat konsentrasi 10% dan 20% memiliki perbedaan yang tidak signifikan. Kondisi ini juga terlihat pada beberapa kelompok dengan konsentrasi berikut: 30% dengan 40%, 30% dengan 70%, 30% dengan 100%, 40% dengan 60%, 50% dengan 60%, 50% dengan 70%, 60% dengan 70%, dan 70% dengan 100%.

Beberapa kelompok menunjukkan perbedaan yang signifikan antar kelompoknya. Kelompok konsentrasi 10% berbeda secara signifikan dengan kelompok konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 100%. Kelompok konsentrasi 20% berbeda secara signifikan dengan

kelompok konsentrasi 30%, 40%, 50%, 60%, 70%, 80%, dan 100%. Kelompok konsentrasi 30% juga memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok konsentrasi 40%, 60%, dan 80%. Sementara, kelompok konsentrasi 40% juga berbeda secara signifikan terhadap kelompok konsentrasi 50%, 70%, 80%, dan 100%. Kelompok konsentrasi 50% dan 60% juga berbeda secara signifikan terhadap kelompok konsentrasi 80% dan 100%. Kelompok konsentrasi 80% juga berbeda secara signifikan dengan kelompok konsentrasi 100%.

Hasil uji *post-hoc* Mann Whitney tersebut menyatakan bahwa semua kelompok yang diberi perlakuan ekstrak kayu manis, mulai dari konsentrasi 10% sampai 100% memiliki potensi antifungi yang signifikan apabila dibandingkan dengan kontrol negatif. Namun, potensi antifungi yang dimiliki ekstrak kayu manis tersebut ternyata juga memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif (*fluconazole* 25 µg).

BAB V

PEMBAHASAN

Hasil penelitian yang dilakukan (tabel 2) membuktikan bahwa kontrol negatif tidak terbentuk zona hambat. Hal ini berarti bahwa etanol tidak mempunyai aktifitas antifungi. Sedangkan, diameter rerata zona hambat yang dihasilkan oleh kontrol positif adalah 27,67 mm. Pada konsentrasi 10% ternyata kelompok ekstrak sudah terbentuk zona hambat dan semakin meningkat diameter yang dihasilkan hingga konsentrasi 100%. Dalam grafik batang (gambar 6) menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak kayu manis, semakin besar zona hambat yang terbentuk.

Uji normalitas data menunjukkan nilai $p < 0,05$ (lampiran 3). Nilai tersebut mengartikan bahwa data yang diperoleh tidak memenuhi syarat distribusi normal. Sedangkan, uji *Levene* menunjukkan bahwa data homogen ($p > 0,05$) (lampiran 4). Oleh karena syarat terdistribusi normal tidak terpenuhi, maka data dianalisis menggunakan uji alternatif nonparametrik, yaitu uji Kruskal-Wallis dan uji *post-hoc* Mann Whitney.

Uji Kruskal-Wallis digunakan untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan rerata diameter zona hambatan yang signifikan pada seluruh kelompok perlakuan. Pada lampiran 5 dapat dilihat perbedaan rerata diameter zona hambat antar kelompok adalah signifikan dengan nilai $p \leq 0,05$. Nilai ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis mempunyai pengaruh yang berbeda di setiap konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

commit to user

Uji *post-hoc* Mann Whitney digunakan untuk membandingkan rerata diameter zona hambat antarkelompok perlakuan sehingga dapat diketahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dengan kelompok yang lain. Ringkasan hasil uji *post-hoc* Mann Whitney (tabel 3) menunjukkan bahwa kontrol negatif berbeda secara signifikan terhadap semua kelompok. Namun, dalam penelitian ini diketahui semua kelompok juga memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kontrol positif.

Jadi menurut statistik, penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak kayu manis dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* mulai dari konsentrasi 10% sampai 100%. Namun, diketahui bahwa daya antifungi ekstrak kayu manis masih lebih rendah apabila dibandingkan dengan *fluconazole* 25 µg. Hal ini diketahui melalui dari perbedaan yang signifikan antara kontrol positif dengan semua kelompok perlakuan.

Berdasarkan data yang diperoleh peneliti tersebut, diketahui bahwa ekstrak kayu manis dengan konsentrasi 10% sudah memiliki potensi antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Rerata diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstrak kayu manis konsentrasi 10% (7,17 mm) lebih luas apabila dibandingkan dengan etanol (6 mm). Potensi antifungi ekstrak kayu manis tersebut semakin meningkat dengan pemberian konsentrasi ekstrak yang lebih kental.

Rerata diameter zona hambat yang ditimbulkan oleh ekstrak kayu manis dengan konsentrasi tertinggi 100% adalah 21,5 mm. Diameter ini lebih kecil apabila dibandingkan zona hambat yang ditimbulkan *fluconazole* 25 µg (27,67

mm), sehingga dapat dikatakan bahwa *Candida albicans* lebih resisten terhadap ekstrak kayu manis daripada *fluconazole* 25 µg.

Potensi antifungi minyak atsiri kayu manis sebelumnya telah diteliti oleh Pratiwi (2007). Minyak atsiri kayu manis dengan konsentrasi 1% diketahui sudah memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans* sebesar 25,5 mm. Diameter zona hambat ini lebih tinggi dibandingkan yang dimiliki oleh ekstrak kayu manis konsentrasi 100%. Berdasarkan informasi tersebut, diketahui bahwa potensi ekstrak kayu manis terbukti lebih rendah daripada minyak atsiri kayu manis.

Rendahnya potensi tersebut dapat disebabkan karena kadar *cinnamaldehyde* dan *eugenol* yang terkandung di dalam ekstrak kayu manis lebih sedikit apabila dibandingkan yang terkandung di dalam minyak atsiri kayu manis (Paimin dan Rismunandar, 2001). Namun, belum diketahui secara rinci berapa kadar *cinnamaldehyde* maupun *eugenol* yang terkandung di dalam ekstrak kayu manis tersebut. Kadar *cinnamaldehyde* yang rendah akan sangat menurunkan potensi antifungi terhadap *Candida albicans*, karena senyawa tersebut adalah senyawa utama yang berpotensi menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Bang *et al*, 2000). Selain itu, di dalam ekstrak kayu manis juga diketahui masih mengandung senyawa-senyawa yang kurang berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, yaitu tanin, kalsium oksalat, safrole, *cinneylanin*, *coumarin*, *mucilage*, resin, dan gula (Barnes *et al*, 2002). Adanya senyawa-senyawa tersebut, secara tidak langsung juga akan menurunkan potensi antifungi dari ekstrak kayu manis.

BAB VI

SIMPULAN DAN SARAN

A. Simpulan

Ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) menunjukkan zona hambatan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* mulai konsentrasi 10% sampai 100%, namun zona hambatan yang ditimbulkan masih lebih kecil apabila dibandingkan dengan minyak atsiri kayu manis dan *fluconazole* 25µg/ml.

B. Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menggunakan senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak kayu manis (*Cinnamomum burmanii*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.