

Pengaruh Perbedaan Lama Kontak Sabun Ekstrak Daun Sirih Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* Secara *In Vitro*

Yonna Yolanda Y¹, Roslaili Rasyid², Arni Amir³

Abstrak

Candida albicans adalah jamur penyebab kandidiasis vulvovaginalis dengan manifestasi klinis gatal pada vulva dan keputihan. Penggunaan sabun ekstrak daun sirih dengan cara mengusapkan sabun pada area genitalia dapat mengurangi keputihan. Ekstrak daun sirih yang terkandung pada sabun diketahui memiliki sifat fungistatik. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui perbedaan lama kontak sabun ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode yang digunakan adalah *Percentage Kill* dengan tiga kali pengulangan. Metode yang dilakukan untuk melihat persentase kemampuan sabun ekstrak daun sirih dalam membunuh *Candida albicans* dengan lama kontak 1 menit, 2 menit, dan 5 menit. Hasil penelitian menunjukkan adanya pengaruh perbedaan lama kontak sabun ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Nilai Persentase Kill yang baik ($\geq 90\%$) pada menit 1, 2, dan 5 yaitu 97%, 95%, dan 93%. Disimpulkan bahwa penggunaan sabun ekstrak daun sirih dengan lama kontak 1 menit sudah memberikan hasil yang baik.

Kata kunci: *candida albicans*, keputihan, sabun ekstrak daun sirih

Abstract

Candida albicans is the fungus that cause Candidiasis Vulvovaginalis, which is the clinical manifestations are itch in vulva and leukorrhea. Using betle leaf extract soap by wiping the soap in the genitalia area can decrease leukorrhea. Betle leaf extract that is contain in the soap has fungistatic activity. The objective of this study was to show the differences of contact time of betle leaf extract soap on *Candida albicans* growth by *in vitro*. This experiment uses "Percentage Kill" method in three repetitions. This method will show the percentage of betle leaf extract soap ability to kill *Candida albicans* in 1st minute, 2nd minute, and 5th minute. The results showed that there is influence of differences contact time of betle leaf extract soap to *Candida albicans*. It is shown by values of Percentage Kill in 1st, 2nd, and 5th minute, they are 97%, 95%, and 93%. The conclusion is the soap has good ability to kill the *Candida albicans* in 1 minute.

Keywords: *candida albicans*, leukorrhea, betle leaf extract soap

Affiliasi penulis: 1. Prodi Profesi Dokter FK Unand (Fakultas Kedokteran Universitas Andalas Padang) 2. Bagian Mikrobiologi FK Unand, 3. Bagian Biologi FK Unand

Korespondensi: Yonna Yolanda Y. Email: tripleway90@yahoo.com
Telp: 082283791669

PENDAHULUAN

Candida albicans adalah jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda, yaitu blastospora dan hifa. Pada manusia, *Candida albicans* sering ditemukan di dalam mulut, feses, kulit, vagina, paru-paru, bahkan di bawah kuku

orang sehat. *Candida albicans* adalah penyebab kandidiasis vulvoaginalis. Keluhan khas dari kandidiasis vulvovaginalis adalah keputihan yang disertai gatal dan iritasi pada vulva.^{1,2}

Di Indonesia, sirih sudah terkenal berkhasiat mengobati keputihan. Salah satu produk yang memanfaatkan khasiat daun sirih adalah sabun ekstrak daun sirih. Ekstrak daun sirih mengandung minyak atsiri yang terdiri atas *chavikol*, *hydroxyl chavikol* dan *eugenol* yang bersifat antijamur.^{3,4}

Berbagai penelitian telah dilakukan untuk mengetahui efek fungistatik ekstrak daun sirih. Penelitian yang dilakukan Rahmah (2010) menunjukkan bahwa ekstrak daun sirih mengandung fenil propene dan tannin yang bersifat fungistatik. Penelitian Zubier (2010) menunjukkan bahwa sabun ekstrak daun sirih merah memiliki efek antiseptik terhadap *Candida sp.* dan *Streptococcus sp.* secara klinik dengan pemakaian 3 menit. Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian mengenai pengaruh sabun ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada lama kontak yang berbeda-beda. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh sabun ekstrak daun sirih terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *invitro* pada lama kontak 1, 2, dan 5 menit.^{5,6}

METODE

Penelitian ini bersifat eksperimental dengan menggunakan rancangan *post test only control design group* dengan tiga kali pengulangan. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Andalas dengan menggunakan sampel *Candida albicans* yang dibiakkan dari penderita kandidiasis vulvovaginalis. Bahan yang digunakan adalah sabun ekstrak daun sirih, biakan *Candida albicans*, agar Sabouraud cair, NaCl 0,9% dan akuades.

Berdasarkan prosedur Mikrobiologi Industri, Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, Jakarta maka metode yang digunakan adalah *Percentage Kill*. Pertama, dilakukan penentuan *Colony Forming Unit* (CFU). Kedalam 10 ml NaCl 0,9% ditambahkan 1 sengkeli *Candida albicans*. Lalu dibuat pengenceran dari suspensi jamur tersebut kedalam 9 tabung yang berisi NaCl 0,9%. Diteteskan 1 ml suspensi dari tiap tabung pengenceran pada plat dan agar sabouraud yang masih cair. Diinkubasi pada suhu 35°C selama 3 hari. Lalu hitung jumlah koloni dari tiap pengenceran dengan menggunakan *colony counter*.⁷

Kedua, dilakukan uji *Percentage Kill*. Sebanyak 0,5 ml suspensi jamur yang menghasilkan jumlah koloni 100-200 pada penentuan CFU dicampurkan dengan 4,5 ml sabun ekstrak daun sirih. Setelah satu

menit, sebanyak 1 ml suspensi jamur dan sabun ekstrak daun sirih dimasukkan kedalam tabung A yang berisi 9 ml akuades. Setelah 2 menit, ambil sebanyak 1 ml suspensi jamur dan sabun ekstrak daun sirih dimasukkan kedalam tabung B yang berisi 9 ml akuades. Setelah 5 menit, ambil sebanyak 1 ml suspensi jamur dan sabun ekstrak daun sirih dimasukkan kedalam tabung C yang berisi 9 ml akuades. Masing-masing dibuat tiga kali pengulangan. Kemudian tabung-tabung pengenceran tersebut digoyang pada vortex. Lalu 1 ml suspensi dari tiap tabung dituang ke dalam plat serta dituangkan agar Sabouraud cair ke dalam plat. Diinkubasi selama 3 hari pada suhu 35°C. Dihitung jumlah koloni yang tumbuh dan dihitung rata-ratanya. Sebagai kontrol, sebanyak 0,5 ml suspensi jamur dicampurkan dengan 4,5 ml akuades, lalu dilakukan prosedur seperti di atas. Kemampuan sabun sirih dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dilihat dengan menghitung *Percentage Kill*., dengan rumus:⁷

$$\text{Percentage Kill} = \frac{(C-X) \times 100\%}{C}$$

Keterangan :

C : Jumlah koloni kontrol

X : Jumlah koloni yang diteliti

Hasil *Percentage Kill*. yang baik adalah $\geq 90\%$.

HASIL

Berdasarkan pengenceran yang telah dilakukan untuk menentukan CFU (*Colony Forming Unit*) maka didapatkan hasil seperti yang tersaji pada tabel 1.

Tabel 1. Jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada penentuan CFU

Pengenceran	Jumlah Koloni
10 x	Tidak bisa untuk dihitung (>300)
10 ² x	Tidak bisa untuk dihitung (>300)
10 ³ x	Tidak bisa untuk dihitung (>300)
10 ⁴ x	Tidak bisa untuk dihitung (>300)
10 ⁵ x	273
10 ⁶ x	231
10 ⁷ x	174
10 ⁸ x	53
10 ⁹ x	38

Hasil pengenceran tersebut menunjukkan bahwa pada pengenceran 10^7x , jumlah koloni yang didapatkan adalah 174 (antara 100-200) maka suspensi pada pengenceran 10^7x yang akan digunakan pada Persentase Kill.

Pada uji *Percentage Kill*, dengan lama kontak 1, 2, dan 5 menit yang dibuat tiga kali pengulangan didapatkan hasil seperti pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada tiap-tiap lama kontak

Waktu	Jumlah koloni			Rata-rata jumlah koloni yang tumbuh	Kontrol
	I	II	III		
1 menit	3	5	7	5	158
2 menit	1	3	4	2,67	59
5 menit	0	1	2	1	14

Keterangan tabel :

- I : pengulangan 1
 II : pengulangan 2
 III : pengulangan 3

Hasil uji *Percentage Kill* tersebut dimasukkan ke dalam rumus *Percentage Kill*, sehingga didapatkan hasil sebagai berikut :

$$\text{Percentage Kill menit ke-1} \\ \frac{158 - 5}{158} \times 100\% = 97\%$$

$$\text{Percentage Kill menit ke-2} \\ \frac{59 - 2,67}{59} \times 100\% = 95\%$$

$$\text{Percentage Kill menit ke-5} \\ \frac{14 - 1}{14} \times 100\% = 93\%$$

Hasil uji *Percentage Kill* pada menit ke-1, menit ke-2, dan menit ke-3 berturut-turut 97%, 95%, dan 93%. Interpretasi hasil *Percentage Kill* ini dinyatakan baik karena $\geq 90\%$.

Pengolahan data secara komputerisasi. Uji normalitas data dengan uji *kolmogorov smirnov* sehingga didapatkan hasil $p = 0,045$ ($p < 0,05$) sehingga disimpulkan bahwa data berdistribusi tidak normal. *Kruskal-wallis test* untuk melihat perbandingan antara kontrol dan jamur yang diberikan perlakuan dengan 3 kali pengulangan sehingga didapatkan hasil seperti yang tersaji pada Tabel 3.

Tabel 3. Rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada pengulangan 1, 2, 3, dan kontrol

Variabel	n	Mean Rank	p
I	3	3,00	
II	3	5,33	0,049
III	3	6,67	
Kontrol	3	11,00	

Keterangan tabel :

- I : pengulangan 1
 II : pengulangan 2
 III : pengulangan 3
 n : jumlah plat

Hasil penelitian didapatkan bahwa $p = 0,049$ ($p < 0,05$), hal ini menunjukkan terdapat perbedaan signifikan antara kontrol dan tiap-tiap pengulangan.

Selanjutnya dilakukan uji *mann-whitney* untuk melihat perbedaan rata-rata antara pengulangan 1, 2, 3 dan kontrol sehingga didapatkan hasil seperti yang tersaji pada Tabel 4.

Tabel 4. Perbandingan jumlah koloni yang tumbuh pada pengulangan 1, 2, 3, dan kontrol

	n	Mean Rank	p
I	3	4,50	$p = 0,184$
II	3	2,50	
I	3	5,00	$p = 0,050$
III	3	2,00	
I	3	2,00	$p = 0,050$
Kontrol	3	5,00	
II	3	4,50	$p = 0,184$
III	3	2,50	
II	3	2,00	$p = 0,050$
Kontrol	3	5,00	
III	3	2,00	$p = 0,050$
Kontrol	3	5,00	

Keterangan tabel :

- I : pengulangan 1
 II : pengulangan 2
 III : pengulangan 3
 n : jumlah plat

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antara pengulangan 1 dan 3, pengulangan 1 dan kontrol, pengulangan 2 dan kontrol, serta pengulangan 3 dan kontrol ($p = 0,05$).

Pada pengujian statistik untuk melihat perbedaan antara menit 1, 2, dan 5, dilakukan uji *kruskal-wallis* sehingga didapatkan hasil seperti yang tersaji pada tabel 5.

Tabel 5. Rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada menit 1, 2, dan 5

Variabel	n	Mean Rank	p
Menit 1	4	8,63	
Menit 2	4	6,50	0,247
Menit 5	4	4,38	

Keterangan tabel

n : jumlah plat termasuk plat kontrol

Hasil uji didapatkan nilai $p = 0,247$, hal ini menunjukkan tidak ada perbedaan signifikan terhadap pertumbuhan jamur dengan lama kontak sabun ekstrak daun sirih antara menit 1,2 dan 5.

PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sabun ekstrak daun sirih dapat membunuh *Candida albicans*. Hal ini dapat terlihat dari sedikitnya jumlah koloni yang tumbuh baik pada pengulangan 1, 2, dan 3 dibandingkan dengan kontrol. Uji *Mann-whitney* dilakukan untuk melihat perbandingan antara pengulangan 1 dan kontrol, pengulangan 2 dan kontrol, pengulangan 3 dan kontrol. Hasil penelitian menunjukkan perbedaan yang bermakna antara pengulangan 1 dan kontrol, pengulangan 2 dan kontrol, pengulangan 3 dan kontrol ($p = 0,05$). Hal ini menunjukkan ekstrak daun sirih yang terdapat dalam sabun berpengaruh terhadap kemampuan sabun dalam membunuh *Candida albicans*. Hal ini dikarenakan zat *fenil propane* dalam ekstrak daun sirih yang menyebabkan denaturasi protein pada dinding sel *Candida albicans*. Selain itu *fenil propane* dapat mendenaturasi enzim protease yang dibutuhkan oleh jamur untuk mendegradasi protein sehingga mengakibatkan metabolisme dan pertumbuhan *Candida albicans* terhambat.⁵

Pada perbandingan pengaruh lama kontak terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, terdapat perbedaan rata-rata jumlah koloni yang muncul pada menit 1 dengan menit 2, yaitu pada menit 1 adalah 5

dan menit 2 adalah 2,67, perbedaan yang didapat adalah 2,33. Begitu pula pada menit 2, rata-rata koloni yang tumbuh adalah 2,67 dan pada menit 5 adalah 1 sehingga perbedaan yang didapat adalah 1,67. Namun, perbedaan tersebut tidak terlalu signifikan. Hal ini dibuktikan dengan uji *Kruskal-willis*. Hasil penelitian menunjukkan tidak ada perbedaan yang bermakna ($p > 0,05$).

Tidak adanya perbedaan yang signifikan terhadap pertumbuhan *Candida albicans* antara lama kontak 1, 2, dan 5 menit disebabkan oleh tannin yang terdapat dalam ekstrak daun sirih. Tannin menghambat kerja enzim *C-14 demethylase* sehingga menghambat pembentukan ergosterol dan selanjutnya menghambat pembentukan khitin. Khitin diperlukan dalam proses pertunasan *Candida albicans*.⁵

Detergen yang terdapat pada sabun dapat mengurangi perlekatan bakteri atau jamur pada kulit sehingga terdapat pengurangan koloni bakteri dan jamur. Triclosan juga terkandung pada produk sabun ekstrak daun sirih. Selain memiliki aktivitas antimikroba, triclosan juga diketahui memiliki efek antijamur. Triclosan mengganggu proses sintesis asam lemak, metabolisme sterol, dan mekanisme CDR. Triclosan juga bertindak sebagai agen membranotropik non-spesifik, yaitu mengganggu stabilitas struktur membran yang mengakibatkan penurunan integritas fungsional membran tanpa menginduksi terjadinya lisis sel, dalam melawan *Candida albicans* sehingga menyebabkan kerusakan membran plasma.^{6,8-9} Penelitian Yu, dkk menunjukkan bahwa kombinasi triclosan dan flukonazol dapat mengurangi *Candida albicans* resisten flukonazol.¹⁰

Sabun ekstrak daun sirih bersifat fungistatik dengan nilai Persentase Kill pada menit 1, 2, dan 5 adalah 97%, 95%, dan 93%. Penggunaan sabun ekstrak daun sirih pada lama kontak 1 menit sudah dapat memberikan hasil yang baik.

SIMPULAN

Sabun ekstrak daun sirih memiliki efek fungistatik namun tidak terdapat perbedaan bermakna terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada lama kontak 1,2, dan 5 menit.

DAFTAR PUSTAKA

1. Jawets, Melnick, Adelberg. Mikrobiologi kedokteran (terjemahan). Edisi ke-23. Jakarta: EGC; 2007.hlm.657-60.
2. Pudjiati SR, Soedarmadi. Kandidosis genitalis dalam infeksi menular seksual. Edisi ke-4. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2009.hlm.171-9.
3. Dalimartha S. Atlas tumbuhan obat indonesia jilid ke-4. Jakarta: Puspa Swara Madana; 2006.hlm.87-90.
4. Ali I, Khan FG, Suri KA, Gupta BD, Satti NK, Afrin F, *et al.* In vitro antifungal activity of hdroxychavicol isolated from *Piper betle L.* Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials. 2010; 9(7):1-10.
5. Rahmah N, Rahman A. Uji fungistatik ekstrak daun sirih (*Piper betle L.*) terhadap *Candida albicans*. Bioscientiae. 2010; 7(2):17-24.
6. Zubier F, Bramono K, Widaty S, Nilasari H, Louisa M, Rosana Y. Efikasi sabun ekstrak sirih merah dalam mengurangi gejala keputihan fisiologis. Maj Kedokt Ind. 2010; 60(1):9-14.
7. Laboratorium Mikrobiologi Klinik Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Pemeriksaan laboratorium mikrobiologi lingkungan dan industri. Jakarta: FKUI; 2010. hlm.1-11.
8. Higgins J, Pinjon E, Oltean HN, White TC, Kelly SL, Martel CM, *et al.* Triclosan antagonizes fluconazole activity against *Candida albicans*. J Dent Res. 2012;91(1):65-70.
9. Loho T, Utami L. Uji efektivitas antiseptik *Triclosan 1%* terhadap *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, dan *Pseudomonas aeruginosa*. Maj Kedokt Ind. 2007;57(6):171-8.
10. Yu L, Ling G, Deng X, Jin J, Jin Q, Guo N. In Vitro interaction between fluconazole and triclosan against clinical isolates of fluconazole-resistant *Candida albicans* determined by different method. Antimicrob Agents Chemother. 2011; 55(7): 3609-12.