

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Lengkuas Putih (*Alpinia galanga* L.)

1. Sistematika lengkuas putih

Kedudukan tanaman lengkuas putih (*Alpinia galanga* L.) dalam sistematika atau taksonomi tumbuhan sebagai berikut (DepKes RI 2000)

| | |
|--------------|-----------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Sub kingdom | : Tracheobionta |
| Super divisi | : Spermatophyta |
| Divisi | : Magnoliophyta |
| Kelas | : Liliopsida |
| Sub kelas | : Commelinidae |
| Ordo | : Zingiberales |
| Family | : Zingiberaceae |
| Genus | : <i>Alpinia</i> |
| Spesies | : <i>Alpinia galanga</i> L. |

2. Morfologi lengkuas putih

Terna tahunan berbatang semu, tumbuh tegak, tinggi 1 meter sampai 3 meter. Batang muda keluar sebagai tunas dari pangkal batang tua. Daun berbentuk lanset, bundar memanjang, ujung tajam, berambut sangat halus atau kadang-kadang tidak berambut, bagian tepi berwarna putih bening, warna permukaan daun bagian atas hijau tua, buram, dan bagian bawah hijau muda; urat daun menyirip sejajar, panjang 24 cm sampai 47 cm dan lebar 3,5 cm sampai 11,5 cm; tangkai daun pendek, panjang 1 cm sampai 1,5 cm, bagian dasar tangkai daun terdapat lidah, berwarna kecoklatan dan berambut halus.

Makroskopis rimpang lengkuas berbau aromatik dan rasa pedas. Potongan panjang 4 cm sampai 6 cm, tebal 1 cm sampai 2 cm, kadang-kadang bercabang, ujung bengkok, warna permukaan coklat kemerahan, parut daun jelas. Bekas patahan berserat pendek, berbutir-butir kasar, warna coklat.

Mikroskopis rimpang lengkuas diantaranya epidermis terdiri dari 1 lapis sel keil agak pipih, dinding, berwarna kuning kecoklatan, kutikula jelas. Korteks parenkimatik, jaringan korteks bagian luar terdiri dari beberapa lapis sel dengan dinding tipis berwarna kuning kecoklatan; jaringan korteks bagian dalam terdiri dari sel parenkim besar, dinding tipis, tidak berwarna, kadang-kadang bernoktah halus, berisi butir pati. Pada parenkim tersebar idioblas berisi minyak dan zat samak, warna coklat muda atau coklat tua yang dengan penambahan besi (III) klorida LP warna berubah menjadi kehitaman. Butir pati tunggal, bentuk lonjong atau bulat telur, lamela tidak jelas, panjang butir 8 mikrometer sampai 60 mikrometer, umumnya 25 mikrometer sampai 50 mikrometer. Endodermis terdiri dari sel yang lebih kecil dari sel parenkim, dinding sel tipis, tidak berisi pati. Berkas pembuluh kolateral, tersebar dalam parenkim, dikelilingi serabut. Serabut kecil memanjang, dinding sel tebal, tidak berlignin, lebar lumen 20 mikrometer sampai 40 mikrometer, bernoktah. Xilem umumnya berupa pembuluh jala, pembuluh noktah, dan pembuluh tangga, lebar 20 mikrometer sampai 60 mikromrter, tidak berlignin. Floem sedikit dan tidak jelas. (DepKes RI1978)

3. Kandungan senyawa lengkuas putih

Lengkuas memiliki rasa pedas dan bersifat hangat. Beberapa bahan kimia yang terkandung dalam lengkuas, di antaranya 1'-asetosikavikol asetat;F-asetoksieugenol asetat;kariofillin oksida; kariofillenol; I,II,pentadekanoat-7-hetadekana; kuersetin 3-metil eter; isorhamneetin; kaempferida; galangin; galangin 3-metil eter;ramnositrin; dan 7-hidoksi-3-5-dimetoksiflavon. Rimpangnya juga mengandung minyak atsiri 1% dengan kandungan metilsinamat, sineol, kamfer, 8-pinen, galangin, eugenol, kamfor, galangol, seskuiterpen, kadinema, hidraten, heksahidrokalene, dan kristal kuning.(Hariana 2013)

Komponen kimia utama yang memberikan aroma pada lengkuas adalah senyawa asetoksikhavikol asetat (ACA/galangal asetat) yang bersifat sebagai anti alergi, anti oksidan, dan anti jamur (Jansenn dan Scheffer 1985).

4. Persyaratan standarisasi lengkuas putih

Rimpang lengkuas memiliki kandungan minyak atsiri tidak kurang dari 0,50% v/b. Persyaratan lain dari simplisia lengkuas menurut DepKes RI(2008),

antara lain susut pengerigan tidak lebih dari 10%; kadar abu total tidak lebih dari 3,9%; abu tidak larut asam tidak lebih dari 3,7%; sari larut air tidak kurang dari 4,5%; dan sari larut etanol tidak kurang dari 2,0%. Persyaratan standarisasi dari ekstrak lengkuas menurut DepKes RI(2008), antara lain kadar air tidak lebih dari 10%; abu total tidak lebih dari 4,9%; dan abu tidak larut asam tidak lebih dari 1,8%.

5. Khasiat dan efek farmakologis lengkuas putih

Efek farmakologis lengkuas, antara lain menetralkan racun, menurunkan panas, menghilangkan rasa sakit nyeri, meluruhkan kentut, *stomachica*, *carminative*, *diuretik*, *stimulant*, dan obat jamur.

Rimpang lengkuas biasanya digunakan untuk demam, kejang panas, masuk angin, tidak nafsu makan, menghilangkan bau mulut dan bau badan, sariawan, sakit gigi, sakit tenggorokan, obat kuat, pelancar haid, diare, disentri, kolera, membersihkan darah nifas, merawat payudara, rematik, kesleo, jerawat, eksim, panu, kurap, kutil, dan bercak-bercak di kulit (Hariana 2013).

Menurut Salni dkk (2013), hasil penelitian menunjukkan bahwa uji aktifitas ekstrak lengkuas pada konsentrasi 10% sudah dapat menghambat pertumbuhan jamur. Penelitian ini juga berlanjut sampai fraksinasi, diperoleh fraksi aktif adalah fraksi n-heksan. Nilai KHM dari fraksi n-heksan terhadap *Candida albicans* adalah 0,156% dan nilai KHM senyawa aktif terhadap *Candida albicans* adalah 0,015%.

B. Sirih Hijau (*Piper betle* L.)

1. Morfologi sirih hijau

Tumbuh memanjat, tinggi 5 meter sampai 15 meter. Helaiian daun berbentuk bundar telur atau bundar telur lonjong, pada bagian pangkal berbentuk jantung atau agak bundar, tulang daun bagian bawah gundul atau berambut sangat pendek, tebal, berwarna putih, panjang 5 cm smapai 18 cm, lebar 2,5 cm sampai 10,5 cm.

Bunga berbentuk bulir, berdiri sendiri di ujung cabang dan berhadapan dengan daun. Daun pelindung berbentuk lingkaran, bundar telur terbalik atau

lonjong, panjang kira-kira 1 mm. Bulir jantan, panjang gagang 1,5 cm sampai 3 cm, benangsari sangat pendek. Bulir betina, panjang gagang 2,5 cm sampai 6 cm. Kepala putik 3 sampai 5. Buah buni, bulat, dengan ujung gundul. Bulir masak berambut kelabu, rapat, tebal 1 cm sampai 1,5 cm. Biji membentuk lingkaran. (Depkes RI 1980)

2. Sistematika sirih hijau

Klasifikasi dari tanaman sirih hijau adalah sebagai berikut (Depkes RI 2000) :

| | |
|----------------|-------------------------|
| Kingdom | : Plantae |
| Divisi | : Magnoliphyta |
| Kelas | : Magnolipsida |
| Ordo | : Piperales |
| Famili | : Piperaceae |
| Genus | : <i>Piper</i> |
| Spesies | : <i>betle</i> |
| Nama binominal | : <i>Piper betle</i> L. |

3. Kandungan senyawa daun sirih hijau

Sirih mengandung 1-4,2% minyak atsiri; hidroksikavicol; 7,2-16,7% kavicol; 2,7-6,2% kavibetol; 0-9,6% allypyrokatekol; 2,2-5,6% karvakol; 26,8-42,5% eugenol; eugenol metil eter; 4,2-15,8% eugenol metil eter; 1,2-2,5% p-cymene; 2,4-4,8% cyneole; 3-9,8% caryophyllene; dan 2,4-15,8% cadinene.

Kerabat lada ini juga mengandung estragol, terpena, seskiterpen, fenil propna, tanin, diastase, gula, dan pati (Hariana 2013). Daun sirih hijau mengandung zat aktif sebagai fungisid berupa *kavikol* dan *karvakol* (Heyne 1987). *Karvakol* bersifat desinfektan dan antijamur, sehingga bisa digunakan untuk obat antiseptik pada bau mulut dan keputihan (Manoi 2007) dan kavikol juga bersifat antijamur (Tjahjani dkk 1999).

4. Persyaratan standarisasi daun sirih hijau

Rimpang lengkuas memiliki kandungan flavonoid tidak kurang dari 0,8 dihitung sebagai rutin. Persyaratan lain dari simplisia lengkuas menurut DepKes RI(2010), antara lain susut pengerigan tidak lebih dari 10%; abu total tidak lebih

dari 3,7%; abu tidak larut asam tidak lebih dari 1,1%; sari larut air tidak kurang dari 14,4%; dansari larut etanol tidak kurang dari 8,1%.Persyaratan standarisasi dari ekstrak daun sirih menurut DepKes RI(2010), antara lain kadar air tidak lebih dari 10%; abu total tidak lebih dari 0,3%; dan abu tidak larut asam tidak lebih dari 0,1%.

5. Khasiat dan efek farmakologis sirih hijau

Anggota famili *Piperaceae* itu bersifat rasa hangat dan pedas. Khasiatnya antara lain sebagai peluruh kentut, menghentikan batuk, mengurangi peradangan, dan menghilangkan gatal. Efek zat aktif *arecoline* (seluruh tanaman) merangsang saraf pusat daya pikir, meningkatkan gerakan peristaltik, antikejang, dan meredakan mendengkur.

Sementara itu, eugenol (daun) untuk mencegah ejakulasi dini, mematikan cendawan *Candida albicans* yang merupakan penyebab keputihan, antikejang, analgesik, anestetik, dan penekan pengendali gerak. Tanin (daun) berfungsi sebagai adstringen (mengurangi sekresi cairan pada vagina), pelindung hati, antidiare, dan antimutagenik. (Hariana 2013).

Menurut Rahma dan Rahman (2010), ekstrak daun sirih 20% sekalipun sudah dapat mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans*. *Candida albicans* mulai terganggu metabolismenya pada konsentrasi 80% dan 100% dengan perbandingan daun sirih sebanyak 100 gram dan aquadest 100 ml. Ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 80% sudah dapat dikatakan memiliki efek fungistatik terbaik terhadap *Candida albicans*. Menurut Ririn (2013), formula obat kumur dengan konsentrasi sirih (*Piper betle* L.) 5% meiliki stabilitas optimum dan paling efektif.

C. Simplisia

Simplisia adalah bahan alamiah yang dipergunakan untuk obat yang belum mengalami pengolahan apapun jugakecuali dinyatakan lain, berupa bahan yang sudah dikeringkan. Simplisia dibedakan menjadi simplisia nabati, hewani dan pelican (mineral). Simplisia nabati adalah simplisia yang berupa tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman. Simplisia nabati adalah simplisia yang

berupa hewan utuh, bagian hewan atau zat yang dihasilkan oleh hewan. Simplisia pelican adalah simplisia yang berupa bahan mineral yang belum diolah atau telah diolah dengan cara sederhana dan belum berupa zat kimia murni. (Depkes RI 1979)

Waktu panen yang tepat pada saat bagian tanaman tersebut mengandung senyawa aktif dalam jumlah yang besar (Depkes RI 1985).

Tujuan dari pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatis akan mencegah penurunan waktu atau kerusakan simplisia. Hal yang perlu diperhatikan saat pengeringan adalah suhu pengeringan, kelembaban udara, aliran udara, waktu pengeringan dan luas permukaan beban. (Depkes RI 1985)

D. Ekstraksi

Ekstrak adalah sediaan yang dapat berupa kering, kental, dan cair, dibuat dengan menyari simplisia nabati atau hewani menurut cara yang sesuai, yaitu maserasi, perkolasi, atau penyeduhan dengan air mendidih. Sebagai cairan penyari digunakan air, eter atau campuran etanol dengan air. Penyarian dilakukan diluar pengaruh sinar matahari langsung. Penyarian dengan campuran etanol dan air dilakukan dengan cara maserasi atau perkolasi. Penyarian dengan eter dilakukan dengan cara perkolasi. Penyarian dengan air dilakukan dengan cara maserasi, perkolasi atau disiram dengan air mendidih.

Pembuatan sediaan ekstrak dimaksudkan agar zat berkhasiat yang terdapat di simplisia terdapat dalam bentuk yang mempunyai kadar yang tinggi dan hal ini memudahkan zat berkhasiat dapat diatur dosisnya. Dalam sediaan ekstrak dapat distandarisasikan kadar zat berkhasiat sedangkan kadar zat berkhasiat dalam simplisia sukar didapat yang sama.

Beda penyarian pada ekstrak dengan tingtur ialah pada ekstrak disari sampai zat berkhasiat dalam simplisia habis sedangkan pada tingtur hanya sebagian zat berkhasiat yang tersari. Ekstrak kering harus mudah digerus menjadi serbuk. (Anief 2017)

Salah satu metode ekstraksi adalah maserasi. Kecuali dinyatakan lain maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat kehalusan yang cocok dimasukkan ke dalam sebuah bejana, lalu dituangi 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari campuran tersebut dikerai, diperas, dicuci ampasnya dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Lalu maserat dipindah dalam bejana tertutup dan dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, maserat dienaptungkan atau disaring. Kemudian maserat disuling atau diuapkan pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50⁰ hingga konsentrasi yang dikehendaki. (DepKes RI 2008)

E. Kombinasi Obat Bahan Alam

Terdapat banyak tanaman atau tumbuh-tumbuhan yang memiliki kandungan farmakologi yang signifikan. Seringkali tanaman atau agen herbal tersebut hanya muncul efek tunggal saja. Hal tersebut memunculkan anggapan bahwa jika tanaman yang memiliki efek tunggal dikombinasikan dengan tanaman lainnya akan memunculkan suatu efek baik efek komplementer, sinergis, maupun kontraindikasi (Philp 2004).

Efek komplementer merupakan suatu efek yang saling mendukung antara zat satu dengan zat lainnya. Efek sinergis merupakan suatu efek yang muncul dari dua atau lebih kandungan kimia yang memiliki khasiat yang sama dan saling menguatkan. Efek kontraindikasi merupakan suatu efek yang muncul karena terdapat kandungan kimia yang memiliki sifat bertentangan. (Pramono 2006)

F. Antifungi

1. Pengertian antifungi

Obat antifungi merupakan obat yang digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur atau fungi. Antifungi juga digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan adanya pertumbuhan jamur. Antifungi ini bekerja

dengan mengikat sterol pada membran plasma fungi sehingga membran plasma sel menjadi sangat permeabel dan sel menjadi mati.

Antifungi golongan azol, contohnya imidazol dan triazol, berhubungan dengan sintesis sterol. Contoh dari imidazol adalah klotrimazol, mikonazol, dan ketokonazol, sedangkan contoh triazol adalah flukonazol dan itrakonazol.

Griseofulvin merupakan antifungi yang diproduksi oleh *penicillium*. Griseofulvin mengikat keratin pada kulit, folikel rambut, dan kuku dengan cara mengblok penggabungan mikrotubul pada mitosis sehingga menghambat reproduksi fungi.

Obat antifungi lainnya adalah tolinaftat yang merupakan alternatif dari mikonazol, asam undesilenat (*undecylenic acid*) dan flucylocine yang merupakan antimetabolit basa sitosin pada sintesis DNA dan RNA (Pratiwi 2008).

2. Mekanisme kerja

Mekanisme kerja antifungi :

2.1 Kerusakan pada dinding sel. Dinding sel merupakan pelindung bagi sel. Strukturnya dapat dirusak dengan cara menghambat pembentukan atau mengubah bentuk dari dinding sel tersebut. Contoh obat adalah obat antijamur golongan imidazole yaitu klortimazol, ketokonazol, ekonazol, oksinazol, sulkonazol, dan mikonazol.

2.2 Perubahan permeabilitas sel. Membran sitoplasma mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta secara selektif mengatur aliran keluar masuknya zat antara dengan lingkungan luarnya. Kerusakan pada membrane dapat mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Contoh obatnya adalah nystatin, naftitin, terbinafine, dan butenafin (Lubis 2008).

2.3 Perubahan molekul protein dan asam nukleat. Hidup suatu sel bergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat. Denaturasi protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat bahan kimia dapat mengakibatkan denaturasi *irreversible*. Contoh obatnya adalah griseofulvin dan blastisidin (Lubis 2008).

2.4 Penghambatan kerja enzim. Kerja enzim merupakan sasaran potensial bagi obat yang bekerja sebagai suatu penghambat. Penghambatan enzim dapat menyebabkan terganggunya metabolisme atau matinya sel. Contoh obatnya adalah golongan tiazol yaitu flukonazol dan itrakonazol (Lubis 2008).

G. Metode Uji Antijamur

1. Metoda difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar yang digunakan untuk menentukan aktivitas antifungi. Kerjanya dengan mengamati daerah yang bening, yang mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh antimikroba pada permukaan media agar. Metode difusi Kirby Bauer merupakan cara yang mudah untuk menetapkan kerentanan organisme terhadap antifungi adalah dengan menginokulasi pelat agar dengan biakan dan membiarkan antifungi berdifusi ke media agar.

Cakram yang telah mengandung antifungi diletakkan di permukaan pelat agar yang mengandung organisme yang diuji. Konsentrasi menurun sebanding dengan luas bidang difusi. Pada jarak tertentu dari masing-masing cakram, antifungi terdifusi sampai pada titik dimana antifungi tidak lagi menghambat pertumbuhan jamur atau fungi. Efektivitas antifungi ditunjukkan oleh zona hambatan. Zona hambatan ini tampak sebagai area jernih/bersih yang mengelilingi cakram dimana zat dengan aktifitas antifungi terdifusi. Diameter zona hambat bisa dihitung menggunakan penggaris (Harmita 2005).

Ukuran dari zona hambatan dapat dipengaruhi oleh kepadatan atau viskositas dari media biakan, kecepatan difusi antifungi, konsentrasi antifungi pada cakram filter, sensitivitas organisme terhadap antifungi, dan interaksi antifungi dengan media (Harmita 2005). Menurut Bergeys (2005), ada beberapa klasifikasi respon hambatan pertumbuhan mikroorganisme yang dapat dilihat pada tabel 1 berikut:

Tabel 1. Klasifikasi Respon Hambatan Pertumbuhan Jamur

| Diameter zona hambat | Respon hambatan pertumbuhan |
|----------------------|-----------------------------|
| >20 mm | Sangat kuat |
| 10-20 mm | Kuat |
| 5-10 mm | Sedang |
| ≤ 5 mm | Lemah |

Berdasarkan tabel di atas jamur yang diameter zona hambatnya > 20 mm respon hambatan pertumbuhan bakterinya sangat kuat, jamur yang zona hambatnya 10-20 mm respon hambatan pertumbuhannya kuat, jamur yang zona hambatnya di antara 5-10 mm respon hambatan jamurnya sedang, dan bakteri yang zona hambatnya ≤ 5 mm respon hambat jamurnya lemah. Metoda difusi ini dibagi atas beberapa cara antara lain cara silinder plat, cara cakram, cara *cup plat* (Bonang 1992):

1.1 Cara silinder plat. Cara ini dengan memakai alat penghadang berupa silinder kawat. Pada permukaan media pembedihan mikroba dibiakkan secara merata lalu diletakkan pencadangan silinder harus benar-benar melekat pada media, kemudian di inkubasi pada suhu dan waktu tertentu. Setelah inkubasi, pencadangan silinder diangkat dan diukur daerah hambat pertumbuhan mikroba.

1.2 Cara cakram. Cakram kertas yang berisi antifungi diletakkan pada media agar yang telah ditanami jamur yang akan berdifusi pada media agar tersebut.

1.3 Cara *cup plat*. Cara ini juga sama dengan cara cakram, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi antifungi yang akan di uji.

Beberapa faktor yang dapat mempengaruhi hasil pengamatan aktivitas antifungi dengan metode difusi, antara lain:

1.3.1 Kedalaman Agar. Untuk memperoleh sensitivitas yang optimal, cawan petri diisi dengan lapisan agar tidak lebih dari 2 sampai 3 mm dan merata pada setiap bagiannya. Keseragaman kedalaman Agar penting untuk menjamin datarnya bagian dasar sebagai tempat pengujian.

1.3.2 Ukuran Inokulum. Merupakan salah satu variabel penting yang berpengaruh pada besar kecilnya zona hambatan dan konsentrasi hambat minimum. Jika ukuran inokulum kecil, akan diperlukan lebih banyak waktu untuk

mencapai masa sel jamur. Akibatnya zona hambat yang terbentuk akan menjadi lebih besar, dan konsentrasi hambat minimum menjadi lebih kecil.

1.3.3 Komposisi Media. Aktivitas zat antimikroba dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti kation-kation dalam media. pH media dan adanya berbagai macam bahan antagonis. Kecepatan difusi dari zat antifungi ditentukan oleh konsentrasi media, konsentrasi berbagai ion dan adanya ikatan elektrostatik antara zat antimikroba dengan sekumpulan ion dalam media. Kapasitas gizi dari media juga sangat mempengaruhi panjangnya fase pertumbuhan dari mikroba uji, dan akan turut mempengaruhi ukuran zona hambatan dan konsentrasi hambat minimum.

1.3.4 Temperatur Inkubasi. Tiap-tiap golongan jamur memiliki temperatur pertumbuhan optimal (fungi umumnya 10-35°C, bakteri 20-45°C). Inkubasi akan sangat mempengaruhi pertumbuhan jamur uji. Kecepatan pertumbuhan akan menurun pada temperatur yang lebih rendah daripada temperatur optimal pertumbuhan jamur dan terhenti pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur optimal pertumbuhan jamur.

1.3.5 Waktu Inkubasi. Besarnya zona hambatan ditentukan pula oleh jangka waktu inkubasi. Misalnya kebanyakan bakteri patogen dapat diamati pertumbuhannya setelah 5 atau 6 jam inkubasi. Pada inkubasi selanjutnya zona hambatan akan menjadi lebih kecil karena terjadi perubahan pertumbuhan jamur pada tepi zona hambatan dan konsentrasi hambatan minimum akan lebih besar.

1.3.6 Konsentrasi zat antimikroba. Semakin tinggi konsentrasi zat aktif antifungi akan semakin besar hambatan terhadap pertumbuhan jamur, sehingga zona hambatan akan lebih besar.

2. Metode dilusi

Metode ini mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration* atau kadar hambat minimum, KHM) dan MBC (*minimum bactericidal concentration* atau kadar bunuh minimum, KBM). Caranya dengan membuat pengenceran antifungi pada medium cair yang ditambahkan dengan jamur uji. Larutan uji antifungi pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan jamur uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM selanjutnya dikultur ulang

pada media cair tanpa penambahan jamur uji ataupun antifungi, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah diinkubasi ditetapkan sebagai KBM (Bonang 1992)

Metode dilusi terdiri dari dua teknik pengerjaan, yaitu teknik dilusi perbenihan cair dan teknik dilusi agar yang bertujuan untuk penentuan aktivitas antifungi secara kuantitatif, antifungi dilarutkan kedalam media agar atau kaldu, yang kemudian ditanami bakteri yang akan dites. Setelah diinkubasi semalam, konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan jamur disebut dengan MIC (minimal inhibitory concentration). Nilai MIC dapat pula dibandingkan dengan konsentrasi obat yang didapat di serum dan cairan tubuh lainnya untuk mendapatkan perkiraan respon klinik.

2.1 Dilusi perbenihan cair. Dilusi perbenihan cair terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya pengerjaannya sama hanya berbeda dalam volume. Untuk makrodilusi volume yang digunakan lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi volume yang digunakan 0,05 ml sampai 0,1 ml. Antimikroba yang digunakan disediakan pada berbagai macam pengenceran biasanya dalam satuan $\mu\text{g/ml}$, konsentrasi bervariasi tergantung jenis dan sifat antibiotik, misalnya sefotaksim untuk uji kepekaan terhadap *Streptococcus pneumoniae*, pengenceran tidak melebihi 2 $\mu\text{g/ml}$, sedangkan untuk *Escherichia coli* pengenceran dilakukan pada 16 $\mu\text{g/ml}$ atau lebih.

Secara umum untuk penentuan MIC, pengenceran antimikroba dilakukan penurunan konsentrasi setengahnya misalnya mulai dari 200, 100, 50, 25, 12,5 $\mu\text{g/ml}$ konsentrasi terendah yang menunjukkan hambatan pertumbuhan dengan jelas baik dilihat secara visual atau alat semiotomatis dan otomatis, disebut dengan konsentrasi daya hambat minimum/MIC (*minimal inhibitory concentration*).

2.2 Dilusi agar. Pada teknik dilusi agar, antibiotik sesuai dengan pengenceran akan ditambahkan ke dalam agar, sehingga akan memerlukan perbenihan agar sesuai jumlah pengenceran ditambah satu perbenihan agar untuk kontrol tanpa penambahan antibiotik, konsentrasi terendah antibiotik yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri merupakan MIC antibiotik yang diuji. Salah

satu kelebihan metode agar dilusi untuk penentuan MIC *Neisseria gonorrhoeae* yang tidak dapat tumbuh pada teknik dilusi perbenihan cair.

Dasar penentuan antimikroba secara *in vitro* adalah MIC (*minimum inhibition concentration*) dan MBC (*minimum bactericidal concentration*). MIC merupakan konsentrasi terendah bakteri yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan hasil yang dilihat dari pertumbuhan koloni pada agar atau kekeruhan pada pembiakan cair. Sedangkan MBC adalah konsentrasi terendah antimikroba yang dapat membunuh 99,9% pada biakan selama waktu yang ditentukan.

Keuntungan dan kerugian metode dilusi memungkinkan penentuan kualitatif dan kuantitatif dilakukan bersama-sama. MIC dapat membantu dalam penentuan tingkat resistensi dan dapat menjadi petunjuk penggunaan antimikroba. Kerugiannya metode ini tidak efisien karena pengerjaannya yang rumit, memerlukan banyak alat-alat dan bahan serta memerlukan ketelitian dalam proses pengerjaannya termasuk persiapan konsentrasi antimikroba yang bervariasi. (Bonang 1992)

H. Jamur *Candida albicans*

1. Klasifikasi *Candida albicans*

Klasifikasi *Candida albicans* menurut Waluyo (2004)

| | |
|---------|--------------------------------------|
| Kingdom | : Fungi |
| Divisi | : Thallophyta |
| Kelas | : Deuteromycetes |
| Ordo | : Moniliales |
| Family | : Cryptococcaceae |
| Genus | : <i>Candida</i> |
| Spesies | : <i>Candida albicans ATCC 10231</i> |

Jamur merupakan salah satu penyebab infeksi pada penyakit terutama di negara-negara tropis. Iklim tropis dengan kelembaban udara yang tinggi di Indonesia sangat mendukung pertumbuhan jamur. Salah satu jamur patogen pada manusia adalah *Candida albicans*. Jamur *Candida albicans* hidup sebagai saprofit

pada selaput lendir mulut, vagina dan saluran pencernaan. Keadaan tertentu dapat menyebabkan *Candida albicans* menjadi patogen akibat melemahnya sistem kekebalan tubuh dengan tumbuh terlalu cepat dan membebaskan zat berbahaya (Campbell et al. 2003).

2. Morfologi

Pada sediaan apus eksudat, *Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). *Candida albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada rongga-rongga diantara sel. *Candida albicans* bersifat dimorfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa, *Candida albicans* juga bias menghasilkan hifa sejati.

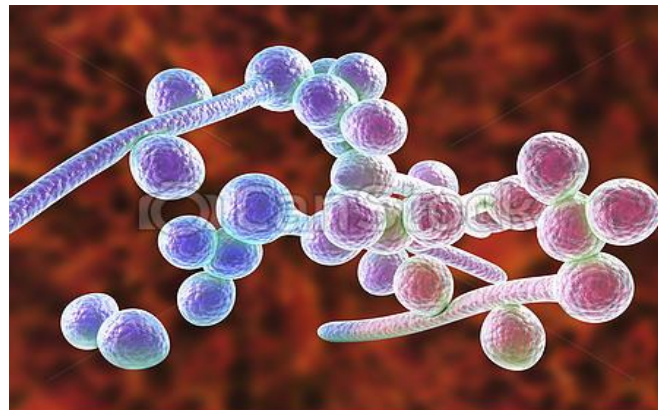
Candida albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu. Perbedaan bentuk ini tergantung pada factor eksternal yang mempengaruhinya. Sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran 2-3 μ x 3-6 μ hingga 2-5,5 μ x 5-28 μ . *Candida albicans* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12 μ (Simatupang 2009).

3. Karakteristik

Jamur dapat lebih bertahan dalam keadaan alam sekitar yang tidak menguntungkan dibanding jasad renik lainnya. Jamur dapat bertahan terhadap keadaan yang lebih asam daripada kebanyakan mikroba lainnya (Pandjaitan R dkk, 1992). Proses fermentasi *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob sedangkan pada suasana anaerob hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂ (Waluyo 2004).

4. Patogenteis

Jamur *Candida albicans* merupakan mikroorganisme endogen yang menimbulkan suatu keadaan yang disebut kandidiasis, yaitu penyakit pad selaput lender mulut, vagina, dan saluran pencernaan.infeksi yang leih gawat dapat menyerang jantung (endocarditis), darah (septisemia), dan otak (meningitis). Infeksi *Candida albicans* pada umumnya merupakan infeksi *opportunistic*, dimana penyebab infeksi nya dari flora normal *host* atau dari mikroorganisme penghuni sementara ketika *host* mengalami kondisi *immunocompromised*. Dua factor penting pada infeksi opportunistic adalah adanya paparan agent penyebab dan kesempatan terjadinya infeksi. Factor predisposisi meliputi penurunan imunitas yang diperantarai oleh sel, perubahan membrane mukosa dan kulit serta adanya benda asing (Lestari 2010)



© CanStockPhoto.com - csp46690010

Gambar 1. *Candida albicans* yang dilihat dari mikroskop elektron

Candidiasis adalah infeksi jamur yang disebabkan oleh jenis jamur yaitu *Candida*, atau *Candida albicans*. Candidiasis dapat mempengaruhi area kelamin, mulut, kulit, dan darah. Selain itu, obat-obatan dan kondisi kesehatan tertentu dapat menyebabkan lebih banyak jamur yang tumbuh, terutama di area tubuh yang hangat dan lembap. Candidiasis pada vagina disebut *yeast vaginitis* dan candidiasis pada mulut dikenal sebagai *thrush*. Gejala candidiasis bervariasi tergantung pada area infeksi. Anda mungkin memiliki bagian kulit berwarna merah atau putih yang menyebabkan gatal dan iritasi. Tanda-tanda lainnya meliputi kesulitan menelan atau rasa sakit (Jawetz *et al.* 2008).

Cara untuk identifikasi *Candida albicans* yaitu dengan cara bahan yang akan diuji dihomogenkan dan diencerkan dengan pengenceran 1:10. Hasil pengenceran sampel 1:10 tersebut kemudian dipipet sebanyak 10 ml, 1 ml, dan 0,1 ml. Hasil pipet dimasukkan ke dalam 3 buah wadah yang masing-masing berisi 60 ml, 10 ml, dan 10 ml media sabouraud dextrose broth (SBD). Biakan diinkubasi pada suhu 20-25⁰C selama 48 jam. Koloni yang tumbuh dengan ciri-ciri putih kekuningan dengan tepi yang tidak rata diambil untuk uji mikroskopik dan pengamatan morfologi koloni dan bentuk klamidospora *Candida albicans* (Radji 2010)

Ketika kondisi inang *Candida albicans* menjadi lemah karena suatu penyakit seperti pneumonia atau jika bakteri saingannya tertekan seperti pengobatan antibiotik yang berlanjut *Candida albicans* dapat menyebabkan infeksi. *Candida albicans* menimbulkan suatu infeksi yang disebut kandidiasis. Infeksi yang lebih gawat dapat menyerang jantung (*endokarditis*), darah (*septicemia*), dan otak (*meningitis*) (Pelczar dan Chan 2005).

5. Cara identifikasi *Candida albicans*

5.1 Pemeriksaan langsung *Candida albicans* dengan larutan KOH

Pemeriksaan langsung dengan Larutan KOH dapat berhasil bila jumlah jamur cukup banyak. Keuntungan pemeriksaan ini dapat dilakukan dengan cara sederhana, dan terlihat hubungan antara jumlah dan bentuk jamur dengan reaksi jaringan. Pemeriksaan langsung harus segera dilakukan setelah bahan klinis diperoleh sebab *C. albicans* berkembang cepat dalam suhu kamar sehingga dapat memberikan gambaran yang tidak sesuai dengan keadaan klinis. Gambaran pseudohifa pada sediaan langsung/apus dapat dikonfirmasi melalui pemeriksaan kultur, merupakan pilihan untuk menegakkan diagnosis kandidiasis superfisial (Greenwood 2007).

5.2 Pemeriksaan langsung *Candida albicans* dengan pewarnaan gram

Pemeriksaan langsung dengan pewarnaan Gram sedikit membutuhkan waktu dibandingkan pemeriksaan dengan KOH. Pemeriksaan ini dapat melihat jamur *C. albicans* berdasarkan morfologinya, tetapi tidak dapat mengidentifikasi spesiesnya. Pemulasan dengan pewarnaan Gram dapat disimpan untuk penilaian

ulangan. Pewarnaan Gram memperlihatkan gambaran seperti sekumpulan jamur dalam bentuk blastospora, hifa atau pseudohyphae, atau campuran keduanya. Sel jaringan seperti epitel, leukosit, eritrosit, dan mikroba lain seperti bakteri atau parasit juga dapat terlihat dalam sediaan. Jamur muncul dalam bentukan budding yeast cells dan pseudomycelium (Bhavan 2010).

5.3 Pemeriksaan kultur pada *Candida albicans*. Pemeriksaan kultur dilakukan dengan mengambil sampel cairan atau kerokan sampel pada tempat infeksi, kemudian diperiksa secara berturut-turut menggunakan Sabouraud's dextrose broth kemudian Sabouraud's dextrose agar plate. Sabouraud's dextrose broth/SDB berguna untuk membedakan *C. albicans* dengan spesies jamur lain seperti *Cryptococcus*, *Hasenula*, *Malaesezzia*. Pemeriksaan ini juga berguna mendeteksi jamur kontaminan untuk produk farmasi. Pembuatan SDB dapat ditempatkan dalam tabung atau plate dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24-48 jam, setelah 3 hari tampak koloni *C. albicans* sebesar kepala jarum pentul, 1-2 hari kemudian koloni dapat dilihat dengan jelas. Koloni *C. albicans* berwarna putih kekuningan, timbul di atas permukaan media, mempunyai permukaan yang pada permulaan halus dan licin dan dapat agak keriput dengan bau ragi yang khas. Pertumbuhan pada SDB baru dapat dilihat setelah 4-6 minggu, sebelum dilaporkan sebagai hasil negatif (Greenwood 2007).

I. Obat Kumur

Obat kumur adalah sediaan cair yang digunakan langsung pada mulut terkadang berupa larutan pekat yang harus diencerkan dahulu sebelum digunakan, dimaksudkan untuk digunakan sebagai pencegahan atau pengobatan infeksi tenggorokan.

Tujuan utama penggunaan obat kumur adalah dimaksudkan agar obat yang terkandung di dalamnya dapat langsung terkena selaput lendir sepanjang tenggorokan dan tidak dimaksudkan agar obat itu menjadi pelindung selaput lendir. Karena itu obat berupa minyak yang memerlukan zat suspensi dan obat yang bersifat lendir tidak sesuai untuk dijadikan obat kumur.

Catatan yang harus tertera pada etiket adalah :

1. Petunjuk pengenceran sebelum digunakan
2. Hanya untuk kumur, tidak untuk ditelan. (Anief 2017)

Obat kumur harus melalui beberapa pengujian mutu fisik sebelum digunakan diantaranya adalah uji organoleptis, uji pH, uji viskositas, dan uji stabilitas fisik obat kumur (Rasyadi 2018).

Terdapat banyak pilihan obat kumur dengan kandungan bahan pendukung berbeda-beda yang tentunya memberikan manfaat berbeda pula. Produk-produk obat kumur dapat mengandung bahan-bahan berikut:

1. Antimikrobia: mengurangi plak, gingivitis, serta peradangan gusi pada tahap awal, serta membunuh bakteri penyebab bau mulut.
2. Zat pembasmi bau mulut: menonaktifkan senyawa penyebab bau mulut.
3. *Astringent salt*: bahan penyamar bau mulut.
4. Fluorida: membantu mencegah karang gigi dan gigi berlubang.
5. Peroksida: membantu mencegah kemunculan noda pada permukaan gigi.
6. Antiseptik seperti klorheksidin glukonat atau *hexetidine*
7. Zat perisa seperti sorbitol, sukralosa, *sodium saccharin*.

Obat kumur yang digunakan melalui resep dokter dapat mengandung bahan-bahan antijamur untuk mencegah perkembangan jamur, antibiotik untuk membantu membunuh bakteri, anestesi lokal atau antihistamin, antasid, serta kortikosteroid untuk menangani inflamasi. Kecuali telah diresepkan dokter, sebaiknya hindari penggunaan obat kumur pada anak di bawah usia 6 tahun, terutama yang mengandung alkohol, karena berisiko tertelan. Obat kumur yang mengandung alkohol juga berisiko menyebabkan bau mulut bertambah berat karena dapat menyebabkan mulut semakin kering. Selain itu, hingga saat ini terdapat perdebatan para ahli mengenai penggunaan obat kumur yang mengandung alkohol pada jangka panjang dengan kaitannya terhadap perkembangan kanker mulut (Moynihan 2018)

J. Landasan Teori

Daun sirih dan lengkuas dari turun temurun dan penelitian terdahulu sudah terbukti memiliki khasiat yang cukup banyak salah satunya adalah dalam menghambat pertumbuhan jamur. Lengkuas memiliki aktifitas dalam menghambat pertumbuhan jamur. Menurut Salni dkk (2013), hasil penelitian menunjukkan bahwa uji aktifitas ekstrak lengkuas pada konsentrasi 10% sudah dapat menghambat pertumbuhan jamur. Penelitian ini juga berlanjut sampai fraksinasi, diperoleh fraksi aktif adalah fraksi n-heksan. Nilai KHM dari fraksi n-heksan terhadap *Candida albicans* adalah 0,156% dan nilai KHM senyawa aktif terhadap *Candida albicans* adalah 0,015%. Sementara itu, eugenol (daun) untuk mencegah ejakulasi dini, mematikan cendawan *Candida albicans* yang merupakan penyebab keputihan, antikejang, analgesik, anestetik, dan penekan pengendali gerak. Tanin (daun) berfungsi sebagai adstringen (mengurangi sekresi cairan pada vagina), pelindung hati, antidiare, dan antimutagenik (Hariana 2013).

Menurut Rahma dan Rahman (2010), ekstrak daun sirih 20% sekalipun sudah dapat mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans*. *Candida albicans* mulai terganggu metabolismenya pada konsentrasi 80% dan 100% dengan perbandingan daun sirih sebanyak 100 gram dan aquadest 100 ml. Ekstrak daun sirih dengan konsentrasi 80% sudah dapat dikatakan memiliki efek fungistatik terbaik terhadap *Candida albicans*. Menurut Ririn (2013), formula obat kumur dengan konsentrasi sirih (*Piper betle* L.) 5 % memiliki stabilitas optimum dan paling efektif.

Komponen kimia utama yang memberikan aroma pada lengkuas adalah senyawa asetoksikavikol asetat (ACA/galangal asetat) yang bersifat sebagai anti alergi, anti oksidan, dan anti jamur yang bekerja menghambat metabolisme jamur (Jansenn dan Scheffer 1985). Daun sirih hijau mengandung zat aktif sebagai fungisid berupa *kavikol* dan *karvakol* (Heyne 1987). *Karvakol* bersifat desinfektan dan antijamur, sehingga bisa digunakan untuk obat antiseptik pada bau mulut dan keputihan (Manoi 2007) dan *kavikol* juga bersifat antijamur (Tjahjani dkk 1999).

Candidiasis adalah infeksi jamur yang disebabkan oleh jenis jamur yaitu *Candida*, atau *Candida albicans*. Candidiasis dapat mempengaruhi area kelamin, mulut, kulit, dan darah. Selain itu, obat-obatan dan kondisi kesehatan tertentu dapat menyebabkan lebih banyak jamur yang tumbuh, terutama di area tubuh yang hangat dan lembap. Candidiasis pada vagina disebut *yeast vaginitis* dan candidiasis pada mulut dikenal sebagai *thrush*. Gejala candidiasis bervariasi tergantung pada area infeksi. Anda mungkin memiliki bagian kulit berwarna merah atau putih yang menyebabkan gatal dan iritasi. Tanda-tanda lainnya meliputi kesulitan menelan atau rasa sakit (Jawetz *et al.* 2008).

Metode ekstraksi yang digunakan kecuali dinyatakan lain maserasi dilakukan dengan cara 10 bagian simplisia atau campuran simplisia dengan derajat kehalusan yang cocok dimasukkan ke dalam sebuah bejana, lalu dituangi 75 bagian cairan penyari, ditutup dan dibiarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya matahari sambil sesekali diaduk. Setelah 5 hari campuran tersebut diserkai, diperas, dicuci ampasnya dengan cairan penyari secukupnya hingga diperoleh 100 bagian. Lalu maserat dipindah dalam bejana tertutup dan dibiarkan di tempat sejuk, terlindung dari cahaya selama 2 hari, maserat dienaptuankan atau disaring. Kemudian maserat disuling atau diuapkan pada tekanan rendah pada suhu tidak lebih dari 50⁰ hingga konsentrasi yang dikehendaki. (DepKes RI 2008).

Obat kumur harus melalui beberapa pengujian mutu fisik sebelum digunakan diantaranya adalah uji organoleptis, uji pH, uji viskositas, dan uji stabilitas fisik obat kumur (Rasyadi 2018). Obat kumur merupakan sediaan topikal yang berupa cairan sehingga dapat dilakukan uji antimikroba dengan metode difusi. Metode yang digunakan dapat menggunakan kertas cakram ataupun menggunakan metode sumuran. Cara cakram yaitu cakram kertas yang berisi antibiotik diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media agar tersebut. Cara *cup plat*, cara ini juga sama dengan cara cakram, dimana dibuat sumur pada media agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi antibiotik yang akan di uji. (Bonang 1992)

K. Hipotesis

Ditinjau dari pustaka diatas dapat dibuat hipotesis sebagai berikut :

Pertama, diduga obat kumur kombinasi ekstrak lengkuas dan daun sirih memiliki mutu fisik yang bagus dan stabilitas yang baik.

Kedua, obat kumur dari kombinasi ekstrak lengkuas dan daun sirih diduga memiliki aktifitas antifungi terhadap *Candida albicans*.

Ketiga, diduga konsentrasi 1:2 kombinasi ekstrak lengkuas dan daun sirih yang paling efektif untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena pada penelitian terdahulu kedua bahan tersebut sama-sama memiliki potensi antifungi sehingga efek yang ditimbulkan akan sinergis.