

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil

Penelitian dengan judul “Uji Aktivitas Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara *In Vitro*” telah dilakukan pada bulan Desember 2018 di Laboratorium Mikologi Jurusan Analis Kesehatan Politeknik Kesehatan Kementerian Kesehatan Yogyakarta. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dengan 8 kali pengulangan untuk setiap konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh. Pengulangan yang sama juga dilakukan pada ketokonazol 1% sebagai kontrol positif dan CMC 1% sebagai kontrol negatif.

Pada uji pendahuluan yang telah dilakukan menggunakan minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 1,0% dan 2,0% dihasilkan diameter zona hambat sebesar 13 mm dan 19 mm. Berdasarkan uji pendahuluan diatas, maka dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% atau pada interval 0,5 dari uji pendahuluan untuk memperoleh data hasil pengukuran diameter zona hambat yang optimal terhadap jamur *Candida albicans*.

Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak atsiri bunga cengkeh, diperoleh sebanyak 32 data dari konsentrasi 0,5%, 1,0%, 1,5%

dan 2,0%. Pengukuran diameter zona hambat dengan kontrol positif maupun kontrol negatif masing – masing diperoleh 8 data, sehingga total data yang didapatkan sebanyak 48 data. Keseluruhan data pengukuran diameter zona hambat tersebut ditunjukkan pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

Pengulangan ke-	Diameter Zona Hambat (mm)					
	Konsentrasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh				Ketokonazol 1%	CMC
	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%		
1	9,2	12,0	13,8	14,8	30,3	0,0
2	7,8	11,8	12,0	14,3	29,8	0,0
3	8,2	11,8	13,3	13,2	31,3	0,0
4	8,0	12,2	13,0	14,2	30,7	0,0
5	7,7	12,2	13,3	13,9	29,2	0,0
6	6,8	13,1	12,3	15,9	31,3	0,0
7	7,5	11,4	12,6	12,3	29,7	0,0
8	7,1	11,7	12,1	13,1	30,7	0,0
Jumlah	62,3	96,2	102,4	111,7	243	0,0
Rerata	7,79	12,02	12,80	13,96	30,38	0,0

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

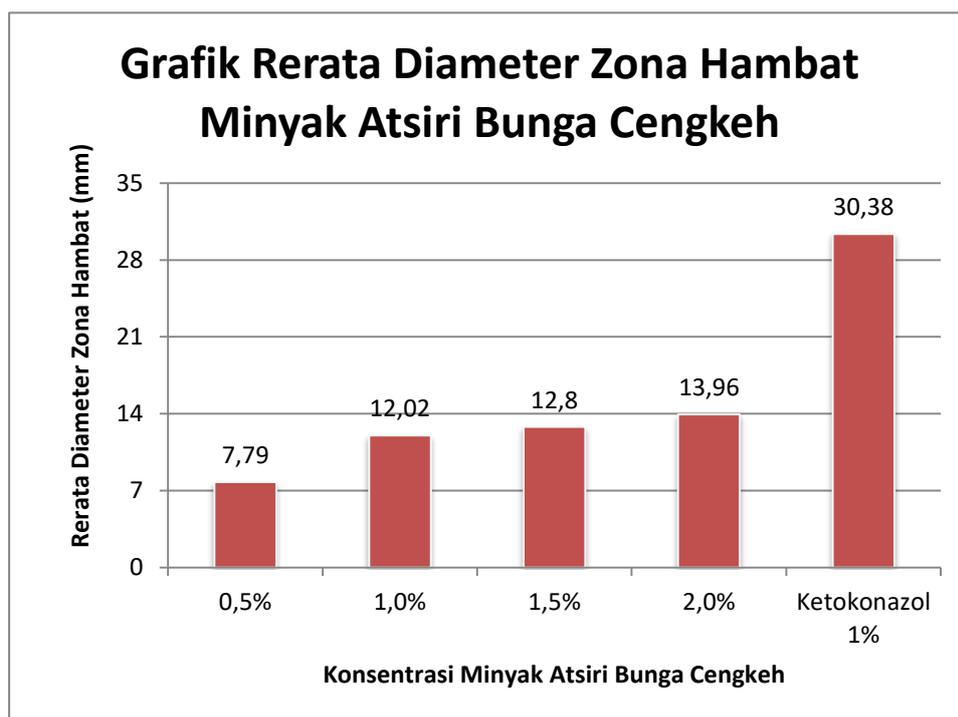
Selanjutnya dari Tabel 3 dapat dilihat hasil uji statistik deskriptif melalui program SPSS versi 16.0 *for windows* yang ditunjukkan pada Tabel 4.

Tabel 4. Rerata Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

Konsentrasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh	N	Mean	Standar Deviasi	Nilai Minimum	Nilai Maksimum
0,5%	8	7,79	0,684539	6,8	9,2
1,0%	8	12,02	0,476314	11,4	13,1
1,5%	8	12,80	0,608276	12,0	13,8
2,0%	8	13,96	1,043956	12,3	15,9

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Tabel 4 menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat jamur *Candida albicans* pada media SDA dengan variasi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 0,5% adalah 7,79 mm, pada konsentrasi 1,0% adalah 12,02 mm, pada konsentrasi 1,5% adalah 12,80 mm dan pada konsentrasi 2,0% adalah 13,96 mm. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh maka semakin besar zona hambat yang dihasilkan. Selanjutnya gambaran diameter zona hambat dari berbagai variasi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Grafik Rerata Diameter Zona Hambat Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

Gambar 7 menunjukkan bahwa kenaikan konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh diikuti dengan semakin besar diameter zona hambat yang dihasilkan. Pada konsentrasi 0,5% minyak atsiri bunga cengkeh sudah

mulai menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang dapat dilihat dari adanya zona hambat yang terbentuk. Selisih rerata diameter zona hambat konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 0,5% dengan konsentrasi 1,0% adalah sebesar 4,23 mm, selanjutnya antara konsentrasi 1,0% dengan konsentrasi 1,5% adalah sebesar 0,78 mm, antara konsentrasi 1,5% dengan konsentrasi 2,0% adalah sebesar 1,16 mm.

Sementara itu, jika dibandingkan dengan kontrol positif ketokonazol 1%, selisih rerata diameter zona hambat minyak atsiri bunga cengkeh konsentrasi 0,5% adalah sebesar 22,59 mm. Selanjutnya selisih rerata diameter zona hambat antara ketokonazol 1% dengan minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 1,0% adalah sebesar 18,35 mm, antara ketokonazol 1% dengan minyak atsiri bunga cengkeh konsentrasi 1,5% adalah sebesar 17,58 mm dan antara ketokonazol 1% dengan minyak atsiri bunga cengkeh konsentrasi 2,0% adalah sebesar 16,41 mm.

Diameter zona hambat yang dihasilkan dari aktivitas antifungi minyak atsiri bunga cengkeh dengan variasi konsentrasi 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% dapat dikelompokkan berdasarkan kekuatannya menurut Davis dan Stout. Selanjutnya pengelompokan kekuatan aktivitas minyak atsiri bunga cengkeh dengan berbagai variasi konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dapat dilihat pada Tabel 5.

Tabel 5. Kekuatan Aktivitas Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

Davis dan Stout		Hasil Penelitian		
Diameter Zona Hambat	Kriteria Kekuatan	Konsentrasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh	Diameter Zona Hambat	Kriteria Kekuatan
< 5 mm	Lemah	0,5%	7,79	Sedang
5 – 10 mm	Sedang	1,0%	12,02	Kuat
10 – 20 mm	Kuat	1,5%	12,80	Kuat
>20 mm	Sangat kuat	2,0%	13,96	Kuat

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Tabel 5 menunjukkan bahwa minyak atsiri bunga cengkeh dengan konsentrasi 0,5% termasuk dalam kriteria sedang, yaitu mampu membentuk diameter zona hambat terhadap jamur *Candida albicans* sebesar 7,79 mm. Sedangkan minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 1,0%, 1,5% dan 2,0% termasuk dalam kriteria kuat dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* berdasarkan ketentuan Davis dan Stout, yaitu mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang dibuktikan dengan terbentuknya diameter zona hambat pada kisaran 10–20 mm.

Sebelum dilakukan uji statistik *One Way Anova* dari data primer hasil pengukuran diameter zona hambat, perlu dilakukan uji normalitas data dan uji homogenitas data. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan *Shapiro Wilk* dikarenakan jumlah data kurang dari 50 data. Berdasarkan uji normalitas data dari semua variasi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh terhadap pengukuran diameter zona hambat didapatkan nilai $p \geq 0,05$, sehingga dapat diartikan bahwa data berdistribusi normal. Setelah diketahui normalitas data, selanjutnya

dilakukan uji homogenitas. Hasil dari uji homogenitas menunjukkan bahwa nilai $p > 0,05$ atau dengan kata lain data homogen. Dengan demikian, syarat untuk melakukan uji statistik *One Way Anova* terpenuhi.

Uji statistik *One Way Anova* dengan tingkat kepercayaan 95% digunakan untuk mengetahui perbedaan secara statistik rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada variasi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yang diberikan. Berdasarkan uji statistik *One Way Anova*, nilai signifikan 0,000 ($p < 0,05$). Sehingga dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan pada rerata diameter zona hambat yang dihasilkan dari seluruh kelompok perlakuan. Semakin besar konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yang diberikan maka akan semakin banyak sel – sel jamur yang dimatikan, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar. Penghambatan pertumbuhan jamur ditandai dengan pertumbuhan jamur yang kurang subur di sekitar disk cakram atau disebut juga zona irradikal.

Untuk mengetahui signifikansi perbedaan rerata diameter zona hambat yang dihasilkan antara kelompok perlakuan dilakukan uji LSD (*Least Significant Diferent*). Hasil uji LSD selanjutnya dapat dilihat pada lampiran, sementara ringkasan hasil uji LSD dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Ringkasan Hasil Uji LSD

Konsentrasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
0,5%	-	S	S	S
1,0%	S	-	TS	S
1,5%	S	TS	-	S
2,0%	S	S	S	-

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

S: Signifikan

TS: Tidak Signifikan

Berdasarkan hasil uji post hoc LSD di atas, dapat diketahui bahwa minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 0,5% dan 2,0% mempunyai perbedaan aktivitas antifungi yang signifikan. Sedangkan pada konsentrasi 1,0% dan 1,5% minyak atsiri bunga cengkeh memiliki perbedaan aktivitas antifungi yang tidak signifikan atau dengan kata lain minyak atsiri bunga cengkeh konsentrasi 1,0% dan 1,5% menghasilkan diameter zona hambat dengan nilai signifikan lebih dari 0,05.

Setelah dilakukan uji post hoc LSD, kemudian dilanjutkan uji regresi. Dari uji regresi diperoleh hasil faktor determinan sebesar 0,78 atau 78,0% yang dapat diartikan bahwa 78,0% diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dipengaruhi oleh aktivitas antifungi minyak atsiri bunga cengkeh, sementara 22,0% sisanya dipengaruhi oleh faktor lain. Besarnya gradien (b) adalah 1,930 dimana dapat diartikan bahwa setiap penambahan konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh sebesar 0,5%, diameter zona hambat akan bertambah sebesar 1,930 mm.

B. Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian untuk mengetahui aktivitas minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode penelitian ini adalah difusi cakram dengan menggunakan variasi konsentrasi minyak atsiri 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% yang dilarutkan pada pelarut CMC 1%. Aktivitas minyak atsiri bunga cengkeh sebagai antifungi dapat dilihat dari diameter zona hambat yang terbentuk pada media SDA yang telah diinokulasi dengan suspensi jamur *Candida albicans* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu ruang. Diameter zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong mulai dari konsentrasi 0,5% sampai konsentrasi 2,0% termasuk juga kontrol positif dan kontrol negatif.

Penelitian ini menggunakan minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 0,5% sebagai konsentrasi terendah dan 2,0% sebagai konsentrasi tertinggi. Hasil pengukuran rerata diameter zona hambat pada konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% berturut – turut adalah 7,79 mm, 12,02 mm, 12,80 mm dan 13,96 mm. Dengan demikian, semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yang diberikan, akan semakin besar diameter zona hambat jamur *Candida albicans* yang terbentuk.

Mekanisme kerja minyak atsiri bunga cengkeh dengan kandungan eugenol (81,2%) yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* ditunjukkan dengan adanya zona irradikal. Peristiwa

penghambatan terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* oleh minyak atsiri bunga cengkeh terutama karena adanya aktivitas zat eugenol (81,2%) yang terkandung didalamnya. Mekanisme kerja eugenol adalah dengan jalan merusak dinding sel jamur sehingga terganggunya permeabilitas dinding sel dimana akan mengakibatkan kerusakan membran sitoplasma dan membran protein yang nantinya akan menyebabkan keluarnya sitoplasma dari dinding sel jamur. Aktivitas eugenol juga mampu menghambat kolonisasi jamur dalam proses pembelahan sel, sehingga pertumbuhan jamur terhambat (Brooks, dkk., 2005).

Apabila dibandingkan dengan ketokonazol 1% sebagai kontrol positif, rerata diameter zona hambat minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi optimal yaitu 2% masih tergolong lebih kecil dengan selisih rerata diameter zona hambatnya sebesar 16,41 mm. Selisih diameter zona hambat pada ketokonazol dan minyak atsiri bunga cengkeh ini dapat terjadi karena keduanya memiliki perbedaan mekanisme kerja sebagai antifungi. Namun pada konsentrasi optimal yaitu 2%, minyak atsiri bunga cengkeh sudah mampu membentuk diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori kuat untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* berdasarkan ketentuan Davis dan Stout, yaitu mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang dibuktikan dengan terbentuknya diameter zona hambat pada kisaran 10–20 mm.

Selisih rerata diameter zona hambat yang dihasilkan minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi 0,5% menunjukkan selisih terbesar jika dibandingkan dengan kelompok konsentrasi lainnya, yaitu sebesar 4,23 mm. Hal ini dapat disebabkan oleh suspensi jamur yang dibuat dan diinokulasikan pada media SDA berasal dari tabung suspensi yang berbeda sehingga diameter zona hambat yang dihasilkan juga berbeda. Selain itu, faktor teknis seperti pemipetan dan homogenisasi suspensi juga dapat mempengaruhi diameter zona hambat yang dihasilkan.

Ketokonazol 1% pada penelitian ini digunakan sebagai kontrol positif dengan mengacu pada jurnal penelitian milik Mbatu, dkk. (2018) yang berjudul Aktivitas Minyak Atsiri Daun Cengkeh sebagai Antijamur terhadap *Candida albicans*. Ketokonazol adalah obat – obatan golongan azol yang bermanfaat dan paling umum digunakan dalam pengobatan kandidiasis. Ketokonazol memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur yaitu dengan menghambat demetilasi lanosterol menjadi ergosterol yang merupakan sterol penting untuk membran jamur, dengan demikian fungsi membran akan terganggu dan permeabilitas meningkat (Mycek, dkk., 2001).

Carboxymethyl cellulose (CMC) pada penelitian ini berfungsi sebagai pelarut minyak atsiri bunga cengkeh dimana sifatnya yang mampu mengikat bahan yang tidak larut air. CMC juga digunakan sebagai kontrol negatif karena tidak memiliki aktivitas antifungi yang dibuktikan dengan tidak terbentuknya diameter zona hambat pada media SDA yang telah

diinokulasi jamur *Candida albicans*. Hal ini juga menjadi acuan bahwasannya pada kelompok eksperimen, yang memiliki aktivitas antifungi dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* sehingga terbentuk zona irradikal adalah minyak atsiri bunga cengkeh.

Penelitian yang dilakukan oleh Mbatu, dkk (2018) menggunakan minyak atsiri daun cengkeh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 0,5% didapati hasil diameter zona hambat sebesar 5,67 mm. Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh peneliti dengan konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yang sama yaitu 0,5%, rerata diameter zona hambat yang dihasilkan adalah 7,79 mm. Hal ini sejalan dengan teori dimana kandungan minyak atsiri pada daun cengkeh sekitar 1–4% atau lebih kecil dibanding minyak atsiri pada bunga cengkeh yaitu 10–20% (Prianto, 2013). Sehingga kandungan eugenol sebagai zat antifungi pada daun cengkeh lebih sedikit dibandingkan kandungan eugenol pada bunga cengkeh.

Penelitian yang dilakukan oleh Andries, dkk (2014) menggunakan bahan ekstrak bunga cengkeh, pada konsentrasi 40% membentuk diameter zona hambat bakteri *Streptococcus mutans* sebesar 16,67 mm, sedangkan pada penelitian dengan minyak atsiri bunga cengkeh konsentrasi 2,0% pada jamur *Candida albicans* membentuk diameter zona hambat maksimal sebesar 15,9 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa minyak atsiri bunga cengkeh dengan konsentrasi yang lebih rendah dibanding ekstrak bunga cengkeh sudah mampu menghambat pertumbuhan mikroorganismenya.

Kelemahan dari penelitian yang dilakukan oleh peneliti adalah minyak atsiri bunga cengkeh pada konsentrasi optimal 2,0% belum mampu menghasilkan diameter zona hambat yang bisa menyamai ketokonazol 1,0% sebagai kontrol positif. Namun, pada konsentrasi 2,0% minyak atsiri bunga cengkeh sudah mampu membentuk diameter zona hambat yang termasuk dalam kategori kuat untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* berdasarkan ketentuan Davis dan Stout, yaitu mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang dibuktikan dengan terbentuknya diameter zona hambat pada kisaran 10–20 mm. Kelemahan lain terletak pada proses pembuatan media SDA, dimana peneliti tidak melakukan pengukuran pH pada media SDA sebelum digunakan.

Faktor yang dapat mempengaruhi hasil penelitian selain faktor teknis seperti pemipetan dan homogenisasi suspensi adalah pembuatan suspensi jamur dan kemampuan penyerapan disk cakram. Pembuatan suspensi dilakukan dengan menyamakannya pada standar kekeruhan *McFarland 0,5* secara visual. Dengan demikian, suspensi yang dibuat oleh peneliti bisa jadi kurang dari atau bahkan lebih dari standar kekeruhan *McFarland 0,5* yang setara dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. Selain itu, kemampuan penyerapan disk yang berbeda – beda juga menjadi kendala dimana peneliti tidak bisa menentukan mana disk yang baik penyerapannya maupun yang kurang baik penyerapannya. Hal ini tentu juga berpengaruh pada diameter zona hambat yang dihasilkan. Selama penelitian, peneliti

juga memantau suhu dan kelembapan yang berperan sebagai salah satu faktor pertumbuhan jamur. Tercatat suhu ruangan adalah 23–25°C dengan kelembapan 80% dan tidak ada perubahan ekstrim antara keduanya selama penelitian berlangsung.

Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak atsiri bunga cengkeh terhadap jamur *Candida albicans* dengan variasi konsentrasi di atas sesuai dengan hipotesis yang diajukan, bahwasannya minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*, sehingga semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh, maka akan semakin besar diameter zona hambat jamur *Candida albicans* yang terbentuk.

