

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Telaah Pustaka

1. Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.)

a. Klasifikasi cengkeh

Menurut Suwanto, dkk. (2014), klasifikasi ilmiah cengkeh adalah sebagai berikut:

Divisi : Spermatophyta
Subdivisi : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Bangsa : Myrtales
Famili : Myrtaceae
Marga : *Syzygium*
Spesies : *Syzygium aromaticum* L.

b. Nama lokal

Cengkeh dikenal dengan berbagai macam istilah di beberapa daerah seperti bunga rawan (Sulawesi), bungeu lawang (Sumatra) dan cengkeh (Jawa). Istilah lain dari cengkeh diantaranya sinke, cangke, cengke, gomode, sake, singke, sangke dan hungo lawa (Nuraini, 2014).

c. Morfologi

Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) merupakan tanaman pohon dengan batang besar berkayu keras yang tingginya mencapai 20–30 m. Tanaman ini mampu bertahan hidup hingga lebih dari 100 tahun dan

tumbuh dengan baik di daerah tropis dengan ketinggian 600–1000 meter di atas permukaan laut (dpl) (Danarti dan Najiyati, 2003).

Tanaman cengkeh memiliki 4 jenis akar yaitu akar tunggang, akar lateral, akar serabut dan akar rambut. Daun dari tanaman cengkeh merupakan daun tunggal yang kaku dan bertangkai tebal dengan panjang tangkai daun sekitar 2–3 cm (Nuraini, 2014). Daun cengkeh berbentuk lonjong dengan ujung yang runcing, tepi rata, tulang daun menyirip, panjang daun 6–13 cm dan lebarnya 2,5–5 cm. Daun cengkeh muda berwarna hijau muda, sedangkan daun cengkeh tua berwarna hijau kemerahan (Kardinan, 2003).

Tanaman cengkeh mulai berbunga setelah berumur 4,5–8,5 tahun, tergantung keadaan lingkungannya. Bunga cengkeh merupakan bunga tunggal berukuran kecil dengan panjang 1–2 cm dan tersusun dalam satu tandan yang keluar pada ujung-ujung ranting. Setiap tandan terdiri dari 2–3 cabang malai yang bisa bercabang lagi. Jumlah bunga per malai bisa mencapai lebih dari 15 kuntum. Bunga cengkeh muda berwarna hijau muda, kemudian berubah menjadi kuning pucat kehijauan dan berubah menjadi kemerahan apabila sudah tua. Bunga cengkeh kering akan berwarna coklat kehitaman dan berasa pedas karena mengandung minyak atsiri (Thomas, 2007).

Bunga cengkeh kering ditunjukkan pada Gambar 1.



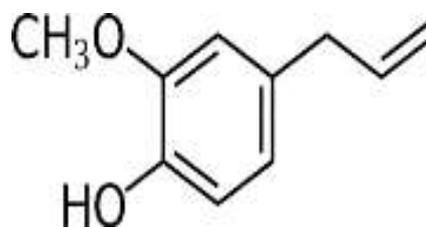
Gambar 1. Bunga Cengkeh Kering

d. Kandungan kimia

Tanaman cengkeh mengandung rendemen minyak atsiri dengan jumlah cukup besar, baik dalam bunga (10–20%), tangkai (5–10%) maupun daun (1–4%) (Nurdjannah, 2007). Minyak atsiri dari bunga cengkeh memiliki kualitas terbaik karena hasil rendemennnya tinggi dan mengandung eugenol mencapai 80–90%. Kandungan minyak atsiri bunga cengkeh didominasi oleh eugenol dengan komposisi eugenol (81,20%), trans- β -kariofilen (3,92%), α -humulene (0,45%), eugenol asetat (12,43%), kariofilen oksida (0,25%) dan trimetoksi asetofenon (0,53%) (Prianto, dkk. 2013).

Eugenol ($C_{10}H_{12}O_2$) adalah senyawa berwarna bening hingga kuning pucat, kental seperti minyak, bersifat mudah larut dalam pelarut organik dan sedikit larut dalam air. Eugenol memiliki berat molekul 164,20 dengan titik didih 250–255°C (Bustaman, 2011).

Struktur kimia eugenol ditunjukkan pada Gambar 2.



Gambar 2. Struktur Kimia Eugenol
Sumber: Iswari, 2007.

Eugenol merupakan senyawa yang terdapat pada minyak atsiri bunga cengkeh dan berfungsi sebagai zat antifungi dan antibakteri. Mekanisme kerja eugenol sebagai zat antifungi dimulai dengan penetrasi eugenol pada membran lipid bilayer sel jamur yang mengakibatkan terjadinya penghambatan sintesis ergosterol dan terganggunya permeabilitas dinding sel jamur sehingga terjadi degradasi dinding sel jamur, dilanjutkan dengan perusakan membran sitoplasma dan membran protein yang menyebabkan isi dari sitoplasma keluar dari dinding sel jamur. Apabila hal ini terus-menerus terjadi, lama-kelamaan sel jamur akan mengalami penurunan fungsi membran dan ketidakseimbangan metabolisme akibat gangguan transport nutrisi hingga menyebabkan sel lisis dan pertumbuhan jamur menjadi terhambat (Brooks, dkk., 2008).

e. Manfaat

Tanaman cengkeh banyak dimanfaatkan dalam industri rokok kretek, makanan, minuman dan obat-obatan. Tanaman cengkeh bahkan dijadikan sebagai obat tradisional karena memiliki khasiat untuk mengobati sakit gigi, rasa mulas sewaktu haid, rematik, pegal linu,

masuk angin, sebagai ramuan penghangat badan dan penghilang rasa mual (Nuraini, 2014). Bagian tanaman cengkeh yang banyak dimanfaatkan adalah bunga, tangkai bunga dan daun (Nurdjannah, 2007).

Bunga cengkeh yang dikeringkan dapat digunakan sebagai bahan penyedap rokok dan obat penyakit kolera. Minyak cengkeh yang didapatkan dari hasil penyulingan bunga cengkeh kering (cloves oil), tangkai bunga cengkeh (cloves stem oil) dan daun cengkeh kering (cloves leaf oil) banyak digunakan sebagai pengharum mulut, mengobati bisul dan sakit gigi, sebagai penghilang rasa sakit, penyedap masakan dan wewangian (Nuraini, 2014).

2. *Aspergillus flavus*

a. Klasifikasi *Aspergillus flavus*

Menurut Samson dan Pitt (2000), klasifikasi *Aspergillus flavus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Fungi
Divisi : Ascomycota
Kelas : Eurotiomycetes
Ordo : Eurotiales
Famili : Trichocomaceae
Genus : *Aspergillus*
Species : *Aspergillus flavus*

b. Morfologi

Jamur *Aspergillus flavus* merupakan jamur kontaminan yang umumnya hidup sebagai saprofit. Jamur ini dapat tumbuh pada suhu

6–60°C dengan suhu optimal 35–37°C. Koloni jamur *Aspergillus flavus* secara makroskopis berwarna putih dan berubah menjadi hijau muda kekuningan saat sudah tua, permukaan seperti kapas berwarna kuning kecoklatan, bentuk koloni granular dan kompak, tepi koloni berwarna putih dan tidak terdapat tetes eksudat. Koloni jamur *Aspergillus flavus* umumnya tumbuh mencapai 6–7 cm dalam waktu 10–14 hari (Deacon, 2006).

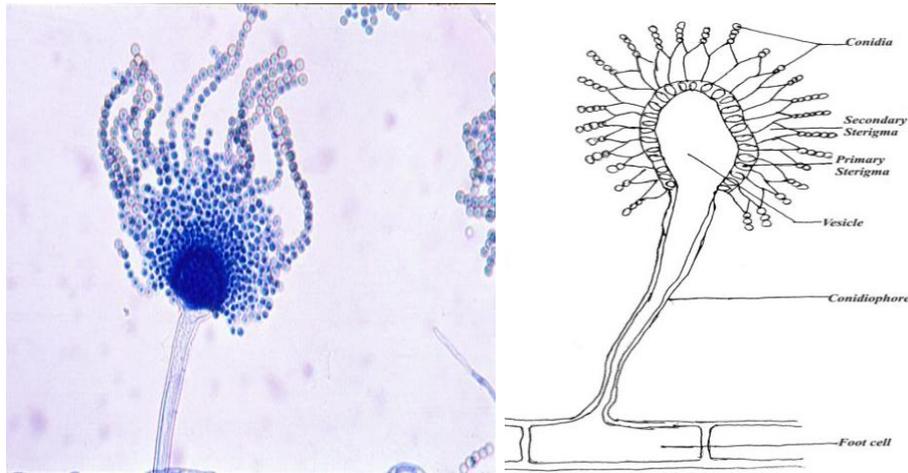
Koloni *Aspergillus flavus* ditunjukkan pada Gambar 3.



Gambar 3. Koloni *Aspergillus flavus* pada Media SDA
Sumber: Syaifurrisal, 2014.

Jamur *Aspergillus flavus* memiliki hifa bersepta, miselium bercabang yang tidak berwarna, konidiofor dengan panjang 400–800 µm sebagai tangkai dari badan spora (konidium) yang muncul dari kaki sel, sterigma sederhana dan konidia tersusun berurutan membentuk seperti untaian mutiara berdiameter 3–6 µm dan berwarna hijau kebiruan. Jamur *Aspergillus flavus* secara mikroskopis terlihat vesikula berbentuk bulat, konidia berbentuk bulat dan kepala konidia bulat merekah menjadi beberapa kolom (Gandjar, dkk., 2006).

Tampilan mikroskopis *Aspergillus flavus* ditunjukkan pada Gambar 4.



Gambar 4. Tampilan Mikroskopis *Aspergillus flavus*
 Sumber: <https://www.aspergillus.org.uk/content/aspergillus-flavus-30>

c. Patogenesis

Jamur *Aspergillus flavus* merupakan jamur kontaminan yang tumbuh di lingkungan lembap. Jamur ini memproduksi aflatoksin yang dapat mengkontaminasi bahan makanan seperti biji kapas, kacang tanah, oncom, tempe bongkrek, makanan dalam kaleng dan olahan daging. Kandungan aflatoksin yang tinggi pada bahan makanan dapat menyebabkan keracunan bahkan kematian bagi hewan atau manusia yang mengkonsumsinya (Miskiyah, 2003).

Jamur *Aspergillus flavus* dapat menjadi patogen dan menginfeksi manusia melalui transmisi inhalasi, air maupun makanan yang terkontaminasi. Jamur *Aspergillus flavus* menyebabkan penyakit otomikosis apabila terdapat faktor predisposisi yaitu menurunnya sistem imun, olahraga air, peningkatan suhu dan kelembapan, penggunaan antibiotik dan steroid, penggunaan korek telinga, trauma

lokal dan penggunaan alat bantu dengar (Barati, dkk., 2011). Selain otomikosis, jamur *Aspergillus flavus* juga dapat menyebabkan penyakit aspergillosis apabila spora jamur masuk ke dalam paru-paru melalui transmisi inhalasi (Amalia, 2013).

d. Temuan klinis

1) Otomikosis

Otomikosis adalah infeksi jamur kronik atau subakut yang terjadi pada liang telinga disertai adanya inflamasi eksudatif (Djuanda, 2007). Penyakit ini ditandai dengan munculnya rasa sakit dan gatal pada liang telinga yang berubah menjadi kemerahan, ditutupi skuama halus dan mengeluarkan cairan serosanguinous. Penderita otomikosis pada umumnya akan mengalami gangguan pada pendengaran (Siregar, 2004).

2) Aflatoksikosis

Aflatoksikosis adalah keracunan akibat aflatoksin yang dihasilkan oleh jamur *Aspergillus flavus*. Aflatoksin dihasilkan oleh *Aspergillus flavus* sebagai hasil dari metabolisme sekunder. Aflatoksin dapat mengkontaminasi bahan makanan seperti biji kapas, kacang tanah, oncom, tempe bongkrek, makanan dalam kaleng dan olahan daging. Individu yang mengonsumsi bahan makanan yang terkontaminasi aflatoksin akan mengalami aflatoksikosis yang dapat menimbulkan kerusakan pada hati, ginjal dan sumsum tulang (Brooks, dkk., 2013).

3) Aspergillosis

Aspergillosis adalah infeksi oportunistik pada paru-paru yang disebabkan oleh jamur genus *Aspergillus*, terutama *Aspergillus flavus*. Kebanyakan manusia menghirup spora jamur setiap hari, tetapi aspergillosis umumnya hanya terjadi pada individu dengan sistem imun yang rendah (*immunocompromised*). Bentuk aspergillosis yang paling banyak terjadi menurut Brooks, dkk. (2005) adalah:

a) *Allergic bronchopulmonary aspergillosis*

Allergic bronchopulmonary aspergillosis merupakan bentuk paling ringan dari aspergillosis. Kondisi ini sebagai akibat dari reaksi tubuh terhadap jamur genus *Aspergillus*. *Allergic bronchopulmonary aspergillosis* umumnya terjadi pada individu dengan penyakit asma atau fibrosis kistik (suatu penyakit keturunan di mana lendir di dalam paru-paru menjadi lengket dan kental). Gejala penyakit ini adalah demam dan batuk berdahak yang disertai darah.

b) *Chronic pulmonary aspergillosis* (aspergilloma)

Aspergilloma merupakan penyakit infeksi jangka panjang pada individu yang pernah mengidap penyakit paru-paru sebelumnya, misalnya tuberkulosis. Aspergilloma terjadi apabila konidia yang terhirup masuk ke paru-paru bertunas dan menghasilkan hifa yang berlimpah hingga membentuk bola

jamur (*fungus ball*). Gejala penyakit aspergilloma adalah sesak, mengi, berat badan menurun dan batuk darah.

c) *Invasive pulmonary aspergillosis*

Aspergillosis jenis ini hanya menyerang individu dengan gangguan sistem kekebalan tubuh. Jamur genus *Aspergillus* dapat menyebar ke aliran darah penderita dan berisiko pada kematian apabila tidak ditangani dengan cepat. Gejala penyakit ini adalah demam, nyeri dada, mimisan dan separuh wajah membengkak.

e. Tes diagnosis *Aspergillus flavus*

Jamur *Aspergillus flavus* dapat didiagnosis dengan cara yang berbeda-beda, tergantung dari jenis penyakitnya. Cara mendiagnosis jamur *Aspergillus flavus* pada penyakit otomikosis yaitu dengan mengambil skuama dari kerokan kulit liang telinga kemudian ditanam pada media SDA dan disimpan pada suhu ruang selama 3 x 24 jam. Media diamati secara mikroskopik akan tampak hifa lebar dan pada ujung-ujung hifa akan terlihat sterigma dan spora yang berjejer melekat pada permukaannya (Djuanda, 2007).

3. Minyak Atsiri

a. Definisi

Minyak atsiri merupakan salah satu senyawa yang terkandung dalam tanaman yang bersifat mudah menguap (*volatile*) sehingga sering disebut dengan “minyak terbang”. Minyak atsiri juga disebut

essential oil karena memiliki bau yang khas pada tanaman, tergantung pada komponen kimia penyusun minyak tersebut. Bentuk minyak atsiri berupa cairan jernih dan tidak berwarna, tetapi pada penyimpanan dalam waktu lama, minyak atsiri akan mengental, membentuk resin dan teroksidasi sehingga warnanya berubah menjadi kekuningan atau kecoklatan. Komposisi minyak atsiri terdiri dari beberapa campuran senyawa yang berbeda untuk tiap jenis tanaman. Minyak atsiri sukar larut dalam air, tetapi mudah larut dalam pelarut organik seperti eter dan alkohol (Koensoemardiyah, 2010).

Minyak atsiri banyak digunakan dalam bidang industri sebagai bahan pewangi dan penyedap (*flavouring*), selain itu minyak atsiri juga dimanfaatkan dalam bidang kesehatan untuk mengobati nyeri saat haid (*dysmenorrhoea*) (Koensoemardiyah, 2010).

b. Metode isolasi minyak atsiri

Metode penyulingan atau destilasi merupakan metode yang paling lazim digunakan untuk mengisolasi minyak atsiri dibandingkan metode penyarian dengan pelarut yang cocok, pengepresan dan *enfleurage*. Menurut Armando (2009), terdapat 3 metode destilasi untuk memperoleh minyak atsiri, yaitu sebagai berikut:

1) Destilasi air (*water distillation*)

Metode destilasi air merupakan metode paling sederhana. Bahan yang akan disuling dimasukkan ke dalam ketel suling yang telah diisi air dengan perbandingan yang berimbang. Ketel ditutup

rapat agar tidak terdapat celah yang mengakibatkan uap keluar. Uap yang dihasilkan akan dialirkan menuju ketel kondensator yang mengandung air dingin sehingga terjadi pengembunan (kondensasi). Pemisahan air dan minyak atsiri yang terbentuk dilakukan berdasarkan pada perbedaan berat jenis. Metode ini baik digunakan untuk penyulingan bahan berbentuk tepung dan bunga-bunga yang mudah membentuk gumpalan ketika terkena panas yang tinggi.

2) Destilasi uap (*steam distillation*)

Metode destilasi uap menggunakan air sebagai sumber uap panas yang diletakkan dalam “boiler” yang letaknya terpisah dari ketel penyulingan sehingga bahan yang disuling hanya berhubungan dengan uap air, bukan air mendidih. Destilasi uap dimulai dengan tekanan uap yang rendah (kurang dari 1 atm), kemudian dinaikkan secara berangsur-angsur menjadi kurang lebih 3 atm. Ciri khas dari metode destilasi dengan uap langsung adalah uap selalu dalam keadaan basah, jenuh dan tidak terlalu panas. Metode ini cocok digunakan untuk bagian tanaman yang keras seperti batang.

3) Destilasi uap dan air (*steam and water distillation*)

Metode ini disebut juga dengan sistem kukus. Prinsipnya adalah menggunakan uap bertekanan rendah. Air dimasukkan ke dalam dasar ketel hingga 1/3 bagian ketel dan ditutup rapat. Bahan

yang disuling diletakkan di atas piringan atau plat besi berlubang seperti ayakan (sarangan) yang terletak beberapa sentimeter di atas permukaan air. Saat direbus dan mendidih, uap yang terbentuk akan melewati lubang-lubang kecil pada sarangan dan membawa minyak atsiri menuju ketel kondensator yang mengandung air dingin sehingga terjadi pengembunan (kondensasi). Pemisahan air dan minyak dilakukan berdasarkan perbedaan berat jenis.

4. Pertumbuhan dan Perkembangbiakan Jamur

a. Definisi

Pertumbuhan adalah proses penambahan volume dan jumlah sel, karena adanya penambahan protoplasma dan senyawa asam nukleat yang melibatkan sintesis DNA dan pembelahan mitosis sehingga ukuran organisme bertambah besar. Pertumbuhan dapat diukur dan bersifat *irreversible* atau tidak dapat kembali ke volume semula. Munculnya miselium digunakan sebagai kriteria terjadinya pertumbuhan jamur, karena massa sel tersebut berasal dari satu sel yaitu spora atau konidia yang awalnya tidak terlihat kemudian berubah menjadi miselium yang dapat dilihat secara makroskopis (Gandjar, dkk., 2006).

Perkembangbiakan adalah proses perubahan menuju kedewasaan melalui pertumbuhan dan diferensiasi. Perkembangbiakan jamur terjadi secara seksual maupun aseksual. Perkembangbiakan seksual yaitu dengan peleburan dari 2 sel induk. Sedangkan

perkembangbiakan aseksual dengan cara pembelahan dan pembentukan spora (Gandjar, dkk., 2006).

b. Faktor-faktor pertumbuhan jamur

Faktor-faktor yang mempengaruhi pertumbuhan jamur menurut Gandjar, dkk. (2006) adalah:

1) Substrat

Substrat merupakan sumber nutrisi bagi jamur. Nutrien dapat dimanfaatkan setelah jamur mengekskresikan enzim-enzim ekstraseluler yang dapat menguraikan senyawa-senyawa kompleks dari substrat tersebut menjadi senyawa yang lebih sederhana. Sebagai contoh, apabila substrat berasal dari nasi, singkong atau kentang, maka jamur harus mampu mengekskresikan enzim α -amilase untuk mengubah amilum menjadi glukosa. Senyawa glukosa kemudian akan diserap oleh jamur sebagai sumber nutrisi baginya. Jamur yang tidak dapat menghasilkan enzim sesuai komposisi substrat dengan sendirinya, maka jamur tidak dapat memanfaatkan nutrisi dari substrat tersebut.

2) Kelembapan

Jamur tingkat rendah seperti *Mucor* dan *Rhizopus* umumnya hidup pada lingkungan dengan kelembapan 90%, sedangkan kapang *Penicillium*, *Aspergillus* dan *Fusarium* hidup pada kelembapan yang lebih rendah yaitu 80%. Jamur *Aspergillus flavus*

dan *Aspergillus glaucus* yang tergolong xerofilik mampu bertahan hidup pada kelembapan 70%.

3) Suhu

Suhu mempengaruhi laju pertumbuhan dan jumlah total pertumbuhan. Berdasarkan suhu yang baik bagi pertumbuhannya, jamur dibedakan menjadi tiga kelompok yaitu jamur psikrofil, jamur mesofil dan jamur termofil. Jamur psikrofil adalah jamur yang dapat tumbuh pada suhu minimum 0°C dan suhu maksimum 30°C dengan suhu optimum 15°C. Jamur mesofil adalah jamur yang tumbuh pada suhu optimal 32°C. Kelompok jamur mesofil dapat tumbuh dengan baik pada suhu ruang (22-25°C). Sedangkan jamur termofil adalah jamur yang dapat hidup pada suhu lebih dari 40°C dengan suhu optimum 55°C. Sebagian besar jamur merupakan jamur mesofilik.

4) Derajat keasaman (pH)

pH sangat penting bagi pertumbuhan jamur. pH optimum bagi pertumbuhan jamur berkisar 5,0–7,0. Jenis khamir tertentu seperti *Candida albicans* bahkan mampu tumbuh pada pH 4,5–5,5.

c. Kurva pertumbuhan jamur

Kurva pertumbuhan jamur diperoleh dari perhitungan massa sel kapang atau kekeruhan khamir pada media dalam waktu tertentu. Menurut Gandjar, dkk. (2006), kurva pertumbuhan jamur terdiri dari beberapa fase yaitu:

1) Fase lag atau adaptasi

Fase lag merupakan fase di mana perubahan bentuk dan pertumbuhan individu belum terlihat secara nyata. Fase ini juga disebut dengan fase adaptasi karena terjadi penyesuaian sel-sel dengan lingkungan baru. Bentuk grafik pada fase lag umumnya mendatar, hal ini disebabkan karena belum adanya sumber nutrisi untuk sel jamur sehingga belum terjadi pertumbuhan.

2) Fase eksponensial atau logaritmik

Fase eksponensial adalah fase terjadinya perubahan bentuk dan peningkatan jumlah sel setelah sel mengalami penyesuaian dengan lingkungan sehingga pada kurva tampak grafik yang meningkat tajam.

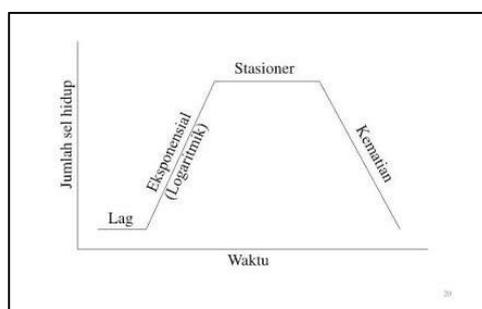
3) Fase stasioner

Fase stasioner yaitu fase di mana terjadi pengurangan sumber nutrisi sehingga sel tidak lagi mengalami pertumbuhan, tetapi juga tidak mengalami kematian secara langsung. Kurva pada fase ini merupakan garis lurus yang mendatar. Artinya, tidak naik karena tidak ada pertumbuhan dan tidak turun karena tidak mengalami kematian secara langsung sehingga dapat dikatakan bahwa jumlah sel yang mati seimbang dengan jumlah sel yang hidup.

4) Fase kematian

Pada fase kematian, grafik menunjukkan penurunan secara tajam karena jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang masih hidup. Hal ini terjadi karena sel sudah tidak lagi mendapat nutrisi untuk bertahan hidup selama fase stasioner.

Kurva pertumbuhan jamur ditunjukkan pada Gambar 5.



Gambar 5. Kurva Pertumbuhan Jamur
Sumber: Cappucino, 2013.

5. Uji Daya Antifungi

a. Definisi

Uji daya antifungi merupakan suatu pemeriksaan yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas atau kemampuan antifungi yang dimiliki oleh suatu bahan. Antifungi adalah suatu zat yang dapat menghambat pertumbuhan jamur. Agen antifungi yang ideal memiliki toksisitas selektif, artinya bahan tersebut berbahaya bagi mikroba tetapi tidak membahayakan inang. Seringkali toksisitas lebih bersifat relatif. Artinya, suatu agen antifungi pada konsentrasi tertentu dapat merusak mikroba tetapi tidak berpengaruh terhadap inang.

Berdasarkan sifat toksisitas, jenis antifungi terbagi menjadi 2 macam yaitu fungistatik dan fungisidal. Fungistatik adalah antifungi

yang mampu menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikan. Sedangkan fungisidal adalah antifungi yang tidak hanya menghambat tetapi juga mampu membunuh jamur tersebut (Setiabudy dan Gan, 2000).

b. Metode uji daya antifungi

Uji daya antifungi secara *in vitro* dipengaruhi oleh larutan antifungi pada konsentrasi obat yang diberikan. Tes ini dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu:

1) Metode dilusi

Prinsip metode dilusi yaitu sejumlah agen antifungi diencerkan hingga diperoleh beberapa konsentrasi. Kelebihan metode ini adalah satu konsentrasi agen antifungi dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroorganisme uji. Kekurangannya yaitu kebutuhan media yang banyak karena satu tabung hanya bisa digunakan untuk satu konsentrasi agen antifungi saja (Pratiwi, 2008). Metode dilusi terdiri dari 2 cara yaitu:

a) Dilusi cair

Metode ini digunakan untuk mengukur Kadar Hambat Minimal (KHM), yaitu kadar terendah dari suatu zat antifungi yang masih mampu menghambat pertumbuhan jamur. Metode dilusi cair dilakukan dengan membuat seri pengenceran agen antifungi kemudian ditambahkan ke dalam media cair yang sudah dicampur dengan suspensi jamur. Kekeruhan pada

larutan uji merupakan tanda adanya pertumbuhan jamur (Pratiwi, 2008).

b) Dilusi padat

Metode ini hampir sama dengan metode dilusi cair. Perbedaannya, metode ini menggunakan media padat. Agen antifungi dengan masing-masing konsentrasi dicampur dengan media agar kemudian ditanami jamur dan diinkubasi. Media diamati dan dianalisis pada konsentrasi berapa agen antifungi dapat menghambat pertumbuhan atau mematikan jamur (Pratiwi, 2008).

2) Metode difusi

Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antifungi dengan cara mengukur diameter zona hambatan jamur yang terbentuk terhadap agen antifungi yang diujikan (Pratiwi, 2008). Kelebihan dari metode difusi adalah mudah dilakukan dan hemat dalam penggunaan media. Sedangkan kekurangannya adalah ukuran zona hambat yang terbentuk tergantung pada kondisi inkubasi, inokulum dan ketebalan media (Brooks, dkk., 2008). Metode difusi agar dapat dilakukan dengan 2 cara, yaitu:

a) Cara Kirby Bauer (cakram kertas)

Suspensi jamur berumur 24 jam dengan kekeruhan yang telah disesuaikan dengan standar kekeruhan *Mc Farland*

ditanam pada media agar kemudian cakram kertas (*blank disk*) yang berisi agen antifungi diletakkan di atas permukaan media dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 10–24 jam. Area jernih yang terbentuk di sekitar cakram kertas mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan jamur pada media (Pratiwi, 2008).

b) Cara sumuran

Cara sumuran hampir sama dengan cara Kirby Bauer. Perbedaannya, media agar yang telah diinokulasi jamur dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, kemudian sumuran diisi dengan larutan antifungi yang akan diujikan. Media diinkubasi dan diamati hasilnya berupa area jernih yang terbentuk di sekitar sumuran (Pratiwi, 2008).

Pembacaan hasil untuk mengukur diameter zona hambatan yang terbentuk pada metode difusi dapat dilakukan dengan cara melihat zona hambat radikal atau zona hambat irradikal.

Zona radikal adalah daerah di sekitar sumuran atau cakram kertas (*blank disk*) sebagai tempat agen antifungi sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan jamur. Terbentuknya zona radikal dikarenakan jamur sensitif terhadap suatu agen antifungi (Brooks, dkk., 2005).

Zona irradikal adalah daerah di sekitar sumuran atau cakram kertas (*blank disk*) sebagai tempat agen antifungi

menunjukkan adanya pertumbuhan jamur yang dihambat oleh agen antifungi, tetapi tidak dimatikan. Pertumbuhan jamur pada tempat agen antifungi kurang subur dibandingkan dengan daerah di luar pengaruh antifungi tersebut (Pelczar dan Chan, 2005).

6. *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sabouraud Dextrose Agar atau SDA merupakan media selektif yang digunakan untuk isolasi jamur dan ragi, tetapi juga bisa ditumbuhi bakteri berserabut seperti *Nocardia*. Media SDA memiliki pH asam sekitar 5,6 sehingga mampu menghambat pertumbuhan bakteri tetapi memungkinkan untuk pertumbuhan ragi dan jamur yang berfilamen (Rijal, 2015).

Media SDA merupakan media modifikasi dari *Dextrose Agar* dengan *Sabouraud*. Komposisi media ini terdiri dari kasein sebagai sumber nutrisi asam amino, pepton sebagai sumber nitrogen bagi pertumbuhan jamur dan ragi, *dextrose* dengan konsentrasi tinggi yang berasal dari fermentasi karbohidrat sebagai sumber karbon dan sumber energi serta agar sebagai agen pematat (Rijal, 2015).

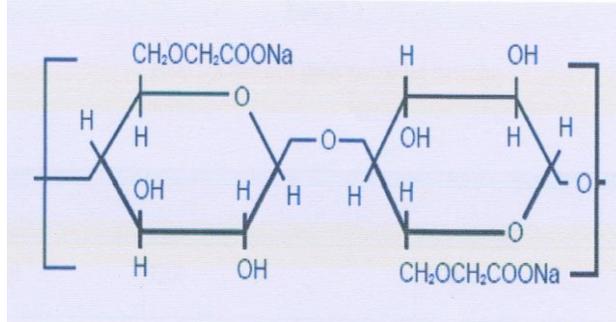
Sabouraud Dextrose Agar dapat digunakan untuk menentukan kandungan mikroba dalam kosmetik, evaluasi mikologi makanan, dan secara klinis dapat membantu diagnosis ragi dan jamur penyebab infeksi (Rijal, 2015).

7. *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)

Carboxymethyl Cellulose (CMC) merupakan turunan dari selulosa berupa butiran atau bubuk yang tidak berwarna, tidak berbau, tidak beracun, tidak larut dalam pelarut organik tetapi mudah larut dalam air panas maupun air dingin. CMC dapat bereaksi dengan logam berat membentuk lapisan yang tidak larut dalam air dan memiliki pH sekitar 6,5–8,0 dengan berat jenis 1,59. CMC mudah dihidrolisis menjadi gula-gula sederhana oleh enzim selulosa kemudian difermentasi menjadi etanol oleh bakteri (Kamal, 2010).

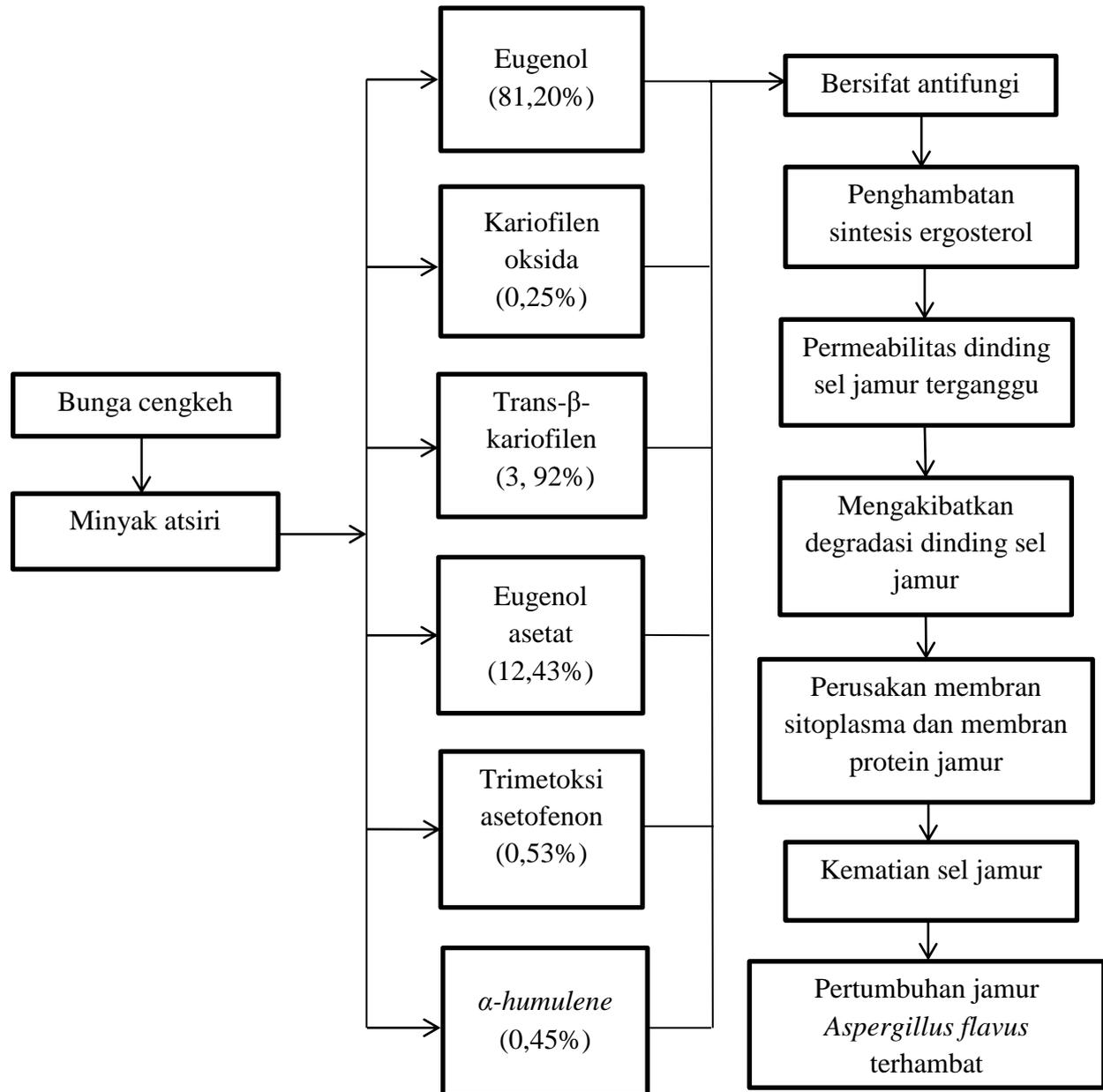
Carboxymethyl Cellulose (CMC) berfungsi sebagai pengganti pengental, stabilisator, pembentuk gel, pengemulsi, dan dapat digunakan untuk merekatkan penyebaran antibiotik. CMC sebagai pengemulsi yaitu untuk memperbaiki kenampakan tekstur berkadar gula tinggi. CMC sebagai stabilisator pada produk susu dengan membentuk larutan kompleks untuk mencegah pemisahan whey atau sineresis. CMC sebagai pengental mampu mengikat air sehingga molekul-molekul air terperangkap dalam struktur gel yang dibentuk oleh CMC (Anggraini, 2016).

Struktur kimia *Carboxymethyl Cellulose* (CMC) ditunjukkan pada Gambar 6.



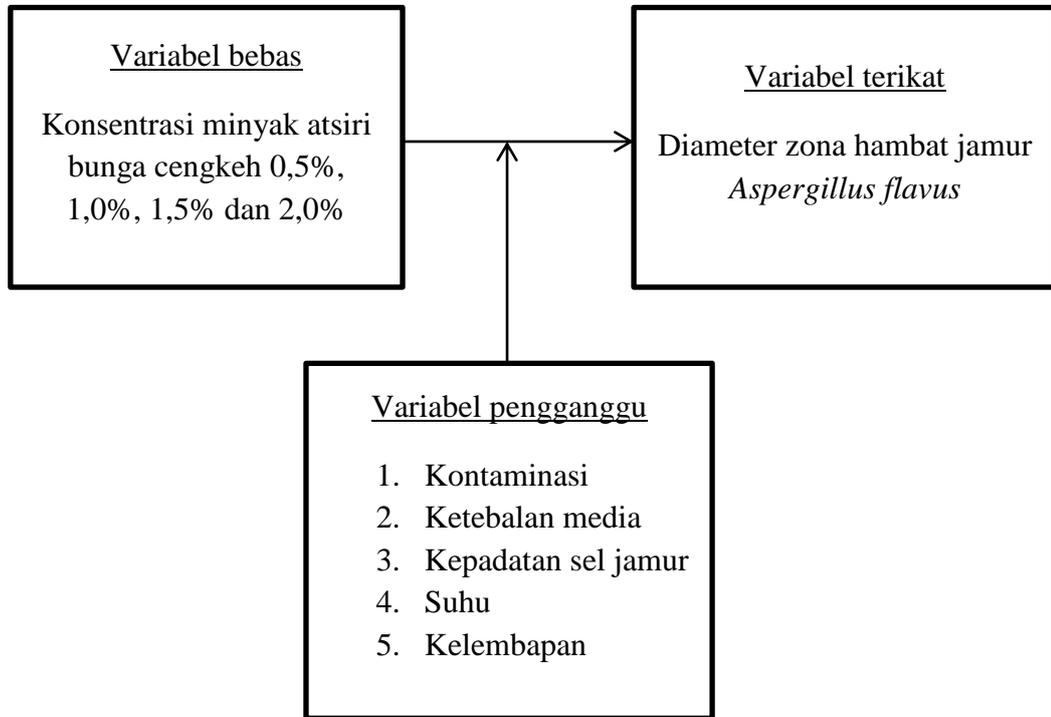
Gambar 6. Struktur Kimia *Carboxymethyl Cellulose* (CMC)
Sumber: Kamal, 2010.

B. Kerangka Teori



Gambar 7. Kerangka Teori

C. Kerangka Konsep



Gambar 8. Kerangka Konsep

D. Hipotesis

Minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mempunyai daya antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* secara *in vitro*.