

## **BAB IV**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **A. Hasil Penelitian**

Penelitian yang berjudul “Uji Daya Antifungi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap Pertumbuhan Jamur *Aspergillus flavus* secara *In Vitro* telah dilaksanakan pada bulan Desember 2018 di Laboratorium Mikologi Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Yogyakarta.

Hasil pengukuran diameter zona hambat minyak atsiri bunga cengkeh pada uji pendahuluan dengan konsentrasi 1,0% dan 2,0% sebesar 11 mm dan 29 mm. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh 1,0% memiliki daya antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus*. Berdasarkan hasil uji pendahuluan, kemudian dilakukan penelitian menggunakan minyak atsiri bunga cengkeh yang diencerkan menjadi konsentrasi 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% dengan interval 0,5 pada setiap konsentrasinya.

Data yang diperoleh dari pengukuran diameter zona hambat pada penelitian ini sebanyak 48 data yang terdiri atas 32 data dari berbagai konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh dan masing-masing 8 data dari pengukuran diameter zona hambat jamur pada kontrol positif ketokonazol 1% dan kontrol negatif CMC 1% (tertera pada Lampiran 5). Hasil pengukuran

diameter zona hambat tersebut kemudian dianalisis secara deskriptif dan disajikan pada Tabel 3.

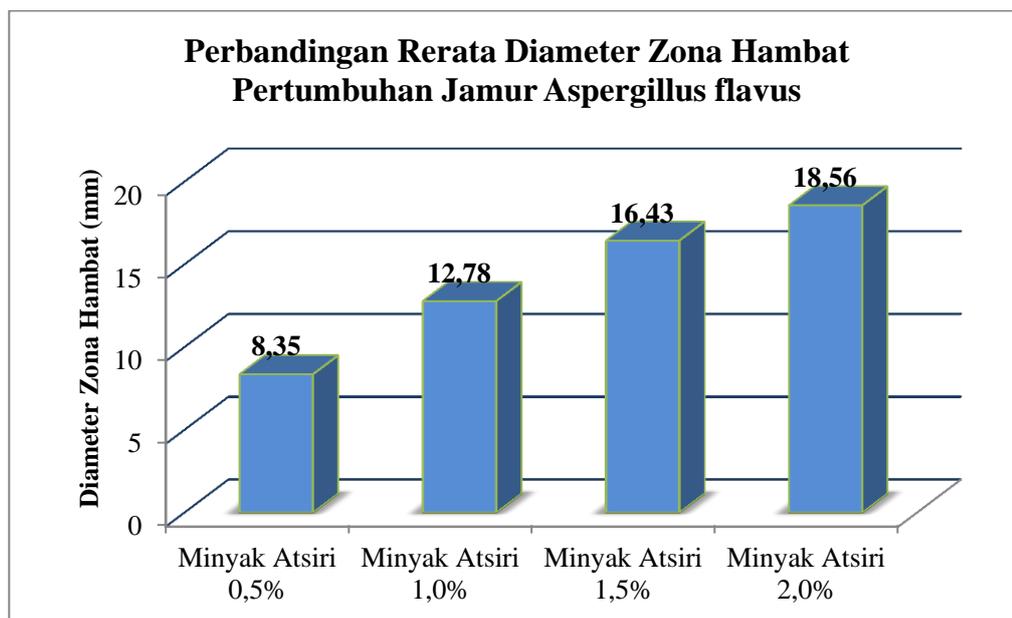
Tabel 3. Rerata Hasil Pengukuran Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Jamur *Aspergillus flavus*

Konsentrasi Minyak Atsiri	N	Mean	Standar Deviasi	Nilai Minimum	Nilai Maksimum
0,5%	8	8,35	0,952	7	10
1,0%	8	12,78	0,990	12	15
1,5%	8	16,43	0,908	15	18
2,0%	8	18,56	0,789	18	20
Total	32	14,03	0,910	13	16

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Tabel 3 menunjukkan bahwa rerata diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dengan 8 kali pengulangan pada konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% berturut-turut adalah 8,35 mm, 12,78 mm, 16,43 mm dan 18,56 mm.

Gambaran perbandingan rerata diameter zona hambat pertumbuhan jamur yang terbentuk pada tiap konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh dapat dilihat pada Gambar 11.



Gambar 11. Perbandingan Rerata Diameter Zona Hambat Pertumbuhan Jamur *Aspergillus flavus*

Gambar 11 menunjukkan adanya perbedaan rerata diameter zona hambat pada setiap perlakuan. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang digunakan, semakin besar pula diameter zona hambat yang dihasilkan.

Data yang diperoleh selanjutnya dilakukan analisis secara analitik dengan menginterpretasikan rerata diameter zona hambat jamur berdasarkan tabel kriteria kekuatan daya antifungi menurut penggolongan Davis dan Stout yang disajikan pada Tabel 4.

Tabel 4. Kekuatan Daya Antifungi pada Berbagai Konsentrasi Minyak Atsiri Bunga Cengkeh

Penggolongan Davis dan Stout		Hasil Penelitian		
Diameter Zona Hambat	Kriteria Kekuatan	Konsentrasi Minyak Atsiri	Diameter Zona Hambat	Kekuatan Daya Antifungi
< 5 mm	Lemah	0,5%	8,35	Sedang
5 – 10 mm	Sedang	1,0%	12,78	Kuat
10 – 20 mm	Kuat	1,5%	16,43	Kuat
> 20 mm	Sangat Kuat	2,0%	18,56	Kuat

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Tabel 4 menunjukkan kekuatan daya antifungi pada konsentrasi minyak atsiri 0,5% dengan diameter zona hambat sebesar 8,35 mm adalah sedang, sedangkan kekuatan daya antifungi pada konsentrasi minyak atsiri 1,0%, 1,5% dan 2,0% dengan diameter zona hambat masing-masing sebesar 12,78 mm, 16,43 mm dan 18,56 mm adalah kuat.

Data primer yang telah dilakukan uji analisis deskriptif dan analisis analitik selanjutnya dilakukan analisis statistik *One Way Anova* menggunakan program SPSS 16.0 *for windows*. Syarat melakukan uji *One Way Anova* yaitu harus melakukan uji normalitas dan uji homogenitas terlebih dahulu. Uji normalitas data dilakukan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* yang ditunjukkan pada Tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Normalitas Data *Shapiro-Wilk*

	Konsentrasi	Sig.
Diameter Zona Hambat	Minyak Atsiri 0,5%	0,292
	Minyak Atsiri 1,0%	0,059
	Minyak Atsiri 1,5%	0,533
	Minyak Atsiri 2,0%	0,545

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

Tabel 5 menunjukkan hasil uji normalitas dengan nilai signifikan pada konsentrasi minyak atsiri 0,5%, 1,0%, 1,5% dan 2,0% berturut-turut adalah 0,292; 0,059; 0,533 dan 0,545. Data pada Tabel 5 memiliki *Sig.* > 0,05, sehingga dapat dinyatakan bahwa data berdistribusi normal.

Data yang telah diuji normalitas selanjutnya dilakukan uji homogenitas. Uji homogenitas menggunakan *test homogeneity of variances* menunjukkan nilai signifikan sebesar 0,900 di mana nilai *Sig.* > 0,05 sehingga dapat

dinyatakan bahwa data yang diperoleh memiliki variansi yang sama atau homogen. Dengan demikian, analisis statistik dapat dilanjutkan dengan uji *One Way Anova* karena syarat telah terpenuhi.

Hasil uji *One Way Anova* menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0,000. Nilai *Sig.* < 0,05 yang berarti  $H_0$  ditolak dan  $H_a$  diterima sehingga dapat dinyatakan bahwa ada perbedaan rerata diameter zona hambat yang signifikan pada berbagai konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* secara *in vitro*.

Analisis statistik untuk mengetahui perbedaan rerata diameter zona hambat yang signifikan antar konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh dalam menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dilakukan dengan uji LSD (*Least Significant Different*). Hasil uji LSD dapat dilihat pada lampiran, sedangkan ringkasan hasil uji LSD dapat dilihat pada Tabel 6.

Tabel 6. Ringkasan Hasil Uji *Post Hoc* LSD

Konsentrasi	0,5%	1,0%	1,5%	2,0%
0,5%		S	S	S
1,0%	S		S	S
1,5%	S	S		S
2,0%	S	S	S	

Sumber: Data Primer Terolah, 2019.

S: Signifikan

Berdasarkan ringkasan hasil uji LSD di atas, diketahui bahwa antar-konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh masing-masing mempunyai daya antifungi yang berbeda karena adanya perbedaan rerata diameter zona hambat yang signifikan.

Data yang telah dilakukan uji *post hoc* LSD selanjutnya dilakukan uji regresi dan didapatkan hasil faktor determinan sebesar 0,933 atau 93,3% yang dapat diartikan bahwa 93,3% diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dipengaruhi oleh konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh, sedangkan 6,7% sisanya dipengaruhi oleh faktor lain. Besarnya gradient (b) pada uji regresi linier sebesar 3,429 yang artinya pada setiap kenaikan konsentrasi minyak atsiri 0,5%, diameter zona hambat yang terbentuk akan bertambah sebesar 3,429 mm.

## **B. Pembahasan**

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui daya antifungi minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* secara *in vitro*. Uji daya antifungi pada penelitian ini dilakukan menggunakan metode difusi cakram kertas dengan 4 variasi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh yaitu konsentrasi 0,5 %, 1,0 %, 1,5 % dan 2,0 % yang dilarutkan dengan pelarut CMC 1%.

Metode difusi merupakan dasar pengujian kuantitatif dengan mengukur diameter zona hambat yang terbentuk pada media. Metode difusi dilakukan menggunakan cakram kertas yang sudah direndam pada berbagai konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh, kontrol positif ketokonazol 1% dan kontrol negatif CMC 1% kemudian diletakkan di atas media SDA yang sudah diinokulasikan jamur *Aspergillus flavus* dan diinkubasi selama 24 jam. Kelebihan dari metode difusi adalah mudah dilakukan dan hemat dalam penggunaan media karena satu media dapat digunakan untuk beberapa

konsentrasi ataupun beberapa kali pengulangan. Selain itu, cakram kertas pada metode difusi berfungsi untuk mengikat minyak atsiri sehingga dapat mengurangi terjadinya penguapan dari minyak atsiri tersebut. Sedangkan kekurangan dari metode ini adalah ukuran diameter zona hambat yang terbentuk tergantung pada kondisi inkubasi, inokulum dan ketebalan media (Brooks, dkk., 2008).

Jamur *Aspergillus flavus* digunakan sebagai subyek penelitian karena jamur ini merupakan jamur kontaminan yang dapat menginfeksi manusia melalui transmisi inhalasi, air maupun makanan yang terkontaminasi. Salah satu penyakit infeksi jamur *Aspergillus flavus* adalah otomikosis. Penyakit otomikosis terjadi apabila terdapat faktor predisposisi seperti olahraga air dan penggunaan antibiotik dan steroid dalam jangka waktu lama. Kedua faktor tersebut menyebabkan pH telinga menjadi lebih basa sehingga mudah ditumbuhi jamur. Penyakit otomikosis ditandai dengan munculnya rasa sakit dan gatal pada liang telinga yang berubah menjadi kemerahan, ditutupi skuama halus dan mengeluarkan cairan serosanguinous yang menyebabkan telinga terasa penuh dan terjadi gangguan pada pendengaran (Siregar, 2004).

Minyak atsiri bunga cengkeh dipilih sebagai obyek penelitian karena di dalamnya terkandung eugenol yang berfungsi sebagai zat antifungi. Menurut Prianto, dkk. (2013), kadar eugenol yang terkandung dalam minyak atsiri bunga cengkeh sebesar 81,20%. 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).

Penelitian ini menggunakan obat antijamur ketokonazol sebagai kontrol positif. Pemilihan ketokonazol 1% sebagai kontrol positif didasarkan pada penelitian Sawitri (2011) di mana hasil penelitiannya menunjukkan ketokonazol 1% mampu menghambat pertumbuhan jamur *Pityrosporum ovale* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 51,25 mm. Mekanisme kerja ketokonazol sebagai antifungi yaitu dengan menghambat pembentukan kompleks *Cytochrome* P450 dan enzim dimetilase 14- $\alpha$ -sterol yang berperan sebagai katalis oksidator untuk mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Ergosterol merupakan sterol utama yang mempertahankan struktur membran sel jamur dengan cara menjaga keseimbangan dinding membran jamur. Kompleks *Cytochrome* P450 dan enzim dimetilase 14- $\alpha$ -sterol berfungsi mengubah lanosterol menjadi ergosterol. Apabila pembentukan kompleks tersebut diganggu oleh senyawa golongan azol, maka lanosterol tidak mampu berubah menjadi ergosterol sehingga biosintesis ergosterol akan terganggu. Penurunan jumlah ergosterol dapat meningkatkan permeabilitas dinding sel jamur yang berakibat pada hilangnya material intraseluler esensial jamur yang

menimbulkan terjadinya penurunan fungsi membran sel jamur sehingga sel jamur akan lisis dan pertumbuhan jamur menjadi terhambat (Siddik, dkk., 2016).

Pemilihan CMC sebagai pelarut dilakukan berdasarkan sifatnya yang mampu melarutkan zat yang tidak larut dalam air. Pada penelitian ini, CMC juga digunakan sebagai kontrol negatif karena bahan ini tidak memiliki efek antifungi. Hal ini diketahui dari hasil penelitian pada media SDA yang telah diinokulasikan suspensi jamur *Aspergillus flavus* dan diberi cakram kertas berisi CMC 1%, di mana terdapat pertumbuhan jamur yang merata pada cawan petri dan tidak terbentuk zona hambat.

Hasil pengukuran rerata diameter zona hambat jamur *Aspergillus flavus* pada Tabel 3 menunjukkan bahwa daya antifungi minyak atsiri bunga cengkeh sudah mulai muncul pada konsentrasi 0,5% dengan rerata diameter zona hambat yang mengalami kenaikan seiring dengan penambahan konsentrasi minyak atsiri yang digunakan. Peningkatan diameter zona hambat terjadi karena semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh, maka semakin tinggi kandungan zat antifungi dalam minyak atsiri tersebut, sehingga kemampuan penghambatan pertumbuhan jamur akan semakin besar.

Penelitian ini juga menunjukkan hasil yang signifikan pada setiap kenaikan konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh. Hal ini dapat dilihat dari selisih rerata diameter zona hambat yang terbentuk pada berbagai konsentrasi minyak atsiri di mana selisih dari konsentrasi 0,5% ke 1,0%, konsentrasi 1,0% ke 1,5% dan konsentrasi 1,5% ke 2,0% berturut-turut adalah 4,43 mm,

3,65 mm dan 2,13 mm. Berdasarkan hasil tersebut, dapat disimpulkan bahwa tiap-tiap konsentrasi minyak atsiri bunga cengkeh memiliki kemampuan daya antifungi yang berbeda-beda.

Hasil tersebut dapat dipengaruhi oleh beberapa faktor pertumbuhan jamur yaitu nutrisi, derajat keasaman (pH), suhu dan kelembapan. Media yang digunakan pada penelitian ini adalah media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) yang merupakan media selektif isolasi jamur dan ragi. Media SDA mengandung kasein sebagai sumber asam amino, pepton sebagai sumber nitrogen dan *dextrose* sebagai sumber karbon dan sumber energi yang berperan dalam mensuplai nutrisi bagi pertumbuhan jamur. pH pada media SDA bersifat asam yaitu sekitar 5,6 sehingga memungkinkan untuk pertumbuhan jamur dan ragi tetapi kurang cocok bagi bakteri sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya kontaminasi. Selain itu, kandungan *dextrose* yang tinggi pada media SDA dapat mendukung pertumbuhan jamur tetapi menghambat munculnya bakteri yang dapat mengkontaminasi (Rijal, 2015). Suhu pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* adalah 6–60°C dengan suhu optimum 35–37°C dan kelembapan 80%. Suhu selama penelitian berlangsung telah dipantau yaitu sebesar 24°C dengan kelembapan 80%, di mana suhu dan kelembapan tersebut mendukung terjadinya pertumbuhan jamur.

Penelitian yang digunakan sebagai pembandingan adalah penelitian oleh Andries, dkk. (2014) yang menyatakan bahwa ekstrak bunga cengkeh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* pada konsentrasi

optimal 80% dengan diameter zona hambat sebesar 29,02 mm, sedangkan pada penelitian ini konsentrasi optimal adalah 2,0% dengan diameter zona hambat sebesar 18,56 mm. Perbedaan hasil ini dapat terjadi karena kandungan eugenol sebagai zat antifungi pada minyak atsiri lebih tinggi dibandingkan ekstrak, sehingga dengan konsentrasi minyak atsiri yang sangat kecil saja sudah mampu menghambat pertumbuhan jamur besar *Aspergillus flavus*.

Penelitian lain yang digunakan sebagai pembandingan adalah penelitian Huda, dkk. (2018) yang menyatakan bahwa ekstrak bunga cengkeh mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dengan rerata diameter zona hambat pada konsentrasi terendah 10% sebesar 15,87 mm, sedangkan hasil pada penelitian ini, minyak atsiri bunga cengkeh 0,5% sudah mampu menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* dengan rerata diameter zona hambat sebesar 8,35 mm.

Penelitian ini mempunyai kelemahan yaitu hasil diameter zona hambat pada konsentrasi optimum 2,0% sebesar 18,56 mm belum mampu menyamai atau melampaui diameter zona hambat pada kontrol positif ketokonazol 1% sebesar 22,48 mm dengan selisih sebesar 3,92 mm, akan tetapi sudah masuk dalam kategori kuat menurut penggolongan Davis dan Stout karena hasilnya berada di antara 10-20 mm. Hal ini dapat terjadi karena kandungan zat antifungi di dalam minyak atsiri masih lebih rendah dibandingkan zat antifungi ketokonazol sehingga dibutuhkan minyak atsiri dengan konsentrasi yang lebih besar untuk bisa menyamai ketokonazol.

Faktor-faktor yang mempengaruhi hasil pada penelitian ini adalah pembuatan suspensi jamur dan kemampuan penyerapan cakram kertas yang berbeda-beda. Pembuatan suspensi jamur dilakukan dengan cara membandingkan dengan standar kekeruhan *Mc Farland* secara visual. Suspensi jamur yang dibuat oleh peneliti bisa jadi memiliki tingkat kekeruhan yang berbeda dengan standar kekeruhan *Mc Farland* yang ada, sehingga kepadatan pertumbuhan jamur pada setiap cawan petri berbeda-beda. Selain itu, kemampuan penyerapan cakram kertas yang berbeda-beda juga dapat mempengaruhi hasil diameter zona hambat yang dihasilkan, karena peneliti tidak dapat memilah cakram kertas mana yang memiliki penyerapan yang baik atau yang tidak.

Uraian di atas telah sesuai dengan hipotesis yang diajukan bahwa minyak atsiri bunga cengkeh (*Syzygium aromaticum* L.) mempunyai daya antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus flavus* secara *in vitro*. Semakin tinggi konsentrasi minyak atsiri yang diberikan, maka semakin tinggi pula kandungan zat antifungi di dalam minyak atsiri tersebut, sehingga diameter zona hambat yang terbentuk semakin besar dan semakin besar pula daya antifungi minyak atsiri bunga cengkeh terhadap jamur *Aspergillus flavus*.