



## **AKTIVITAS ANTIFUNGI KOMBINASI EKSTRAK DAUN SIRIH (*Piper betle*) DAN EKSTRAK KULIT BUAH JERUK (*Citrus reticulata*) UNTUK MENGHAMBAT PERTUMBUHAN *Candida albicans***

Ni Made Nita Setiari; Ni Putu Ristiati; I Wayan Sukra Warpala

Jurusan Biologi  
Program Studi Pendidikan Biologi  
Universitas Pendidikan Ganesha  
Singaraja, Indonesia

email: [made.nita.setiari, putu.ristiati, wayan.sukra.warpala}@undiksha.ac.id](mailto:{made.nita.setiari, putu.ristiati, wayan.sukra.warpala}@undiksha.ac.id)

### **Abstrak**

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui: (1) Perbedaan diameter daerah hambat (DDH) pertumbuhan *Candida albicans* dengan variasi kombinasi ekstrak daun *Piper betle* dan kulit buah *Citrus reticulata*, (2) Variasi kombinasi ekstrak *Piper betle* dan kulit buah *Citrus reticulata* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Penelitian ini adalah penelitian eksperimen sungguhan dengan rancangan penelitian *randomized post test only control group design*. Variasi kombinasi ekstrak daun *Piper betle* dan kulit buah *Citrus reticulata* yang digunakan dalam penelitian ini adalah 10%:10%; 10%:20%; 10%:30%; 10%:40% dan 10%:50%. Metode uji aktivitas antifungi menggunakan uji sumur difusi. Efek perlakuan ini adalah dengan adanya diameter daerah hambat (DDH) pertumbuhan *Candida albicans*. Populasi dalam penelitian ini adalah seluruh *Candida albicans* dari stok kultur yang dibiakkan kembali pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*), sedangkan sampelnya adalah *Candida albicans* yang diberi perlakuan variasi kombinasi ekstrak daun *Piper betle* dan kulit buah *Citrus reticulata* pada konsentrasi yang berbeda. Hasil penelitian ini adalah: (1) Ada perbedaan diameter daerah hambat pertumbuhan *Candida albicans* akibat pemberian variasi kombinasi ekstrak daun *Piper betle* dan kulit buah *Citrus reticulata*. Hal ini diperoleh dari hasil uji hipotesis bahwa nilai signifikansi  $0,0001 < 0,05$ . 2) Variasi kombinasi ekstrak daun *Piper betle* dan kulit buah *Citrus reticulata* yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dalam penelitian ini adalah variasi kombinasi 10%:50%.

**Kata Kunci:** Antifungi, Kombinasi Ekstrak Daun *Piper betle* dan Kulit Buah *Citrus reticulata*, Diameter Daerah Hambat, *Candida albicans*

### **Abstract**

This research aims to find out: (1) The difference of the inhibit area diameter (DDH) of *Candida albicans* growth with the combination variations of *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extracts, (2) The effective combination variations of the *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extract in inhibiting the *Candida albicans* growth. This research is true experimental research with *randomized post test only control group design*. The combination variations of *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extracts in this research is 10%:10%; 10%:20%; 10%:30%; 10%:40% and 10%:50%. Antifungal activity assay use well diffusion method. The treatment effects is there are inhibit area diameter (DDH) of *Candida albicans* growth. Population in this research is all *Candida albicans* from culture stock that bred again

in SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*), while the sample in this research is *Candida albicans* that given combination variations of *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extracts in different concentration. The results is: (1) There are differences inhibit area diameter (DDH) of *Candida albicans* growth among the combination variations of *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extracts. This is obtained from the hypothesis testing results that the significance value is  $0.0001 < 0.05$ . 2). 10%:50% is the effective combination variations of the *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extract in inhibiting the *Candida albicans* growth.

**Key Word:** Antifungal, Combination of *Piper betle* leaf and *Citrus reticulata* peels extracts, Inhibit Area Diameter, *Candida albicans*

## PENDAHULUAN

Kemajuan farmakologi berkembang seiring perkembangan zaman. Seiring dengan perkembangan zaman penggunaan obat tradisional mulai ditinggalkan. Terjadi pergeseran penggunaan obat tradisional menjadi obat sintetis dengan kemasan yang lebih praktis dan modern. Sementara ini banyak orang beranggapan bahwa penggunaan tanaman obat atau obat tradisional relatif lebih aman dibandingkan obat sintetis. Menurut Katno (2002), dibandingkan obat-obat modern, obat tradisional memiliki beberapa kelebihan antara lain: efek sampingnya relatif rendah, dalam suatu ramuan dengan komponen berbeda memiliki efek saling mendukung, pada satu tanaman memiliki lebih dari satu efek farmakologi serta lebih sesuai untuk penyakit-penyakit metabolik dan degeneratif.

Penggunaan obat tradisional juga kerap digunakan untuk mengatasi masalah kesehatan reproduksi. Salah satu masalah kesehatan reproduksi adalah keputihan (leukorea) yang dialami oleh wanita. Data penelitian tentang kesehatan reproduksi wanita menunjukkan 75% wanita di dunia pasti menderita keputihan paling tidak sekali seumur hidup dan 45% diantaranya bisa mengalaminya sebanyak dua kali atau lebih. Keputihan bisa menjadi tanda awal dari penyakit yang lebih berat, dari vaginal candidiasis, gonorrhea, Chlamydia, kemandulan hingga kanker (Pribakti, 2012).

Faktor penyebab keputihan paling umum yaitu, infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* (*candidiasis*). Kemampuan *Candida albicans* untuk melekat pada sel inang merupakan faktor penting pada tahap permulaan kolonisasi dan infeksi. Perubahan fenotip menjadi bentuk filamen memungkinkan *Candida albicans* untuk melakukan penetrasi ke

epithelium dan berperan dalam infeksi dan penyebaran *Candida albicans* pada sel inang. *Candida albicans* juga dapat membentuk biofilm yang dipercaya terlibat dalam penyerangan sel inang dan berhubungan dengan resistansi terhadap antifungi (Ksumaningtyas, 2015).

Upaya yang telah dilakukan oleh sebagian besar kaum perempuan untuk mencegah hal tersebut adalah dengan menggunakan obat keputihan, sabun pembersih organ kewanitaan, pelembab vagina, krim anti-gatal, tisu kewanitaan, semprotan, bedak, atau krim cukur rambut kemaluan bahkan antibiotik. Pada kenyataannya, penggunaan sabun pembersih organ kewanitaan cenderung dapat menyebabkan alergi dalam penggunaannya. Crann, *et al.* (2018) meneliti dampak penggunaan produk pembersih kewanitaan pada 1435 responden di Kanada. Hasilnya, lebih dari 95 persen responden pernah menggunakan setidaknya satu produk kewanitaan yang digunakan di vagina. Crann menyebutkan, dampak buruk dari penggunaan zat pembersih kewanitaan itu diantaranya gatal (74,5%), terbakar (50,2%), kemerahan (34,9%), iritasi (21,3%), pembengkakan (17,9%), dan luka (10,7%).

Daun sirih secara tradisional sudah digunakan untuk mengobati sariawan dan keputihan, bahkan sering digunakan untuk obat kumur, atau antiseptik sebagai penyembuh luka bakar karena mengandung senyawa saponin dan juga sebagai zat antimikroba (Zuraidah, 2015). Minyak atsiri daun sirih mengandung minyak terbang (betlephenol), seskuiterpen, pati, diatase, gula, zat samak dan kavikol yang memiliki daya mematikan kuman, antioksidasi dan fungisida (antijamur) (Daherlin, 2011).

Sundari dan Winarno (2001) melaporkan bahwa daun sirih merupakan

salah satu bahan alami yang mengandung 13 zat yang dapat mengobati keputihan. Daun sirih mengandung minyak atsiri yang komponen penyusunnya merupakan senyawa fenol yang mampu menjadi senyawa anti bakterisidal, fungisidal, maupun germisidal. Minyak atsiri dan ekstrak etanol daun sirih dilaporkan mempunyai aktivitas anti cendawan terhadap *Candida albicans*. Dengan demikian, maka daun sirih dapat dijadikan alternatif dalam pengobatan untuk penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans*.

Banyaknya kebutuhan buah jeruk untuk dikonsumsi, menjadikan prospek bisnis yang menjanjikan. Di kawasan pariwisata buah jeruk diolah menjadi aneka hidangan dan minuman. Pengolahan ini meninggalkan limbah berupa kulit jeruk, salah satunya kulit buah jeruk keprok yang terbuang sia-sia. Kulit buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*) mengandung alkaloid, flavonoid, polisakarida, saponin dan minyak atsiri (Hutapea dalam Widyarto, 2009).

Berdasarkan senyawa bioaktif yang terkandung dalam daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok, maka perlu dilakukan penelitian tentang kombinasi kedua ekstrak tersebut dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Pemanfaatan daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok dilakukan dengan proses ekstraksi. Uji pendahuluan yang telah dilakukan ternyata pada kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok dengan perbandingan 1:1 dengan konsentrasi ekstrak masing-masing 50% menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans* sebesar 23 mm. Peneliti menguji daya hambat kombinasi ekstrak daun sirih hijau dengan kulit buah jeruk keprok dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai potensi antifungi kombinasi kedua ekstrak tersebut sebagai alternatif pengobatan alami pada infeksi jamur *Candida albicans*.

## METODE

Penelitian ini adalah penelitian eksperimental sungguhan (*true experimental*) dengan rancangan penelitian *randomized post test only control group design*. Populasi dari penelitian ini adalah seluruh jamur *Candida albicans* ATCC 10231 dari stok kultur yang dibiakan kembali pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*). Sampel penelitian ini adalah jamur *Candida albicans* yang diberikan variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau dengan kulit buah jeruk keprok. Jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian adalah 25 sampel yang dipilih dengan teknik *purposive sampling*.

Variabel bebas pada penelitian ini adalah variasi konsentrasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*) dengan variasi kombinasi yaitu: 10%:10%; 10%:20%; 10%:30%; 10%:40% dan 10%:50%. Variabel dependen (variabel terikat) pada penelitian ini adalah diameter daerah hambat (DDH) pertumbuhan jamur *Candida albicans* (dalam mm). Variabel kontrol pada penelitian ini adalah variabel yang dikendalikan atau dibuat konstan sehingga pengaruh variabel independen terhadap variabel dependen tidak dapat dipengaruhi oleh faktor luar yang tidak diteliti. Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah lingkungan tempat inkubasi meliputi suhu, lama inkubasi, media, intensitas cahaya, pH dan kelembaban.

Data yang diperoleh pada penelitian ini dianalisis secara deskriptif dan statistik. Analisis deskriptif dilakukan dengan mencari rerata dan simpangan baku dari data yang diperoleh dari setiap kelompok perlakuan. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan uji *One Way Anova* dengan taraf signifikansi ( $\alpha$ ) 0.05.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Hasil Penelitian

Data Rerata Diameter Daerah Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* pada masa inkubasi 1x24 jam disajikan pada Tabel 01. dan dokumentasi DDH disajikan pada Gambar 01.

**Tabel 01.**

**Rerata Diameter Daerah Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* pada masa inkubasi 1x24 jam**

Replikasi	DDH (mm), (d sumur = 5 mm)						
	(+1)	(+2)	p1	p2	p3	p4	p5
1	34,2	7,0	9,1	10,8	11,1	11,6	12,3
2	31,7	7,0	9,0	9,5	10,9	11,7	11,9
3	33,9	7,0	8,5	9,5	9,8	11,0	11,2
4	34,9	7,0	9,0	10,0	10,9	11,0	13,5
5	34,5	7,0	8,2	10,3	10,5	11,2	11,4
SubTotal	169,2	35,0	43,8	50,1	53,2	56,5	60,3
Rerata	33,84	7,00	8,76	10,02	10,64	11,30	12,06

Keterangan:

(+1) : Perlakuan dengan ketoconazole 2%

(+2) : Perlakuan dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok konsentrasi 10%

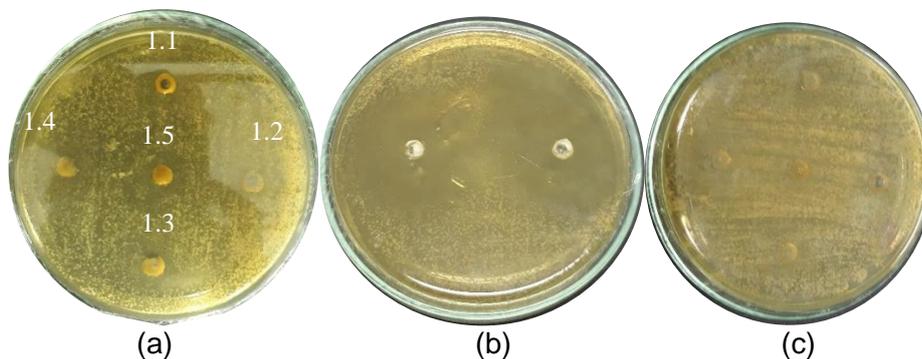
(p1) : Kombinasi ekstrak daun sirih dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok (10% : 10%)

(p2) : Kombinasi ekstrak daun sirih dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok (10% : 20%)

(p3) : Kombinasi ekstrak daun sirih dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok (10% : 30%)

(p4) : Kombinasi ekstrak daun sirih dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok (10% : 40%)

(p5) : Kombinasi ekstrak daun sirih dengan ekstrak kulit buah jeruk keprok (10% : 50%)



**Gambar 01.**

**Zona Hambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* pada masa inkubasi 1x24 jam (a) Variasi kombinasi ekstrak, (b) Kontrol positif ketoconazole 2%, (c) Kontrol positif ekstrak kulit buah jeruk keprok konsentrasi 10%**

## Pembahasan

### Perbedaan Diameter Daerah Hambat (DDH) Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* dengan Variasi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) dan Ekstrak Kulit Buah Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*)

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, pemberian kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada masa inkubasi 1x24 jam pada variasi kombinasi 10%:10%; 10%:20%; 10%:30%; 10%:40%; dan 10%:50% dengan membentuk rerata DDH secara berturut-turut 8,76 mm; 10,02 mm, 10,64 mm; 11,3

mm; dan 12,06 mm. Berdasarkan uji hipotesis yang dilakukan dengan uji statistik *One Way Anova* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan diameter daerah hambat variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan ekstrak kulit buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok dalam penelitian ini adalah ekstrak kasar (*crude extract*) yang dibuat dengan metode maserasi menggunakan alkohol 96 %. Menurut Aziz (2009) alkohol 96% bersifat *miscible* terhadap air dan dengan kebanyakan larutan organik, termasuk larutan non-polar seperti *aliphatic hydrocarbons*. Bila bahan non-polar dilarutkan dalam alkohol, dapat ditambahkan air untuk membuat larutan

yang kebanyakan air. Gugus OH dalam alkohol membantu melarutkan molekul polar dan ion-ion serta gugus alkilnya  $\text{CH}_3\text{CH}_2$ . dapat mengikat bahan non-polar, sehingga alkohol 96% dapat melarutkan baik zat yang bersifat non maupun polar dalam simplisia daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok. Pengenceran ekstrak dilakukan dengan menggunakan aquades sehingga akan membentuk campuran koloid. Pengenceran ekstrak dilakukan tanpa penambahan surfaktan seperti *tween* karena dapat mengurangi kekuatan ekstrak dalam menghambat pertumbuhan fungi. Berdasarkan penelitian Okunowo (2013), campuran minyak esensial *Citrus paradisi* dengan *tween* 80 menunjukkan tidak adanya zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dalam penelitian kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok ini dibuat konstan karena pada penelitian sebelumnya, Chairunnisa *et al.*, (2015) dalam penelitian *Inhibition of Betel Leaf Extract Against Candida albicans* menyatakan bahwa kadar hambat minimal ekstrak daun sirih hijau dalam penelitiannya adalah pada konsentrasi 10% dengan rerata diameter daerah hambat sebesar 13,62 mm. Sedangkan pada uji pendahuluan yang telah dilakukan diperoleh rerata diameter daerah hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* akibat pemberian konsentrasi 10 % ekstrak daun sirih hijau sebesar 16,50 mm. Perbedaan kemampuan daya hambat ekstrak daun sirih hijau ini disebabkan oleh perbedaan faktor geografi, musim, kondisi iklim dan ekologi dari tanaman sirih hijau yang digunakan. Menurut Suprpta (2014), jenis dan jumlah bahan aktif dari suatu tanaman sering dipengaruhi oleh faktor geografi, musim, perbedaan tanaman, kondisi iklim dan ekologi. Tumbuhan jenis yang sama bila tumbuh pada geografi yang berbeda berpotensi memiliki kandungan bahan aktif yang berbeda.

Diameter daerah hambat kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok pada variasi konsentrasi 10%:10%; 10%:20%; 10%:30%; 10%:40%; dan 10%:50% mengalami peningkatan seiring dengan penambahan konsentrasi

ekstrak kulit buah jeruk keprok. Ini menunjukkan bahwa semakin tinggi penambahan konsentrasi ekstrak kulit buah jeruk keprok maka semakin besar DDH pertumbuhan jamur *Candida albicans* yang terbentuk. Dari hasil penelitian, variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok 10%:50% menghasilkan rata-rata DDH yang paling luas pada masa inkubasi 1x24 jam dibandingkan dengan variasi kombinasi ekstrak lainnya pada penelitian ini, yaitu sebesar 12,06 mm. Jika dibandingkan dengan kemampuan daya hambat ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 10%, kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok konsentrasi 10%:50% lebih rendah dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Hal ini dikarenakan terjadi penurunan konsentrasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok ketika dikombinasikan, sehingga kemampuan daya hambat kombinasi ekstrak menjadi berkurang.

Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok bersifat fungistatik yaitu hanya dapat menghambat pertumbuhan jamur tanpa mematikannya (Radji 2010). Fungsi kerja fungistatik dari kombinasi ekstrak ini ditunjukkan dari hasil pengamatan pada masa inkubasi 2x24 dan 3x24 jam bahwa terjadi penurunan DDH yang terbentuk dari hasil pengamatan pada masa inkubasi 1x24 jam.

Sebagai perbandingan dari rata-rata diameter daerah hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* akibat pemberian variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok digunakan kontrol positif ketoconazole 2%. Ketoconazole adalah obat antijamur yang digunakan terutama untuk terapi lokal kandidiasis vagina dan untuk infeksi dermatofit/infeksi jamur pada kulit. Ketoconazole adalah obat yang termasuk golongan imidazole sintetik. Seperti semua agen antijamur azole, ketoconazole bekerja terutama dengan menghambat enzim sitokrom P-450, C-14- $\alpha$ -demethylase (P45014DM). Enzim ini berperan dalam jalur biosintesis sterol yang bertanggungjawab merubah lanosterol menjadi ergosterol. Hal ini akan mengakibatkan dinding sel jamur menjadi

permeable dan terjadi penghancuran jamur (Chairunnisa *et al.*, 2015). Pada pengujian kontrol positif (+<sub>1</sub>) yaitu ketoconazole 2% diperoleh rata-rata DDH sebesar 33,84 mm. Jika dibandingkan dengan ketoconazole 2%, maka potensi antifungi kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok variasi konsentrasi 10%:50% yang memiliki rata-rata DDH sebesar 12,06 mm adalah 35,64%. Sedangkan, pada ekstrak kulit buah jeruk keprok konsentrasi 10% yang digunakan sebagai kontrol positif (+<sub>2</sub>) diperoleh DDH sebesar 7 mm. Jika dibandingkan dengan variasi kombinasi ekstrak 10%:10% dihasilkan DDH sebesar 8,76 mm, sehingga dapat diketahui bahwa dengan penambahan ekstrak daun sirih hijau sebanyak 10% pada variasi kombinasi tersebut terjadi peningkatan DDH sebesar 1,76 mm.

Kategori daya hambat jamur dapat ditentukan dengan melihat rerata diameter daerah hambat dari setiap variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok. Menurut Davis dan Stout (1971) berdasarkan zona jernihnya, daya hambat dibagi atas empat kategori, yaitu: sangat kuat > 20 mm, kuat 11-20 mm, sedang 6-10 mm dan lemah ≤ 5 mm. Diameter daerah hambat yang dimaksud adalah zona jernih disekitar sumur difusi sehingga dilakukan pengurangan DDH sebesar -5 mm. Kontrol positif (ketoconazole 2%) tergolong dalam sediaan yang memberikan daya hambat sangat kuat yaitu 28,84 mm. Kontrol positif (ekstrak kulit buah jeruk keprok konsentrasi 10%) tergolong dalam sediaan yang memberikan daya hambat yang lemah yaitu 2 mm. Kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok dengan variasi kombinasi 10%:10% dan 10%:20% tergolong dalam sediaan yang memberikan daya hambat lemah yaitu 3,76 dan 5,02. Untuk kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok dengan variasi kombinasi 10%:30% ; 10%:40% dan 10%:50% tergolong dalam sediaan yang memberikan daya hambat sedang yaitu 5,64 mm, 6,30 mm dan 7,06 mm.

Berdasarkan penelitian Zuraidah, (2015) pemberian ekstrak daun sirih hijau konsentrasi 80% membentuk zona bening 28,71 mm terhadap pertumbuhan jamur

*Candida albicans*. DDH tersebut hampir sama dengan DDH akibat pemberian kontrol positif ketoconazole 2% yaitu sebesar 28,84 mm (setelah dikurangi diameter sumur).

### **Variasi Kombinasi Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle*) dan Ekstrak Kulit Buah Jeruk Keprok (*Citrus reticulata*) yang Paling Efektif dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans***

Besarnya DDH yang terbentuk menunjukkan efektivitas kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Semakin besar DDH yang terbentuk maka semakin efektif kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok tersebut. Berdasarkan hasil penelitian, kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok yang paling efektif dalam penelitian ini adalah kombinasi ekstrak dengan variasi kombinasi 10%:50%.

Terbentuknya diameter daerah hambat akibat pemberian kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan kulit buah jeruk keprok menunjukkan bahwa terdapat senyawa bioaktif yang bersifat antifungi pada masing-masing ekstrak. Suatu antifungi dapat bereaksi dengan cara merusak dinding sel (menghambat biosintesis kitin dan menghambat biosintesis glukosa), merusak membran sel (merusak fungsi mannoprotein dan interaksi dengan ergosterol) serta antifungi polien (Franklin & Snow, 2005).

Daun sirih hijau mengandung senyawa saponin, flavonoid, polifenol dan minyak atsiri (Departemen Kesehatan RI, 2000). Dalam daun sirih hijau juga diketahui mengandung senyawa Piperol-A, Piperol-B, metil piper betlol, terpinen-4-ol, safrole, *allyl pyrocatechol monoacetate*, eugenol, *eugenyl acetate*, *hydroxyl chavicol*, piper betol, *carvacrol*, *allyl cathecol*, *chavicol*, *p-cymene*, *caryophyllene*, *chavibetol*, *cineole*, estragol. Analisis fitokimia daun sirih hijau menunjukkan adanya senyawa alkaloid, tanin, karbohidrat, asam amino dan steroid. Komponen utama pada daun sirih hijau yaitu minyak atsiri yang mengandung 2 senyawa fenol yaitu chavibetol dan chavicol

(Dwivedi & Tripathi, 2014). Menurut Aznita (2011), kandungan senyawa yang diketahui memiliki aktivitas sebagai antifungi yaitu senyawa terpen seperti eugenol, carvacrol, dan linalool.

Eugenol merupakan golongan fenol dengan rumus kimia  $C_{10}H_{12}O_2$ . Satu gugus OH fenolik bebas pada lingkaran aromatiknya dan satu gugus OH termetilasi berperan penting dalam menghambat koloni *Candida albicans*. Aktivitas antifungi oleh golongan fenol juga tergantung pada besar gugusan alkil yang ditambahkan, yaitu semakin besar gugusan alkil tersebut maka aktivitas antifunginya akan semakin besar. Di samping itu, sistem kerja dari eugenol sebagai agen antifungi yaitu menghambat kolonisasi *Candida albicans* dalam proses pembelahan sel (Khatima *et al.*, 2017). Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Jian Hua dan Wen Hai dalam Khatima *et al.*, (2017) mendeskripsikan mekanisme antifungi oleh bahan herbal Cina, salah satunya adalah eugenol, dalam menghambat kolonisasi *Candida* sebagai berikut: 1). Sebelum terjadi proses pembelahan sel, terlebih dahulu terjadi proses sintesis DNA, yang di dalamnya termasuk fase S (sintesis). Setelah terjadi sintesis DNA, sel akan mengalami fase G2 dan fase M DNA jamur. Pada jamur yang dihambat pertumbuhannya, terjadi penurunan pada proporsi fase S-G2-M. Pada hasil uji FCM (*Flow Cytometri*), ditunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi agen antifungi, semakin turun proporsi fase S-G2-M, sehingga pada akhirnya juga berpengaruh pada indeks proliferasinya; 2). Sel *C. albicans* mengalami perubahan yang signifikan pada saat terpapar agen antifungi, terjadi penyusutan yang nyata pada membran selular, hilangnya organel sel, dan nukleus serta sitoplasma yang ditutupi oleh area elektron yang tebal. Berdasarkan hasil yang didapat dari FCM, di bawah pengaruh antifungi pada penelitian ini, terjadi penurunan volume sel jamur dan nukleus mengalami kerusakan; 3). Sel jamur mengalami kematian setelah terpengaruh oleh antifungi yang efektif. Hal ini ditandai dengan hilangnya transportasi membran dan integritas struktur membran. Ketika sel mati, kromosom DNA mengalami

segmentasi, permeabilitas membran meningkat, serta konten selular dan segmen DNA menghilang.

Carvacrol adalah senyawa fenol yaitu monoterpen alam derivat *cymene* (*National Center for Biotechnology Information*). Carvacrol merupakan komponen dari minyak esensial suatu tumbuhan yang mempunyai aktivitas antijamur yang kuat terhadap berbagai patogen, termasuk *C. albicans*, dengan mekanisme kerja membuat lesi membran non spesifik pada dinding sel *C.albicans* (Siddik *et al.*, 2016).

Senyawa bioaktif lainnya yang terdapat pada daun sirih (*Piper betle*) adalah linalool. *Linalool* adalah alkohol tersier dan merupakan senyawa monoterpenoid. Senyawa ini merupakan metabolit tanaman, komponen minyak atsiri, sebagai agen antimikroba dan aroma (*National Center for Biotechnology Information*). Dalam penelitian Dias *et al.*, (2017) linalool memiliki aktivitas antifungi yang baik untuk jenis *C. tropicalis*, dan aktivitas moderat terhadap spesies *C. albicans*. Menurut Pierce *et al.*, (2013) & Sookto *et al.*, (2013) linalool sebagai agen antifungi dapat mengganggu biosintesis dinding sel dan dapat meningkatkan permeabilitas ion membran sel jamur, sehingga pertahanan dinding sel jamur menurun.

Selain kandungan senyawa bioaktif yang bersifat antifungi pada daun sirih hijau (*Piper betle*), aktivitas antifungi juga dipengaruhi oleh kandungan senyawa bioaktif pada kulit buah jeruk keprok. Kulit buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*) mengandung alkaloid, flavonoid, polisakarida, saponin dan minyak atsiri (Hutapea dalam Widyarto, 2009). Berdasarkan penelitian Hasija, (2015) kandungan minyak atsiri pada jeruk (*Citrus* spp.) menunjukkan efek penghambatan terhadap semua organisme yang diuji (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhi*, *Shigella* sp. dan *Candida albicans*) dan menunjukkan spektrum aktivitas yang luas. Kandungan minyak atsiri kulit buah jeruk keprok berasal dari golongan limonena (94%), mirsen (2%), linalol (0,5%), decanal (0,4%), sitronelal (0,1%), neral (0,1%), geranial (0,1%),

valensen (0,05%), sinnsial (0,02%), sinensial (0,01%) (Wagenaar dalam AAK, 1994).

Limonen adalah komponen minyak atsiri terbanyak dalam kulit buah jeruk keprok. Menurut Thakre *et al.*, (2017) dalam penelitiannya yang berjudul *Limonene inhibits Candida albicans growth by inducing apoptosis* menyatakan bahwa limonen menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan merusak dinding sel. Kerusakan diinduksi oleh stres oksidatif yang mengarah pada kerusakan DNA yang dihasilkan ke dalam modulasi dari siklus sel dan induksi melalui stres nukleolus. Limonene menghambat siklus sel di fase G1 dan menginduksi apoptosis *Candida* sp.

Flavonoid merupakan senyawa golongan fenol yang aktif. Flavonoid yang terkandung dalam buah Jeruk Keprok termasuk jenis flavon yaitu, hesperitin, naringenin dan yang terbanyak adalah nobiletin (Robinson, 1995). Senyawa fenol dan derivatnya dapat menimbulkan denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Siddik *et al.*, 2016).

Senyawa bioaktif dari kulit buah jeruk keprok yang diketahui juga bersifat antifungi adalah saponin. Saponin memiliki kemampuan sebagai pembersih dan antiseptik yang berfungsi membunuh atau mencegah pertumbuhan mikroorganisme (Robinson, 1995). Mekanisme kerja saponin sebagai antijamur dengan menurunkan tegangan permukaan membran sterol yang berperan dalam sintesis dinding sel *Candida albicans* (Siddik *et al.*, 2016).

Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi efektivitas penghambatan pertumbuhan jamur, salah satunya adalah konsentrasi senyawa aktif bahan antifungi. Semakin banyak bahan antifungi (konsentrasi atau volume) yang diberikan semakin cepat kontak yang terjadi antara sel jamur dengan bahan antifungi tersebut.

## DAFTAR RUJUKAN

Faktor lain yang juga berpengaruh adalah jumlah mikroorganisme, suhu, spesies bakteri, adanya bahan lain dan pH (Putra, 2017). Faktor-faktor tersebut dalam penelitian ini telah dibuat sama dan sudah dikondisikan sehingga hanya faktor variasi kombinasi ekstrak yang berpengaruh.

## SIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan maka dapat disimpulkan sebagai berikut. (a) Ada perbedaan diameter daerah hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* akibat pemberian variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan ekstrak kulit buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*). Hal ini diperoleh dari hasil uji hipotesis bahwa nilai signifikansi  $0,0001 < 0,05$ ; (b) Variasi kombinasi ekstrak daun sirih hijau (*Piper betle*) dan ekstrak kulit buah jeruk keprok (*Citrus reticulata*) yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dalam penelitian ini adalah variasi kombinasi 10%:50%.

Berdasarkan simpulan di atas, saran yang disampaikan dalam penelitian ini adalah: (a) Perlu adanya penelitian lanjutan mengenai pemanfaatan kombinasi ekstrak daun sirih hijau dan ekstrak kulit buah jeruk keprok untuk mengetahui variasi kombinasi ekstrak yang bersifat fungisidal, sehingga dapat bermanfaat bagi masyarakat luas; (b) Hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan oleh masyarakat dalam menanggulangi masalah kesehatan, utamanya permasalahan keputihan (*leukorea*) yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih dan penghargaan setinggi-tingginya diberikan kepada pihak pengelola Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Biologi, Universitas Pendidikan Ganesha atas dukungan fasilitas selama penelitian ini berlangsung.

AAK. 1994. *Budidaya Tanaman Jeruk*. Yogyakarta: Kanisius

- Aliyu, M. S., B. Musa, I. M. Hussaini, dan A. S. Charanchi. 2016. "Effects of Feminine Wash (Soap) on Some Pathogenic Bacteria Causing Urinary Tract Infections (UTIS)". *International Journal of Innovative Research & Development*, Vol. 5 (1).
- Aziz, T., R. K. N. Cindo, A. Fresca. 2009. *Pengaruh Pelarut Heksana dan Etanol, Volume Pelarut, dan Waktu Ekstraksi terhadap Hasil Ekstraksi Minyak Kopi*. Skripsi. Sumatera Selatan: Universitas Sriwijaya.
- Aznita, H.W.H., N. Mohd-Al-Faisal, A.R. Fathilah. 2011. "Determination of The Percentage Inhibition of Diameter Growth (PIDG) of *Piper betle* Crude Aqueous Extract Against Oral *Candida* species". *Journal of Medicinal Plant Research*, Vol. 5 (6):878-884.
- Begum, N., B. Sharma., S.P. Ravi. 2013. "*Calotropis procera* and *Annona squamosa*: Potential Alternatives to Chemical Pesticides". *British Journal of Applied Science & Technology*, Vol. 3 (2) : 254-267.
- Berkhout, C. M. 1923. *De Schimmelgeslachten Monilia, Oidium, Oospora en Torula*. Tesis. Utrecht: University of Utrecht.
- Chairunnisa, S., T. Setyawati, & Nursyamsi. 2015. *Inhibition of Betel Leaf Extract (Piper betle Linn) Against Candida albicans*. Tesis. Sulawesi Tengah: Medical Student, Faculty of Medicine and Health Science, Tadulako University.
- Crann, S. E., S. Cunningham, A. Albert, D. M. Money dan K. C. O'Doherty. 2018. "Vaginal Health and Hygiene Practices and Product Use in Canada: A National Crosssectional Survey". *Research Article*. Canada: Department of Psychology, University of Guelph.
- Daherlin. 2011. *Kandungan dan Manfaat Daun Sirih*. Tersedia pada laman: <https://daherlin.wordpress.com/tag/zat-yang-terkandung-dalam-daun-sirih/>. Diakses pada tanggal 28 Oktober 2018.
- Davis, W. W. dan T. R. Stout. 1971. "Disc Plate Method of Micribiological Antibiotic Assay". *Journal Applied Microbiology*, Vol. 22 No. 4, page 659-665
- Deshpande, S. N. dan D. G. Kadam. 2013. "GCMS Analysis and Antibacterial Activity of *Piper Betle* (Linn) Leaves Against *Streptococcus mutans*". *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, Vol 6, Suppl 5, pp. 99101.
- Departemen Kesehatan RI. 2002. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI, 9-12.
- Dias, I. J., E. R. I. S. Trajano, R. D. Castro, G. L. S. Ferreira, H. C. M. Medeiros, D. Q. C. Gomes. 2017. "Antifungal activity of linalool in cases of *Candida* spp. isolated from individuals with oral candidiasis". *Brazilian Journal of Biology*, Vol.78 No.2. Tersedia pada laman: <http://dx.doi.org/10.1590/1519-6984.171054>
- Dwivedi, V. dan S. Tripathi. 2014. "Review Study on Potential Activity of *Piper betle*". *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, Vol. 3 (4): 93-98.
- Franklin, T. J. dan G. A. Snow 2005. *Biochemistry and Molecular Biology of Antimicrobial Drug Action*. Springer Science & Business Media
- Gultom, M. 2013. *Analisis Dampak CAFTA terhadap Perdagangan Jeruk Sumatera Utara*. Skripsi. Sumatera Utara: Fakultas Pertanian, Universitas Sumatera Utara.
- Hasija, S. 2015. "Antimicrobial Activity of *Citrus sinensis* (Orange), *Citrus limetta* (Sweet Lime) and *Citrus limon* (Lemon) Peel Oil on Selected Food Borne Pathogens". *Research Report*, Mumbai: Department of Food, Nutrition and Dietetics, College of Home Science, Nirmala Niketan.
- Istianto, M., Muryati. 2014. *Minyak Atsiri Jeruk: Manfaat dan Potensi Peningkatan Nilai Ekonomi Limbah Kulit Jeruk*. From: <http://balitbu.litbang.pertanian.go.id/index.php/component/content/article/16-penelitianpengkajian2/593-minyak-atsiri-jeruk-manfaat-dan-potensi-peningkatan-nilai-ekonomi-limbah-kulit-jeruk>. Diakses pada tanggal 11 Maret 2018.

- Jawetz, Melnick, dan Adelberg. 2005. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jilid 2, Jakarta: Salemba Medika, hal 343 – 345.
- Katno, S. P. 2002. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Tersedia pada laman: [cintaialam.tripod.com/keamanan-\\_\\_obat%-20tradisional.pdf](http://cintaialam.tripod.com/keamanan-__obat%-20tradisional.pdf). Diakses pada tanggal 8 Desember 2018.
- Khatima, R. K., C. Chotimah, A. F. Z. Eva. 2017. *Uji Daya Hambat Ekstrak Kayu Manis (Cinnamomum burmannii) terhadap Pertumbuhan Candida albicans pada Gigi Tiruan Akrilik*. Skripsi. Makasar: Universitas Muslim Indonesia.
- Kusumaningtyas, E. 2015. *Mekanisme Infeksi Candida albicans pada Permukaan Sel, Veteriner Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis*, Bogor: Balai Penelitian. Tersedia pada laman: [peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/lokakarya/lkzo05-48.pdf](http://peternakan.litbang.pertanian.go.id/fullteks/lokakarya/lkzo05-48.pdf). Diakses pada tanggal 9 November 2018.
- Magaldi, S., S. Mata-Essayag, C. Hartung de Capriles, C. Perez, M.T. Colella, C. Olaizola, & Y. Ontiveros. "Well diffusion for antifungal susceptibility testing". *International Journal of Infectious Diseases*, Vol. 8, page: 39-45
- Maharani, S. 2012. *Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Siwak (Salvadora persica) Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan Candida albicans*. Karya Tulis Ilmiah. Semarang: Universitas Diponegoro. Tersedia pada laman: <https://id.123dok.com/document/zip2ln8ry-setiawati-maharani-g2a007-162-laporan-akhir-kti.html>. Diakses pada tanggal 11 Desember 2018.
- National Center for Biotechnology Information. *PubChem Compound*. Tersedia pada laman: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/10364>. Diakses pada tanggal 16 Januari 2019.
- Okunowo, W. O., O. Oyedeji, L. O. Afolabi, E. Matanmi. 2013. "Essential Oil of Grape Fruit (*Citrus paradisi*) Peels and Its Antimicrobial Activities". *American Journal of Plant Sciences*, Vol 4:1-9.
- Parwata, I M. A. O., S. R. Santi, I M. Sulaksana, & I A. A. Widiarthini. 2011. "Aktivitas Larvasida Minyak Atsiri pada Daun Sirih (*Piper betle* linn) terhadap Larva Nyamuk *Aedes aegypti*". *Jurnal kimia* 5 (1): 88-93.
- Pierce, C.G., A. Srinivasan, P. Uppuluri, A.K. Ramasubramanian, & J.L. López-Ribot. 2013. "Antifungal Therapy with an Emphasis on Biofilms". *Current Opinion in Pharmacology*, Vol. 13, No. 5, pp. 726-730. PMID:24011516. <http://dx.doi.org/10.1016/j.coph.2013.08.008>.
- Pribakti, B. 2012. *Resep "Rahasia Kesehatan Wanita"*. Banjarmasin: CV. Sagung Seto
- Putra, I P. A. 2017. *Efektivitas Ekstrak Biji Srikaya (Annona squamosa) pada Konsentrasi Berbeda terhadap Pertumbuhan Bakteri Escherichia coli*. Skripsi. Singaraja: Universitas Pendidikan Ganesha.
- Radji, M. 2010. *Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: EGC
- Rahardi, Y. H. I., Haryono. 1999. *Agribisnis Tanaman Buah*. Jakarta: Penebar Swadaya
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Bandung: ITB.
- Rozi, 2017. *Metode Perhitungan Bakteri Standard McFarland*. Tersedia pada laman: [rozi-fpk.web.unair.ac.id](http://rozi-fpk.web.unair.ac.id). Diakses pada tanggal 11 Desember 2018.
- Sari, L. O. R. K. 2006. "Pemanfaatan Obat Tradisional Dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya". *Review Artikel Majalah Ilmu Kefarmasian*, Vol. III, No.1, April 2006, 01 – 07, ISSN : 1693-9883.
- Sastroasmoro, S. 2008. *Dasar-Dasar Metodologi Penelitian Klinis*. Jakarta: CV. Sagung Seto
- Siddik, M. B., L. B. Yulia & Edyson. 2016. "Perbandingan Efektivitas Antifungi antara Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi dengan Ketoconazole 2% Terhadap *Candida albicans* In Vitro". *Berkala Kedokteran*, Vol. 12, No.2, halaman: 271-278.
- Simatumpang, M. M. 2009. *Candida albicans*. Departemen Mikrobiologi: Fakultas Kedokteran USU.

- Siregar, R. S. 2002. *Penyakit Jamur Kulit*. Jakarta: 2<sup>th</sup> EGC.
- Sookto, T., T. Srithavaj, S. Thaweboon, B. Thaweboon & B. Shrestha. 2013. "In vitro effects of *Salvia officinalis* L. essential oil on *Candida albicans*". *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, Vol. 3, No. 5, pp. 376-380. PMID:23646301. [http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60080-5](http://dx.doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60080-5).
- Sugumaran, M., M. S. Gandhi, K. Sankarnarayanan, M. Yokesh, M. Poornima, & R. S. Rama. 2011. "Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Vellaikodi Variety of *Piper betle* Linn Leaf Oil against Dental Pathogens". *International Journal of PharmTech Research*, Vol.3, No.4, pp 2135-2139.
- Sundari, D. dan M.W. Winarno. 2001. *Informasi Tumbuhan Sebagai Anti Jamur*. Tersedia pada laman: [http://www.kalbe.co.id/files-cdk/files/cdk\\_130\\_kulit\\_dan\\_kelamin.pdf](http://www.kalbe.co.id/files-cdk/files/cdk_130_kulit_dan_kelamin.pdf). Diakses tanggal 11 Desember 2018.
- Suprpta, D. N. 2014. *Pestisida Nabati, Potensi dan Prospek Pengembangan*. Denpasar: Pelawasari
- Thakre, A., G. Zore, S. Kodgire, R. Kazi, S. Mulange, R. Patil, A. Shelar, B. Santhakumari, M. Kulkarni, K. Kharat & S. M. Karuppayil. 2018. "Limonene Inhibits *Candida albicans* Growth by Inducing Apoptosis". *Medical Mycology*, Vol. 56, No. 5, page 565-578.
- Utami, T. C. 2012 *Makalah Kesehatan Reproduksi Keputihan*. Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan 'Aisyiyah Surakarta Program Studi DIII Kebidanan.
- Widyarto, A. N. 2009. *Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (Citrus nobilis Lour.) Terhadap Staphylococcus aureus dan Escherichia coli*. Skripsi. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Zuraidah, 2015. "Pengujian Ekstrak Daun Sirih (*Piper* sp.) yang Digunakan Oleh Para Wanita di Gampong Dayah Bubue, Pidie dalam Mengatasi Kandidiasis Akibat Cendawan *Candida albican*". *International Journal of Child and Gender Studies*, Vol. 1, No. 2, September 2015, 109-117, Banda Aceh: UIN Ar-Raniry