Efektivitas Ekstrak *Black Garlic* dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans*

(Effectiveness of Black Garlic Extract in Suppressing the Growth of Candida albicans)

Ratih Iswari Ningtias¹, Dyah Indartin Setyowati², Ari Tri Wanodyo Handayani³

¹Pragram Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

²Bagian Oral Medicine, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

³Bagian Ilmu Kesehatan Gigi Masyarakat, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

e-mail korespondensi: ratihiswariningtias@gmail.com

Abstract

Black garlic has many properties naturally that can be used as an antifungal. This study aimed to determine Black garlic extract's effectiveness in inhibiting the growth of Candida albicans and knowing the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC) of Black garlic extract against Candida albicans. This study used five Black garlic extract concentration groups, namely 75%, 50%, 25%, 12.5%, and positive controls, with five replications. Extraction was carried out using the maceration method with 96% ethanol solvent, while the antifungal test was carried out by the liquid dilution method. MIC was determined by observing each test solution's turbidity and clarity compared to the control solution. MFC was determined by observing the presence or absence of fungi colonies growing on Sabouraud Dextrose Agar (SDA) media after incubation 24 hours. The study results carried out the Kruskal-Wallis test showed a significance value (p <0.05), which means significant differences in all groups. The Mann-Whitney test showed a significance value (p <0.05), which means there are differences between treatment groups. The conclusion is that Black garlic extract has antifungal activity with MIC at a concentration of 50% and MFC concentration at a 75% concentration.

Keywords: Antifungal, Black garlic, Candida albicans

Abstrak

Black garlic mempunyai banyak khasiat secara alamiah dapat digunakan sebagai antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak Black garlic dalam menghambat pertumbuhan Candida albicans dan mengetahui Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) ekstrak Black garlic terhadap Candida albicans. Penelitian ini menggunakan 5 kelompok perlakuan konsentrasi ekstrak Black garlic yaitu 75%, 50%, 25%, 12,5%, dan kontrol positif, dengan 5 kali ulangan. Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, sedangkan uji antifjamur dilakukan dengan mengdunakan metode dilusi cair. KHM ditentukan dengan mengamati kekeruhan dan kejernihan dari masing-masing larutan uji dan dibandingkan larutan kontrol. KBM ditentukan dengan mengamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh pada media Sabouraud Dextrosa Agar (SDA) setelah diinkubasi selama 24 jam. Hasil penelitian dilakukan uji Kruskall-Wallis menunjukkan nilai signifikansi (p<0,05) yang artinya terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok. Pada uji Mann-Whitney menunjukkan nilai signifikansi (p<0,05) yang artinya terdapat perbedaan antar kelompok perlakuan. Kesimpulan yang didapat bahwa ekstrak Black garlic memiliki kemampuan antijamur dengan KHM pada konsentrasi 50% dan KBM pada konsentrasi 75%.

Kata kunci: Antijamur, Black garlic, Candida albicans

Pendahuluan

Bawang putih (Allium sativum) digunakan sebagai pemberi cita rasa makanan dan memiliki khasiat pada bidang kesehatan untuk pencegahan dan pengobatan penyakit karena mempunyai efek biologis dan farmakologis [1]. Tanaman ini memiliki khasiat sebagai antijamur karena kandungan senyawa sulfur organik yaitu alliin yang disintesis dari asam amino sistein. Allinase akan merubah alliin meniadi allicin apabila bawang putih dihancurkan atau dipotong-potong [2]. allicin merupakan komponen Senyawa penghasil bau yang utama pada bawang putih [3]. Senyawa tersebut menyebabkan aroma yang ditimbulkan kurang bisa diterima oleh konsumen, sehingga beberapa bawang putih diolah menjadi bawang hitam (Black garlic) [4].

Black garlic merupakan hasil pengolahan terhadap bawang putih dengan suhu dan kelembaban yang tinggi tanpa penambahan zat lain dan prosesnya dinamakan proses aging. Pada proses aging tersebut terjadi suatu reaksi yang bernama reaksi Maillard. Maillard dapat menyebabkan Reaksi perubahan warna, bau, serta rasa asli pada putih [5]. **Proses** aging menyebabkan kandungan senyawa allicin diubah menjadi senyawa bioaktif seperti polifenol, flavonoid, ajoene, diallyl sulfide (DAS), dan diallyl disulfide (DADS). Senyawasenyawa organosulfur ini berasal dekomposisi allicin dan berperan dalam aktivitas antioksidan dan antimikroba pada Black garlic [6,7].

Rongga mulut manusia mengandung macam mikroflora, diantaranya adalah iamur Candida albicans. Jamur ini merupakan salah satu flora normal rongga mulut pada individu yang sehat dan bersifat patogen oportunistik. Perubahan dari organisme komensal menjadi patogen tergantung pada faktor predisposisi yang sehingga menyebabkan berbeda-beda perubahan kondisi lingkungan di dalam rongga mulut dan menyebabkan terjadinya suatu penyakit yang disebut kandidiasis oral [8]. Perubahan tersebut misalnya penuruan sekresi saliva, pemakaian gigi tiruan palsu, dan penggunaan obat-obatan misalnya antibiotik spektrum luas. dan kebersihan rongga mulut yang buruk [9].

Kandidiasis oral adalah salah satu infeksi jamur yang mengenai mukosa rongga mulut dan disebabkan oleh jamur *Candida albicans* [10]. Jumlah prevalensi *Candida albicans* 20%-75% dijumpai pada manusia sehat tanpa gejala. Kandidiasis pada penyakit sistemik menyebabkan peningkatan angka kematian

sekitar 71%-79%. Infeksi ini terkadang menyerang bayi dan orang dewasa yang tubuhnya lemah [11].

Penatalaksanaan kandidiasis dilakukan dengan 2 cara yakni dalam bentuk lokal maupun sistemik berdasarkan penyebab yang mendasarinya [10]. Obat yang selama ini digunakan sebagai antijamur meliputi golongan azol, alilamin, dan polien, ekinokandin [12]. Kandidiasis oral biasanya diterapi obat topikal dengan nistatin. ketokonazol atau fluconazole dan obat sistemik seperti amphotericin B, kadangkadang bersama dengan flucytosine oral. caspofungin. fluconazole atau Obat-obat tersebut memiliki keterbatasan seperti efek samping yang berat, penetrasi yang buruk pada jaringan tertentu, munculnya jamur yang resisten dan spektrum antijamur yang sempit [13].

Eksplorasi terhadap obat antijamur yang bersifat alami dapat dilakukan untuk mengatasi efek negatif yang ditimbulkan oleh obat antijamur sintetis tersebut. Salah satu sumber yang dapat dijadikan sebagai obat antijamur alami adalah tanaman. Senyawa antijamur yang berasal dari tanaman sebagian besar merupakan metabolit sekunder tanaman, terutama golongan fenolik [14].

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka perlu dilakukan penelitian efektivitas ekstrak Black garlic terhadap pertumbuhan Candida albicans menggunakan metode dilusi cair dengan konsentrsai 75%, 50%, 25%, dan 12.5% vang bertujuan untuk mengetahuj Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak Black garlic. Selama ini penelitian yang dilakukan menggunakan metode difusi cakram, oleh perlu dilakukan karena itu penelitian menggunakan metode lain seperti metode dilusi cair.

Metode Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian jenis eksperimental laboratoris dengan rancangan penelitian *the post test only control group design*. Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan November 2018 sampai Januari 2019. Sampel yang digunakan sebanyak 25 sampel yang dibagi menjadi 5 kelompok penelitian (1 kelompok kontrol dan 4 kelompok perlakuan). Pada kelompok perlakuan terdiri dari konsentrasi 75%, 50%, 25%, dan 12,5%. Pada kelompok kontrol terdiri dari kontrol positif (nistatin).

Black garlic terbuat dari bawang putih yang dipanaskan pada suhu 65-80°C dengan

kelembaban relatif 70-80% selama 21 hari tanpa perlakuan tambahan apapun.

Cara pembuatan ekstrak Black garlic yaitu Black garlic yang telah jadi dimasukkan botol maserasi. dalam kemudian ditambahkan etanol 96% ke dalam botol maserasi sampai larutan menutupi Black garlic, diamkan selama 5 hari. Maserat yang diperoleh dikumpulkan dan uapkan etanol menggunakan destilasi dengan vacum (rotatorv evaporator) hingga pelarut berkurang, kemudian ekstrak dipanaskan menggunakan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental.

Penelitian ini menggunakan metode dilusi cair. Ekstrak Black garlic yang diperoleh diambil sebanyak 10 gr dimasukkan dalam labu ukur 10 ml kemudian ditambah aguades steril sampai batas yang tertera pada labu, sehingga diperoleh konsentrasi 100% b/v sebagai stok. Tabung 1 diisi 3 mL sampel (disebut tabung B1, dengan konsentrasi sampel 100%). Tabung 2 diisi 2 mL sampel (disebut tabung B2, dengan konsentrasi sampel 100%). Tabung 3 diisi 1 mL B2, ditambah 1 mL SDB (disebut tabung B3, dengan konsentrasi sampel 50%). Tabung 4 diisi 1 mL B3, ditambah 1 mL SDB (disebut tabung B4, dengan konsentrasi sampel 25%). Tabung 5 diisi nistatin 100.000 IU (sebagai kontrol positif).

Masing-masing tabung ditambahkan suspensi jamur *Candida albicans* dengan tingkat kekeruhan McFarland 3x10⁸ CFU/ mL sebesar 1 ml, sehingga diperoleh konsentrasi akhir 75%, 50%, 25%, dan 12,5%. Kelima tabung ini kemudian diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C, kemudian dilihat konsentrasi terendah yang tidak terdapat pertumbuhan jamur ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung reaksi. Hasil pengamatan tersebut ditetapkan sebagai KHM.

Uji KBM ekstrak Black garlic menggunakan media SDA. Masing-masing suspensi pada tabung reaksi yang telah diinkubasi diambil 0,5 ml menggunakan mikropipet kemudian diratakan pada media menggunakan spreader supaya suspensi menyebar secara merata. Plate diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. KBM ditentukan dengan mengamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh pada media SDA setelah diinkubasi, konsentrasi terendah yang memperlihatkan kematian jamur (tidak ada pertumbuhan) merupakan KBM. pengamatan diberi nilai 1 (jika tidak ada pertumbuhan) dan nilai 2 (jika ada pertumbuhan).

Data hasil penelitian dilakukan analisa untuk mengetahui normalitas data menggunakan uji Saphiro Wilk dan uji homogenitas menggunakan Levene Test, kemudian dilakukan uji statistik non parametrik Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney.

Hasil Penelitian

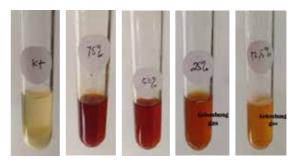
Hasil penelitian yang dilakukan pada 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif, konsentrasi 75%, konsentrasi 50%, konsentrasi 25%, dan konsentrasi 12,5% untuk uji KHM terhadap *Candida albicans* disajikan pada (Tabel 1).

Tabel 1 Hasil uji KHM ekstrak *Black garlic* terhadap *Candida albicans*

Kelompok	Hasil
Kontrol Positif	-
Konsentrasi 75%	-
Konsentrasi 50%	-
Konsentrasi 25%	+
Konsentrasi 12,5%	+

- (+) artinya ada pertumbuhan jamur C. albicans
- (-) artinya tidak ada pertumbuhan jamur C. albicans

Hasil uji KHM terhadap Candida albicans pada Tabel 1 setelah diinkubasi selama 24 jam menunjukkan kelompok kontrol positif, konsentrasi 75%, dan konsentrasi 50% tidak mengalami kekeruhan, sedangkan pada konsentrasi 25%, dan konsentrasi 12,5% mengalami kekeruhan. Hal ini menunjukan pada kelompok kontrol positif, konsentrasi 75%, dan konsentrasi 50% mempunyai daya fungistatik, sedangkan pada konsentrasi 25%, dan konsentrasi 12,5% tidak mempunyai daya fungistatik. Hal ini menunjukkan bahwa KHM ekstrak Black garlic dalam menghambat pertumbuhan jamur Candida albicans yaitu pada konsentrasi 50%.



Gambar 1 Hasil uji KHM ekstrak *Black garlic* terhadap *Candida albicans*

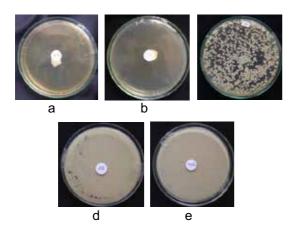
Hasil penelitian uji KBM yang dilakukan pada 5 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif, konsentrasi 75%, konsentrasi 50%, konsentrasi 25%, dan konsentrasi 12,5% disajikan pada (Tabel 2).

Tabel 2 Hasil uji KBM ekstrak *Black garlic* terhadap *Candida albicans*

Kelompok	Hasil
Kontrol Positif	-
Konsentrasi 75%	-
Konsentrasi 50%	+
Konsentrasi 25%	+
Konsentrasi 12,5%	+

- (+) artinya ada pertumbuhan jamur C. albicans
- (-) artinya tidak ada pertumbuhan jamur C. albicans

Berdasarkan tabel 2 hasil uji KBM menunjukkan kelompok kontrol positif dan konsentrasi 75% tidak terdapat pertumbuhan jamur, sedangkan pada konsentrasi 50%, konsentrasi 25%, dan konsentrasi 12,5% terdapat pertumbuhan jamur. Hal ini menunjukkan bahwa KBM ekstrak *Black garlic* dalam membunuh pertumbuhan jamur *Candida albicans* yaitu pada konsentrasi 75%.



Gambar 2 Hasil uji KBM terhadap *Candida albicans*. Tidak ada pertumbuhan koloni pada kontrol positif (a) dan konsentrasi 75% (b). Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 50% (c), konsentrasi 25% (d), dan konsentrasi 12,5% (e).

Analisis data dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Saphiro-Wilk* dan uji homogenitas menggunakan uji *Levene Test.* Hasil uji menunjukkan data tidak berdistribusi normal dan tidak homogen (p<0,05), kemudian dilakukan uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan pada semua kelompok (p<0,05). untuk mengetahui besarnya perbedaan antar kelompok perlakuan maka dilakukan uji *Mann Whitney* yang menunjukan nilai signifikansi p<0,05 dan ada kelompok dengan nilai signifikansi p>0,05.

Pembahasan

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan tujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak Black garlic terhadap pertumbuhan Candida albicans. Parameter yang digunakan dalam penelitian ini adalah KHM dan KBM ekstrak Black garlic terhadap pertumbuhan Candida albicans. Uji KHM dilakukan dengan cara mengamati kekeruhan larutan uji, sedangkan untuk menguji KBM dengan cara meratakan sampel pada media SDA menggunakan teknik spread plate kemudian diamati ada tidaknya pertumbuhan jamur Candida albicans pada tiap konsentrasi dan kontrol positif.

Hasil penelitian uji KHM menunjukkan pada kelompok konsentrasi 12.5% dan konsentrasi 25% tidak mampu menghambat Candida pertumbuhan iamur albicans. sedangkan kelompok konsentrasi 50%. konsentrasi 75%. dan kontrol positif menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan jamur Candida albicans. Larutan terlihat agak gelap diduga karena warna ekstrak Black garlic yang dari awal berwarna cukup gelap dan pada konsentrasi 75% dan konsentrasi 50% ekstraknya masih cukup pekat, sehingga sulit menentukan berdasarkan kekeruhan larutan, namun ada perbedaan yang signifikan pada konsentrasi 25% dan konsentrasi 12,5% yaitu terdapat gelembung gas pada permukaan larutan yang menandakan adanya pertumbuhan jamur pada kosentrasi tersebut.

uji KBM menunjukkan pada Hasil konsentrasi 12,5%, konsentrasi 25%, dan 50% menunjukkan konsentrasi adanya pertumbuhan iamur Candida albicans. sedangkan pada konsentrasi 75% dan kontrol positif menuniukkan tidak adanva pertumbuhan jamur Candida albicans. Hasil tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi minimum ekstrak Black mampu garlic menghambat pertumbuhan jamur yaitu pada konsentrasi 50%, sedangkan konsentrasi minimum ekstrak Black garlic mampu membunuh pertumbuhan jamur yaitu konsentrasi 75%. Kontrol positif yang berupa obat nistatin menunjukkan bahwa nistatin kemampuan menghambat membunuh yang baik terhadap jamur Candida albicans.

Mekanisme kerja dari obat nistatin dengan cara polien terikat dengan ergosterol pada membran sel jamur, sehingga menyebabkan terbentuknya saluran ion. Saluran ion ini mengakibatkan kebocoran pada membran sel jamur sehingga jamur akan mati. Kerusakan membran oleh polien juga dapat melalui proses oksidatif yang berperan

dalam mempercepat proses kematian jamur [15].

Kemampuan ekstrak *Black garlic* dalam menghambat dan membunuh jamur diduga karena mengandung senyawasenyawa antijamur. Senyawa-senyawa tersebut adalah polifenol, flavonoid, ajoene, DAS, dan DADS. Senyawa flavonoid dan polifenol merupakan kelompok senyawa fenol yang berfungsi sebagai antijamur sehingga kedua senyawa tersebut dapat digunakan sebagai antijamur [16].

Senyawa lain yang berperan sebagai antimikroba vaitu aioene. DAS. dan DADS. Hasil studi menunjukkan ajoene dapat menjadi menjadi obat antimikotik alternatif, efisien dan murah untuk terapi jangka pendek mikosis superfisial dengan cara menghambat sintesis RNA, DNA dan protein. Senyawa DAS dan DADS secara signifikan dapat menghambat sekresi fosfolipase, proteinase, dimorfisme pada Candida albicans sehingga dapat berperan sebagai antijamur yang kuat dalam pengobatan kandidiasis [17]. DADS efektif memicu kematian sel pada Candida albicans dengan cara memunculkan stres oksidatif yang disebabkan oleh gangguan fungsi mitokondria. Adanya kerusakan pada mitokondria merupakan awal mula dari kematian sel pada Candida albicans [18].

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan esktrak *Black garlic* memiliki kemampuan antijamur dengan nilai KHM 50% dan KBM 75%. Adanya kandungan senyawasenyawa antijamur seperti polifenol, flavonoid, ajoene, diallil sulfida (DAS), dan dialil disulfida (DADS) menunjukkan terdapat pengaruh terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Simpulan dan Saran

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak *Black garlic* dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 50% dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KHM) ekstrak *Black garlic* dalam membunuh pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 75%.

Saran pada penelitian ini perlu dilakukan penelitian lebih lanjut tentang senyawa aktif secara spesifik (flavonoid, polifenol, ajoene, DAS, dan DADS) yang terkandung dalam ekstrak *Black garlic* yang dapat menghambat dan membunuh *Candida albicans*.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih kepada almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Daftar Pustaka

- [1] Andayani D, dan Kurniawan RA. Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Bawang Putih Tunggal (*Allium Sativum L.*) terhadap Jamur (*Candida Albicans*). Jurnal Ilmu Kesehatan dan Farmasi. 2014. 2(1): 15-19
- [2] Kulsum H. Aktivitas Antifungi Ekstrak Bawang Putih dan *Black Garlic* Varietas Lumbu Hijau dengan Metode Ekstraksi yang Berbeda terhadap Pertumbuhan *Candida albicans. Skripsi.* Surakarta: Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2014.
- [3] Komari dan Sundari D. Pengaruh Fraksi Air Ekstrak Bawang Putih terhadap Kadar Kalium Iodat dalam Garam Berlodlum (The Effect of Garlic Extract on the Concentration of Potassium Iodate in Iodized Salt). *Puslitbnag Gizi dan Makanan.* 2009. 32(2): 150-158.
- [4] Choi IS, Cha HS, dan Lee YS. Physicochemical and Antioxidant Properties of *Black garlic. Molecules*. 2014. 19(10): 16811-16823.
- [5] Handayani SN, Bawono LC, Ayu DP, dan Pratiwi HN. Isolasi Senyawa Polifenol Black garlic dan Uji Toksisitasnya terhadap Larva Udang (Artemia salina Leach). Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia. 2018. 16(2): 145-149.
- [6] Ryu JH, dan Kang D. Physicochemical Properties, Biological Activity, Health Benefits, and General Limitations of Aged Black garlic: A Review. Molecules. 2017. 22(6): E919.
- [7] Martins N, Petropoulos S, dan Ferreira ICFR. Chemical composition and bioactive compounds of garlic (Allium sativum L.) as affected by pre- and postharvest conditions: A review. Food Chemistry. 2016. 211: 41-50.
- [8] Lestari EP. Peran Faktor Virulensi pada Patogenesis Infeksi *Candida albicans*. *Stomatognatic*. 2010. 7(2): 113-117.
- [9] Williams D, dan Lewis M. Pathogenesis and Treatment of Oral Candidiosis. *Journal of Oral Microbiology*. 2011. 3: 5771.
- [10] Hakim L, dan Ramadhian MR. Kandidiasis Oral. *Majority*. 2015. 4(9): 53-57
- [11] Prasetya WH. Oral Thrush. *Makalah*. Yogyakarta: Stikes Bethesda Yakkum Yogyakarta. 2012.
- [12] Firmansyah,I. Antijamur. *Makalah Kuliah Umum*. Bandung: Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran. 2012.

- [13] Brooks GF, Carroll KC, Butel JS, Morse SA, dan Mietzner TA. *Jawetz, Melnick and Adelberg' Medical Microbiology 26th Edition*. United States: The McGraw-Hill Companies. 2013.
- [14] Ningsih DR, Zusfahir, dan Mantari D. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica* L.) sebagai Antijamur terhadap Jamur *Candida albicans d*an Identifikasi Golongan Senyawanya. *Jurnal Kimia Riset*. 2017. 2(1): 61-68.
- [15] Mozer H. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (Lannea coromandelica) terhadap Aspergillus niger, Candida albicans, dan Trichophyton rubrum. Skripsi. Jakarta:

- Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah. 2015.
- [16] Diana K. Uji Aktivitas Antijamur Infusa Umbi Bawang Putih (Allium sativum L.) terhadap Candida albicans serta Profil Kromatografinya. Galenika Journal of Pharmacy. 2016. 2(1): 49-58.
- [17] Pazyar N, dan Feily A. Garlic in Dermatology. *Dermatology Reports*. 2011. 3: e4.
- [18] Lemar KM, Aon MA, Cortassa S, O'rourke B, Muller CT, dan Lloyd D. Diallyl Disulphide Depletes Glutathione in *Candida albicans*. 2007. 24(8): 695-706.