

Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.) terhadap *Candida albicans*

(Antifungal Activity Test of Cocoa (*Theobroma cacao* L.) peel extract on Growth of *Candida albicans*)

Desy Sofyah Harlina¹, Yani Corvianindya Rahayu², Atik Kurniawati²

¹ Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Indonesia

² Bagian Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Indonesia

Abstrak

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida* spp. Prevalensi kandidiasis di Indonesia sekitar 20-25%, dapat menyerang kulit, kuku, rambut, tenggorokan, dan mulut. Salah satu infeksi jamur yang terjadi di rongga mulut adalah Kandidiasis oral. Kandidiasis oral disebabkan oleh pertumbuhan berlebihan dari spesies *Candida* dalam rongga mulut yang didominasi oleh *Candida albicans* (*C. albicans*) sebanyak 85-95%. Salah satu pengobatan dengan menggunakan tanaman obat herbal adalah kulit buah kakao yang mengandung senyawa aktif diantaranya fenolik, flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid yang diduga sebagai antijamur. Tujuannya untuk mengetahui daya hambat ekstrak kulit buah kakao terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Penelitian ini menggunakan metode difusi cakram dengan 4 sampel pada setiap kelompok penelitian. Kelompok penelitian terdiri dari 5 kelompok perlakuan (ekstrak kulit buah kakao 10%, 20%, 40%, 80%, dan 100%), kelompok kontrol positif (nystatin), dan kelompok kontrol negatif (aquades steril). Data dianalisis menggunakan uji One Way Anova dan uji LSD (Least Significant Difference). Konsentrasi ekstrak kulit buah kakao 100% dan 80% memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

Kata kunci: aktivitas antijamur, *C. albicans*, Ekstrak kulit buah kakao,

Abstract

Candidiasis is an opportunistic fungal infection caused by Candida albicans. The prevalence of candidiasis in Indonesia is around 20-25%, it can attack the skin, nails, hair, throat, and mouth. One of the fungal infections that occur in the oral cavity is oral candidiasis. Oral candidiasis is caused by overgrowth of Candida albicans species in the oral cavity which is dominated by Candida albicans as much as 85-95%. One of the treatments using herbal medicinal plants is cocoa peel containing active compounds including phenolics, flavonoids, tannins, and terpenoids which are thought to be antifungal. The aim was to determine the inhibition of cocoa peel extract on the growth of Candida albicans. This study used the disc diffusion method with 4 samples in each study group. The research group consisted of 5 treatment groups (10%, 20%, 40%, 80%, and 100% cocoa peel extract), positive control group (nystatin), and negative control group (sterile aquades). Data were analyzed using One Way Anova test and LSD (Least Significant Difference) test. Concentrations of extracts of cocoa pods 100% and 80% have the ability to inhibit the growth of Candida albicans.

Keyword : Antifungal activity, *Candida albicans*, Cocoa peel extract

Korespondensi (Correspondence): Atik Kurniawati. Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember. Jl. Kalimantan 37, Jember, Indonesia. Email: atik.fkg@unej.ac.id

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang memiliki karakteristik berupa suhu udara dan kelembaban yang cukup tinggi. Karakteristik iklim tropis, kondisi kulit yang mudah berkeringat dan lembab, kebersihan diri yang tidak terjaga, dan kurangnya pengetahuan tentang kesehatan merupakan faktor risiko pertumbuhan jamur. Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida* spp.¹ Prevalensi kandidiasis di Indonesia sekitar 20-25%, dapat menyerang kulit, kuku, rambut, tenggorokan, dan mulut. Kandidiasis oral adalah infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* yang sering terjadi pada rongga mulut.² Infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans* dengan prevalensi sebanyak 85-95%. Terdapat 5 spesies kandida yang terdapat di kavitas oral, diantaranya yaitu; *C. tropicalis*, *C. krusei*, *C. parapsilosis*, dan *C. guilliermondii*. Dari kelima tipe tersebut, *C. albicans* adalah yang paling sering terdapat pada kavitas oral dan menyebabkan infeksi oportunistik pada manusia.³ *C. albicans* merupakan bagian dari flora normal dan dapat bersifat patogen invasif. *C.*

albicans bersifat oportunistik dan patogen bila terjadi perubahan pada individu (host) yang memicu pertumbuhannya. Faktor pendukung tersebut antara lain faktor eksogen seperti kebersihan kulit, perubahan cuaca ataupun kontak dengan penderita, dan faktor endogen yang berupa perubahan fisiologis (kehamilan), usia dan penurunan sistem imun tubuh manusia atau *immunocompromised*.⁴

Salah satu upaya untuk mengatasi infeksi dari kandidiasis oral, salah satunya dengan penggunaan nistatin, selain amfoterisin B dan ketokonazol. Dengan kesembuhan sekitar 85% dan sebagian besar lesi akan sembuh dalam waktu 2 minggu. Mekanisme kerja pada nistatin yaitu dengan melakukan ikatan yang kompleks dengan membran ergosterol pada membran sitoplasma fungi yang sensitif. Sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran dengan membentuk pori-pori intra membran dengan demikian dapat menyebabkan kehilangan intra sel penting yang terdapat pada senyawa seperti ion dan molekul yang kecil. Sehingga kemudian sel jamur akan

mengalami kematian.⁵ Pemberian nistatin secara oral sering dibatasi oleh karena rasanya yang pahit.⁵ Efek merugikan jarang ditemukan karena tidak diserapnya nistatin secara oral, tetapi gejala mual dan muntah dapat terjadi, sehingga diperlukan suatu bahan alternatif yang efektif menyembuhkan kandidiasis oral dari bahan herbal salah satunya dari tanaman buah kakao.

Di Jember, banyak ditemukan kakao jenis Lindak. Sektor perkebunan cacao di daerah jember paling besar penghasil cocoa jenis Lindak (Forastero). Kulit buah kakao merupakan limbah terbesar yang dihasilkan oleh petani, dan digunakan sebagai makanan ternak dan mudah membusuk. Pertumbuhan kakao Lindak lebih kuat, lebih tahan hama dari penyakit serta menunjukkan produktivitas yang tinggi. Permukaan kulit buah relatif halus karena memiliki alur-alur yang dangkal. Bijinya berbentuk lonjong, pipih dan kecil serta kotiledon berwarna ungu gelap.

Kulit buah kakao memiliki banyak manfaat bagi kesehatan diantaranya sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan antijamur. Sebagai antijamur kulit buah kakao mengandung senyawa aktif seperti fenolik, flavonoid, tanin, saponin, dan terpenoid.⁶ Senyawa flavonoid dapat mengikat protein mikrotubulus dalam sel sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur.⁷ Mekanisme antijamur yang dimiliki tanin adalah karena kemampuannya menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada jamur dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan jamur terhambat.⁸ Mekanisme saponin sebagai anti jamur yaitu menyebabkan sel mikroba lisis dengan mengganggu stabilitas membran selnya. Saponin bersifat sebagai surfaktan yang berbentuk polar akan menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *Candida albicans*, sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran yang berakibat pemasukan bahan atau zat-zat yang diperlukan dapat terganggu akhirnya sel membengkak dan pecah.⁹ Mekanisme Fenol sebagai antijamur yaitu bekerja dengan cara meningkatkan jumlah reactive oxygen species (ROS) sehingga memicu terjadinya apoptosis (kematian) sel jamur pada *Candida albicans*.¹⁰ Sifat antijamur terpenoid, yaitu kemampuan terpenoid melewati dinding sel jamur dan berada di antara rantai asam lemak lipid bilayer, mengganggu pembentukan lipid, dan mengubah struktur membran sel. Senyawa lipofilik tersebut berpenetrasi ke dalam sel dan mengganggu biosintesis ergosterol.¹¹

Berdasarkan latar belakang tersebut, penulis bermaksud untuk melakukan penelitian tentang daya hambat antijamur ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *C. albicans* dengan menggunakan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80%, dan 100%.

METODE PENELITIAN

Jenis penelitian yang dilakukan merupakan penelitian *experimental laboratoris* dengan menggunakan rancangan *The Post Test Only Control Group Design*. Penelitian dilakukan pada bulan maret- juni 2022 di Laboratorium Mikrobiologi bagian Biomedik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Laboratorium Biologi Fakultas MIPA Universitas Jember, dan Laboratorium Tanaman Fakultas Pertanian Politeknik Negeri Jember. Jumlah sampel pada penelitian ini adalah 4 buah untuk setiap kelompok perlakuan yang telah memenuhi hasil perhitungan jumlah sampel minimal menurut Federer.

Cara pembuatan ekstrak kulit buah kakao yaitu dengan menimbang sebanyak 5 Kg kulit buah kakao kemudian dijemur dibawah sinar matahari. Setelah kering kemudian dipilah- pilah untuk mencari kulit kakao Lindak yang berwarna kuning. Setelah dipilah- pilah kemudian menghilangkan bercak berwarna putih yang menempel pada kulit kakao. Bercak putih atau jamur yang menempel pada kulit buah kakao kemudian dibersihkan dengan cara dikerok dengan menggunakan pisau. Setelah permukaan kulit bersih dari bercak putih kemudian kulit kakao di potong-potong membentuk persegi empat. Dengan diameter sekitar kurang lebih 2 mm, agar pada saat penggilingan menggunakan mesin blender lebih mudah hancur dan hasilnya halus. Setelah dipotong- potong menjadi bentuk persegi empat kemudian diletakkan di loyang. Di atas loyang diberikan lapisan aluminium foil. Hal ini dilakukan agar kulit benar benar kering saat di oven dan tidak tumbuh jamur pada kulit yang tidak kering dengan sempurna. kemudian dilakukan pengovenan pada suhu 55^oC selama 48 jam hingga kadar air sampel \pm 10%. Dihaluskan dan dipisahkan filtrat dan residu ekstrak dengan kertas saring untuk mendapatkan ekstrak kulit buah kakao yang murni 100%.

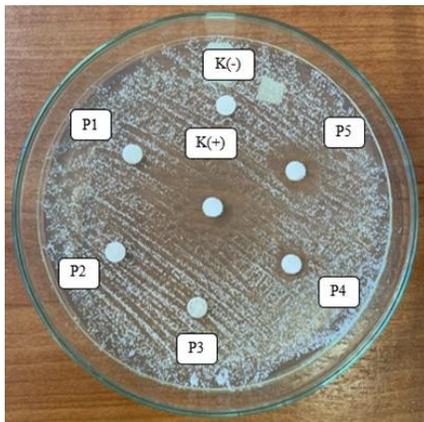
Jumlah keseluruhan sampel pada penelitian ini digunakan sebanyak 28 sampel; terdiri dari 7 kelompok penelitian yaitu ekstrak kulit buah kakao dengan konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80%, 100%, kelompok kontrol positif (nistatin), dan kelompok kontrol negatif (aquadest steril) dengan besar sampel sebanyak 4 untuk setiap kelompok penelitian. Metode uji antijamur yang digunakan pada penelitian ini adalah *disc diffusion* kemudian kertas cakram diletakkan pada media PDA (Potato Dextrose Agar) yang telah diinokulasikan dengan suspensi *Candida albicans* dengan menggunakan mikropipet sebanyak 10 μ . Perlakuan tersebut diulangi pada petri dish ke-2,3 dan 4. Kemudian di inkubasi pada inkubator pada suhu 37^oC selama 24 jam. Zona hambat yang terbentuk diukur menggunakan jangka sorong digital dan dicatat dalam satuan millimeter (mm).

Setelah data terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-*

Wilk dan uji homogenitas menggunakan Levene. Jika pada kedua uji tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen maka dilakukan uji lanjut *One way Anova* dilanjutkan dengan uji *LSD (Least Square Differences)*. Tetapi jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian mengenai daya hambat ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *Candida albicans* (Gambar 1)



Gambar 1. Zona hambat kelompok penelitian

Pada Gambar 1 dapat dilihat adanya zona bening disekitar kertas cakram yang disebut dengan zona hambat. Zona hambat tersebut diukur diameternya menggunakan jangka sorong digital. Hasil rata-rata pengukuran zona hambat yang didapatkan dari semua kelompok penelitian disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil zona hambat ekstrak kulit buah kakao terhadap *C. albicans* (n=4)

Kelompok	zona hambat (mm)
K+	23,73±0,93
K-	0,00±0,00
K10	0,00±0,00
K20	0,00±0,00
K40	0,00±0,00
K80	9,83±0,62
K100	10,30±0,97

n: Jumlah sampel;

K+: kontrol positif (nystatin);

K-: kontrol negatif (aquadest steril);

K10: ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 10%;

K20: ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 20%;

K40: ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 40%;

K80: ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 80%;

K100: ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 100%.

Hasil rata-rata pengukuran zona hambat didapatkan dari masing-masing sampel penelitian dengan 4 kali pengulangan. Pada penelitian ini didapatkan perbedaan hasil dari pengukuran zona hambat dari ekstrak kulit buah kakao terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Nilai rata-rata zona hambat ekstrak kulit buah kakao berturut-turut sebagai berikut: kontrol negatif, ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 10%, 20%, 40% sebesar 0 mm, ekstrak kulit kakao 80% sebesar 9,83 mm, ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 100% sebesar 10,30 mm, dan kontrol positif sebesar 23,73 mm.

Data hasil penelitian kemudian dilakukan analisis data secara statistik. Uji Normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dan Uji Homogenitas dengan Levene selanjutnya menggunakan uji *One Way Anova*. Apabila data berdistribusi normal dan homogen maka dilanjutkan dengan *LSD (Least Significant Differences)*. Tetapi jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

Berdasarkan hasil uji normalitas menggunakan uji *Shapiro-Wilk* menunjukkan nilai signifikansi yang didapatkan dari kelompok perlakuan memiliki nilai $p > 0,05$. Sehingga seluruh sampel penelitian berdistribusi secara normal. Pada uji homogenitas menggunakan uji *Levene*, didapatkan hasil 0,592 artinya lebih besar dari 0,5 sehingga dapat disimpulkan data homogen. Selanjutnya dilanjutkan uji *One Way Anova* didapatkan nilai signifikansi yang menunjukkan nilai $p < 0,05$, sehingga dapat disimpulkan rata-rata diameter zona hambat masing-masing kelompok memiliki perbedaan yang bermakna. Uji statistik dilanjut dengan uji *LSD (Least Significant Difference)* untuk mengetahui apakah suatu kelompok penelitian memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok lainnya.

PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antijamur dari ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap *C.albicans*. Hasil ekstraksi dari kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dibagi kedalam beberapa kelompok konsentrasi, yaitu: konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 100%. Ekstrak yang sudah dibagi kedalam beberapa konsentrasi selanjutnya dilakukan pengujian daya hambat jamur terhadap *C.albicans* dengan metode kertas cakram (*Disk Diffusion Method*) pada media PDA (*Potato Dextrose Agar*).

Metode kertas cakram dipilih karena memiliki kelebihan yaitu dapat melakukan pengujian yang lebih banyak dalam satu kali kegiatan penelitian, luas zona hambat yang terbentuk akan lebih mudah untuk diukur, dan membutuhkan tenaga yang lebih sedikit dan dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyediaan cakram. Prinsip kerja dari

metode cakram ini adalah dengan menggunakan kertas cakram diameter tertentu yang dibasuh dengan larutan ekstrak dan ditempatkan pada media agar yang telah memadat dan telah diberi biakan mikroorganisme pada permukaan mediana.

Berdasarkan kriteria yang dipaparkan oleh (Davis & Stout., 2009) hasil penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil nilai rata-rata zona hambat ekstrak kulit buah kakao berturut-turut sebagai berikut: kontrol negatif, ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 10%, 20%, 40% sebesar 0 mm, ekstrak kulit kakao 80% sebesar 9,83 mm, ekstrak kulit buah kakao konsentrasi 100% sebesar 10,30 mm, dan kontrol positif sebesar 23,73 mm. Pada penelitian yang telah dilakukan didapatkan hasil adanya kontaminasi pada media pertumbuhan *C. albicans* sehingga dapat mempengaruhi hasil zona hambat. Kontaminasi akan menyebabkan mikroorganisme akan tumbuh dengan cepat menutupi permukaan media dan sekitar kertas cakram.

Pada penelitian yang dilakukan didapatkan hasil analisa data dari ekstrak kulit buah kakao dan kelompok kontrol, dapat disimpulkan menggunakan uji parametri data bernilai normal karena memiliki nilai $p > 0,05$. Setelah itu dilakukan uji homogenitas untuk mengetahui apakah data hasil penelitian homogen atau tidak. Dari penelitian yang dilakukan didapatkan hasil $p < 0,05$ maka data homogen. Karena uji normalitas berdistribusi normal dan uji homogenitas bernilai homogen maka dilakukan uji lanjutan yaitu uji parametrik *LSD (Least Square Differences)* digunakan untuk mengetahui apakah suatu kelompok perlakuan memiliki perbedaan yang signifikan terhadap kelompok lainnya. Hasil dari uji parametrik *LSD (Least Square Differences)* didapatkan hasil nilai signifikansi $p=0,00$ ($p < 0,05$) Sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antara kelompok kontrol dengan kelompok konsentrasi.

Pada kulit buah kakao memiliki kandungan aktif antara lain: flavonoid, tanin, saponin, fenol, dan terpenoid. Senyawa flavonoid dapat mengikat protein mikrotubulus dalam sel sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur. Mekanisme antijamur yang dimiliki tanin adalah karena kemampuannya menghambat sintesis khitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada jamur dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan jamur terhambat. Mekanisme saponin sebagai anti jamur yaitu menyebabkan sel mikroba lisis dengan mengganggu stabilitas membran selnya. Mekanisme Fenol sebagai antijamur yaitu bekerja dengan cara meningkatkan jumlah reactive oxygen species (ROS) sehingga memicu terjadinya apoptosis (kematian) sel jamur pada *Candida albicans*. Sifat antijamur terpenoid, yaitu kemampuan terpenoid melewati dinding sel jamur dan berada di antara rantai asam lemak lipid bilayer, mengganggu pembentukan lipid, dan mengubah struktur membran sel.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa kelompok

kontrol positif (nystatin) dan kelompok konsentrasi 100% memiliki zona hambat terbesar terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Saran yang dapat diberikan yaitu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan senyawa aktif lainnya pada kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) yang memiliki potensi sebagai antijamur, peneliti harus lebih mematuhi SOP penelitian, agar hasil penelitian terhindar dari kontaminasi, dan perlu dilakukan penelitian lebih lanjut apakah ekstrak kulit buah kakao (*Theobroma cacao L.*) dapat digunakan sebagai bahan obat herbal alternatif selain infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans* pada rongga mulut.

DAFTAR PUSTAKA

1. Putu A. Darmada. 2018. Isolasi dan Uji Sensitivitas Jamur *Candida albicans* dan *Candida non-albicans* terhadap Flukonazol. Politeknik Kesehata. Denpasar
2. Aris A. Kurniawan. 2018. Kandidiasis Akut Eritematous Pada Penderita Diabetes Mellitus. Fakultas Kedokteran Universitas Jendral Soedirman. Purwokerto
3. Aprilliana Puspita.,Dkk. Profil Pasien Baru Kandidiasis. Vol.31/No.1/April 2019. Fakultas Kedokteran Airlangga. Surabaya
4. Niluh. P.R. Wulansari. 2018. Isolasi dan Identifikasi Jamur *Candida albicans* pada Urine Ibu Hamil di RSUD Mangusada Bandung. Politeknik Kesehatan Denpasar
5. Sarwendah, P. 2017. Perbandingan Efektifitas Antifungi Ekstrak Etanol Bawang Putih (*Allium Sativum*) Dan Nistatin Dengan Metode Difusi Cakram Terhadap *Candida Albicans*
6. Rachmawaty., dkk. 2017. Analisis Fitokimia Ekstrak Kulit Buah Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Sebagai Kandidat Antimikroba. Fakultas MIPA Universitas Negeri Makassar
7. Novia. R. Hikmah. 2020. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Salam (*Syzygium polyanthum*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida Albicans*. STIKES Insan Cendekia Medika, Jombang
8. Naila. S. Mahsunah. 2020. Perbandingan Uji Daya Hambat Antifungi Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dan Daun Salam (*Syzygium polyanthum Wight*) serta Kombinasinya Terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans ATCC 90028*. STIKES Muhammadiyah Pekanbaru, Pekanbaru
9. Oom, Komala., dkk. Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol 50% Dan Etanol 96% Daun Pacar Kuku (*Lawsonia Inermis L.*) Terhadap *Trichophyton Mentagrophytes*. Vol.19.

- No.1/April 2019, Hal.12-19. Jurnal Ilmiah Ilmu Dasar Dan Lingkungan Hidup. FMIPA Universitas Pakuan, Bogor.
10. Zainul Arifin., dkk. Aktivitas Antijamur Ekstrak Etil Asetat Daun Manga Bacang (*Mangifera Foetida* L.) Terhadap *Candida Albicans* Secara In Vitro. Jurnal Cerebellum. Vol.4/No.3/Agustus 2018. Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura, Pontianak
11. Balafifi, F. Febriane., dkk. Aktivitas Antijamur Fraksi Air Sarang Semut (*Myrmecodia Pendens*) Pada *Candida Albicans* ATCC 10231. MKB, Vol.49/No.1/Maret 2017. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran.