

KADAR HAMBAT MINIMUM DAN KADAR BUNUH MINIMUM EKSTRAK ETANOL DAUN OREGANO TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans*

Bernadete Marcelianta Cantika Br. Tarigan*, Shelly Lelyana**, Vinna Kurniawati Sugiaman***

*Program Studi Pendidikan Kedokteran Gigi Universitas Kristen Maranatha, Bandung

**Bagian Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

***Bagian *Oral Biology*, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Kristen Maranatha, Bandung

Korespondensi: Bernadete Marcelianta Cantika Br. Tarigan, cantikamarcelianta03@gmail.com

ABSTRAK

Latar belakang: *Candida albicans* merupakan salah satu flora normal oral yang dapat menyebabkan infeksi pada rongga mulut manusia yang disebut sebagai kandidiasis. Manajemen primer yang sering digunakan dalam mengatasi kandidiasis pada rongga mulut salah satunya adalah *nystatin*, namun pemberian *nystatin* hanya terbatas pada pengobatan topikal infeksi kandidiasis kulit dan mukosa karena memiliki spektrum yang sempit dan penyerapan yang buruk pada saluran pencernaan serta memiliki efek samping pada dosis yang tinggi seperti mual ringan, diare, dan muntah. Masyarakat sering menggunakan daun oregano (*Origanum vulgare L.*) sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti gangguan bronkial, gangguan pencernaan, gatal pada kulit dan flu. Sejumlah penelitian (secara *in vitro* dan *in vivo*) juga menunjukkan bahwa daun oregano (*Origanum vulgare L.*) mengandung beragam senyawa fitokimia seperti fenolik glikosida, flavonoid, tanin, sterol dan terpenoid dalam jumlah tinggi. **Tujuan:** mengetahui kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) ekstrak etanol daun oregano (*Origanum vulgare L.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. **Metode:** penelitian ini bersifat eksperimental murni laboratorium secara *in vitro* dengan cara membandingkan kelompok sampel yang mengandung ekstrak etanol daun oregano dengan konsentrasi 50 mg/ml; 25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 6,25 mg/ml; 3,125 mg/ml; 1,562 mg/ml; 0,781 mg/ml; serta kontrol negatif berupa DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% dan kontrol positif berupa *nystatin*. Metode yang digunakan yaitu metode *broth microdilution* pada 96 well plate yang diamati dengan spektrofotometri dan uji kadar bunuh minimum (KBM) dengan metode *spread* pada agar yang dihitung menggunakan *colony counter*. **Hasil:** ekstrak etanol daun oregano (*Origanum vulgare L.*) memiliki kadar hambat minimum (KHM) pada konsentrasi 0,781 mg/ml dan kadar bunuh minimum (KBM) pada konsentrasi 50 mg/ml. **Kesimpulan:** ekstrak etanol daun oregano (*Origanum vulgare L.*) memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Kata kunci: kadar Hambat Minimum (KHM), Kadar Bunuh Minimum (KBM), Ekstrak etanol daun oregano (*Origanum vulgare L.*), *Candida albicans*

ABSTRACT

Background: *Candida albicans* is one of the normal oral flora that can cause infection in the human oral cavity which is known as candidiasis. The primary management that is often used to treat oral candidiasis is *nystatin*, however *nystatin* is only limited to topical treatment of skin and mucosal candidiasis infections because it has a narrow spectrum and poor absorption in the digestive tract and has side effects when consumed such as mild nausea, diarrhea, and vomiting. Oregano leaf (*Origanum vulgare L.*) are often used as a traditional medicine that can treat various diseases such as bronchial disorders, indigestion, skin itching, and flu. Some studies (*in vitro* and *in vivo*) have also shown that oregano leaf (*Origanum vulgare L.*) contain various phytochemical compounds such as phenolic glycosides, flavonoids, tannins, sterols, and high amounts of terpenoids. **Purpose:** the aim of this study was to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum fungicidal concentration (MFC) of the ethanol extract of oregano leaf (*Origanum vulgare L.*) against the growth of *Candida albicans* *in vitro*. **Methods:** this research is a laboratory experimental *in vitro* by comparing groups of samples containing oregano leaf ethanol extract with concentrations of 50 mg/ml; 25 mg/ml; 12.5 mg/ml; 6.25 mg/ml; 3.125 mg/ml; 1.562 mg/ml; 0.781 mg/ml; and DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% (negative control) and *nystatin* (positive control). The method used is the *broth microdilution* method on 96 well plates which were observed by spectrophotometry and the minimum fungicidal concentration (MFC) test with the *spread* method on agar which was calculated using a colony counter. **Results:** the ethanol extract of oregano leaf (*Origanum vulgare L.*) had a minimum inhibitory concentration (MIC) at 0.78 mg/

ml and a minimum fungicidal concentration (MFC) at 50 mg/ml. **Conclusion:** the ethanol extract of oregano leaf (*Origanum vulgare* L.) has antifungal activity against the growth of *Candida albicans*.

Keywords: Minimum Inhibitory Concentration (MIC), Minimum Fungicidal Concentration (MFC), Ethanol extract of oregano leaf (*Origanum vulgare* L.), *Candida albicans*

PENDAHULUAN

Candida albicans adalah jamur dimorfik patogen pada manusia dan dapat menyebabkan penyakit mulai dari mukosa superfisial hingga infeksi sistemik yang mengancam jiwa.^{1,2} *Candida albicans* merupakan uniseluler yeast dari famili *Saccharomycetaceae* yang memiliki diameter 1,5-5 µm hingga 7-17 µm.³ *Candida albicans* merupakan komponen flora oral normal yang dapat berubah menjadi patogen jika terjadi perubahan lingkungan oral. Perubahan tersebut menyebabkan terjadinya infeksi rongga mulut yang disebut sebagai kandidiasis.⁴

Kandidiasis adalah infeksi oportunistik dengan prevalensi terbanyak yang menyerang mukosa.⁵ Hasil penelitian Nur'aeny dkk. (2017) pada periode tahun 2010 sampai tahun 2014, didapatkan sebanyak 49 pasien yang berkunjung ke klinik ilmu penyakit mulut RSHS Bandung menunjukkan bahwa mereka mengalami kandidiasis oral. Prevalensi dari 49 orang yang menderita kandidiasis oral terbanyak pada pasien pria sebanyak 34 orang (69,3%) dan wanita 15 orang (30,7%) dengan faktor predisposisi terbanyak menunjukkan adanya keterlibatan penyakit sistemik sebesar 40,2%.⁶ Kandidiasis paling sering disebabkan oleh *Candida albicans* dan dapat juga disebabkan oleh spesies *Candida* lainnya seperti *Candida parapsilosis*, *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida pseudotropicalis*, dan *Candida guilliermondii*.³

Sejak tahun 1868 kandidiasis memiliki konsep bahwa kandidiasis adalah "penyakit orang yang sakit" atau yang biasa disebut sebagai faktor predisposisi infeksi.⁴ Faktor predisposisi kandidiasis dibagi menjadi dua faktor yaitu faktor lokal dan faktor sistemik. Faktor predisposisi lokal kandidiasis antara lain meliputi *oral hygiene* yang buruk, pemakaian gigi tiruan dan *appliance* intraoral lainnya, kuantitas dan kualitas saliva yang buruk, dan adanya lesi pada rongga mulut. Faktor predisposisi sistemik kandidiasis antara lain meliputi agen terapeutik (antibiotik spektrum luas, kortikosteroid, kemoterapi dan radioterapi), penyakit degeneratif sistemik (diabetes mellitus, HIV/AIDS), defisiensi nutrisi, defisiensi vitamin (B₂, B₃, B₆, B₁₂, C, dan asam folat), defisiensi mineral (Ca, Fe, Zn) dan juga usia (neonatus, bayi, lansia).^{7,8}

Kandidiasis yang paling umum ditemui yaitu kandidiasis pseudomembran yang memiliki gambaran klinis bercak putih hingga kuning atau plak yang memiliki bentuk seperti "tumpukan keju". Lesi tersebut

dapat dijumpai diberbagai daerah rongga mulut, tetapi paling sering dijumpai di lidah, mukosa bukal dan palatal.⁷ Prevalensi orang yang menderita kandidiasis di Asia mencapai sekitar 56-81%.⁸

Manajemen primer yang sering digunakan untuk mengatasi kandidiasis adalah dengan agen topikal golongan poliena seperti *nystatin* dan amfoterisin B.⁵ Pemberian nistatin terbatas hanya pada pengobatan topikal infeksi kandidiasis kulit dan mukosa karena spektrumnya yang sempit dan penyerapan yang buruk pada saluran pencernaan serta pada dosis yang tinggi memiliki efek samping seperti mual ringan, diare, dan sesekali muntah.⁹ Mekanisme kerja dari nistatin adalah merusak sel-sel jamur, dengan cara berikatan dengan sterol membran sel jamur yang akan menyebabkan ketidakseimbangan permeabilitas membran dan transpor mekanismenya. Maka sel jamur tersebut akan kehilangan banyak makromolekul dan kation, sehingga jumlah sterol pada membran sel jamur akan mengalami penurunan ataupun sifat struktur atau ikatannya berubah, sehingga resistensi dapat terjadi bersamaan dengan terganggunya fungsi.¹⁰ *Nystatin* tersedia dalam berbagai sediaan seperti suspensi, krim, dan salep. Sediaan suspensi merupakan sediaan yang paling sering dipergunakan untuk mengobati infeksi kandidiasis.¹¹ Banyak kendala yang kemudian muncul akibat dari penggunaan berbagai jenis obat antijamur tersebut, seperti daya beli masyarakat masih rendah dikarenakan harganya yang relatif mahal dan beberapa spesies jamur sudah banyak yang menunjukkan resisten terhadap berbagai jenis obat antijamur sehingga menimbulkan efek samping yang beragam bagi tubuh manusia dan toksisitas.¹² Akibatnya masyarakat beralih untuk memilih alternatif pengobatan menggunakan tanaman herbal, dikarenakan harga yang lebih terjangkau dan efek samping yang minimal. Salah satu tanaman herbal yang berpotensi sebagai agen antijamur yaitu daun oregano (*Origanum vulgare* L.).

Daun oregano merupakan spesies tumbuhan dari famili Lamiaceae berasal dari wilayah Mediterania dan Eurasia barat, memiliki tinggi 30-50 cm.¹³ Banyak petani yang membudidayakan tanaman ini di Indonesia karena manfaatnya yang sangat beragam.¹⁴ Menurut Shafaghat dkk. (2012) bagian daun dari tanaman oregano memiliki zona hambat yang lebih besar dibandingkan pada bagian batangnya.¹⁵

Umumnya daun oregano digunakan sebagai penyedap rasa, selain itu masyarakat juga sering meng-

gunakan daun ini sebagai obat tradisional yang dapat mengobati berbagai macam penyakit seperti gangguan bronkial, gangguan pencernaan, gatal pada kulit dan flu.^{16,17} Sejumlah penelitian (secara *in vitro* dan *in vivo*) menunjukkan bahwa daun oregano mengandung beragam senyawa fitokimia seperti fenolik glikosida, flavonoid, tanin, sterol dan terpenoid dalam jumlah tinggi. Kandungan senyawa fitokimia pada daun oregano dapat bervariasi karena adanya beberapa faktor pembeda seperti kemotipe yang berbeda pada spesies yang sama, asal geografis, dan waktu panen.¹⁷

Penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Manohar dkk. (2001) menunjukkan bahwa *essential oil* atau minyak atsiri dari daun oregano memiliki sifat fungistatik dan fungisidal terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, didapatkan nilai kadar hambat minimum (KHM) 0,125 mg/ml dan nilai kadar bunuh minimum (KBM) 0,25 mg/ml menggunakan metode mikrodilusi.¹⁸ Hasil penelitian Iuliana dkk. (2011) menyatakan bahwa ekstrak daun oregano memiliki aktivitas antioksidan tertinggi dan kaya akan senyawa flavonoid.¹⁹

Dilihat dari kandungan kimianya secara kuantitatif, ekstrak etanol dari daun oregano (*Origanum vulgare* L.) mengandung 4 asam fenolat (*gentisic*, *chlorogenic*, *p-coumaric* dan asam *rosmarinic*) dan 6 flavonoid (*hyperoside*, *isoquercitrin*, *rutin*, *quercitrin*, *quercetin* dan *luteolin*).²⁰ Salah satu kandungan ekstrak daun oregano (*Origanum vulgare* L.) yang paling berpotensi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* salah satunya yaitu senyawa flavonoid. Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder yang ditemukan pada tanaman dan memiliki berbagai efek bioaktif salah satunya sebagai antijamur.²¹

Berdasarkan hal tersebut, ekstrak etanol daun oregano diduga dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Terhambatnya jamur diduga karena terdapat kandungan senyawa bioaktif yang ada pada ekstrak etanol daun oregano yang memiliki sifat antijamur.

METODE PENELITIAN

Sampel dari penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231 biakan yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi dan Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjajaran Bandung. Penelitian ini adalah eksperimental murni laboratorik secara *in vitro* dengan metode *broth microdilution* untuk menentukan KHM (kadar hambat minimum) dan KBM (kadar bunuh minimum) ekstrak etanol daun oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Daun oregano yang digunakan pada penelitian ini dikirimkan ke Laboratorium Sentral Universitas Padjajaran untuk dilakukan ekstraksi dengan pelarut etanol 96% menggunakan metode maserasi. Setelah daun oregano selesai diekstrak, dilanjutkan dengan pengujian fitokimia ekstrak secara kualitatif.

Penelitian uji KHM dan KBM ekstrak etanol daun oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dilakukan di Laboratorium Biomolekuler dan Biomedis Aretha Medika Utama Bandung pada bulan Februari 2021, dengan prosedur kerja menggunakan metode CLSI (*Clinical Laboratory Standard Institute*) tahun 2008 dengan modifikasi. Penelitian ini bersifat eksperimental murni laboratorium secara *in vitro* dengan cara membandingkan kelompok sampel yang mengandung ekstrak etanol daun oregano dengan konsentrasi 50 mg/ml; 25 mg/ml; 12,5 mg/ml; 6,25 mg/ml; 3,125 mg/ml; 1,562 mg/ml; 0,781 mg/ml; serta kontrol negatif berupa DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% dan kontrol positif berupa *nystatin*.

Penelitian ini menggunakan metode *broth microdilution* untuk menentukan KHM dengan melihat tingkat kekeruhan larutan dalam tabung yang diukur menggunakan spektrofotometri. Selanjutnya menentukan KBM dengan menginokulasikan biakan ke dalam cawan petri lalu menghitung jumlah koloni menggunakan *colony counter*. Dalam penelitian ini, untuk mendapatkan KHM metode yang digunakan yaitu metode *broth microdilution*. Hasil pengukuran kuantitatif KHM ini didapatkan dari uji spektrofotometri dengan panjang gelombang 405 nm. Untuk mendapatkan KBM metode yang digunakan yaitu metode *spread* pada cawan petri dilanjutkan dengan penghitungan jumlah koloni menggunakan *colony counter* dengan teknik *total plate count* (TPC).

Langkah kerja yang akan dilakukan meliputi tahapan-tahapan berikut ini: Pertama-tama tambahkan 100 µl inokulum pada *well* sejumlah seri konsentrasi ekstrak etanol daun oregano yang digunakan, lalu tambahkan 100 µl dari *working solution* setiap konsentrasi ekstrak pada *well* yang telah berisi inokulum sehingga konsentrasi enzim mencapai konsentrasi akhir (*final concentration*), kemudian sebanyak 200 µl inokulum ditambahkan pada *well* sebagai kontrol tumbuh dan kontrol negatif aktivitas penghambatan kemudian sebanyak 100 µl PDB dan 100 µl dari *working solution* setiap konsentrasi ekstrak etanol daun oregano ditambahkan pada *well* sebagai *blank*, selama 24 jam dengan suhu 28°C *plate* diinkubasi pada inkubator. Setelah itu dilakukan pengukuran menggunakan spektrofotometri pada panjang gelombang 405 nm. Nilai KHM ditentukan pada konsentrasi paling rendah yang dapat menurunkan viabilitas dari 100% dan konsentrasi paling rendah yang menunjukkan aktivitas inhibisi *Candida albicans*. Selanjutnya untuk menentukan KBM, sebanyak 20 µl dari setiap *well* ditumbuhkan pada media PDA dengan menggunakan metode *spread* kemudian setiap *plate* diinkubasi pada suhu 28°C selama 24 jam. Nilai KBM (Kadar Bunuh Minimum) ditentukan pada konsentrasi ekstrak yang dapat menurunkan viabilitas sampai dibawah 1% dan konsentrasi ekstrak yang menunjukkan aktivitas inhibisi *Candida albicans* sampai 99% dengan melakukan metode *Total Plate Count* (TPC).

HASIL PENELITIAN

Berdasarkan hasil uji fitokimia kualitatif, senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak etanol daun oregano terlihat pada tabel 1 dibawah ini.

Hasil pengukuran yang disajikan pada tabel 2, menunjukkan bahwa kontrol DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% memiliki nilai rata-rata absorbansi koreksi tertinggi dengan nilai absorbansi 0,2267 dan terendah pada kontrol *nystatin* dengan rata-rata nilai

absorbansi 0,0218. Pada hasil pengukuran berbagai perlakuan ekstrak, menunjukkan bahwa nilai rata-rata absorbansi koreksi tertinggi terdapat pada konsentrasi ekstrak etanol daun oregano 0,781 mg/ml dengan nilai absorbansi 0,1087, sedangkan nilai rata-rata absorbansi koreksi terendah terdapat pada konsentrasi ekstrak etanol daun oregano 50 mg/ml dengan nilai absorbansi 0,0228. Hal ini menunjukkan bahwa *Candida albicans* dapat dihambat dengan ekstrak etanol daun oregano.

Tabel 1. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Oregano

No.	Metabolit Sekunder	Metode Uji	Hasil Uji
1.	Fenolik	Pereaksi FeCl ₃ 5%	+
2.	Tanin	Pereaksi FeCl ₃ 1%	+
3.	Flavonoid	Pereaksi HCl pekat + Mg	+
		Pereaksi H ₂ SO ₄ 2N	-
		Pereaksi NaOH 10%	+
4.	Saponin	Dipanaskan	+
5.	Triterpenoid dan Steroid	Pereaksi H ₂ SO ₄ pekat + CH ₃ COOH anhidrat	+
			+
6.	Alkaloid	Pereaksi Dragendorff	-

Tabel 2. Hasil Pengukuran *Optical Density* (OD) Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Oregano terhadap *Candida albicans*

Sampel	Konsentrasi	Absorbansi			Blank	Absorbansi Koreksi			Rata-rata
		1	2	3		1	2	3	
Ekstrak etanol daun oregano	50 mg/mL	3,2600	3,2597	3,2597	3,2370	0,0230	0,0227	0,0227	0,0228
	25 mg/mL	3,0214	3,0201	3,0200	2,9938	0,0276	0,0263	0,0262	0,0267
	12.5 mg/mL	3,0098	3,0070	3,0080	2,9790	0,0308	0,0280	0,0290	0,0293
	6.25 mg/mL	1,8410	1,8292	1,8306	1,7640	0,0770	0,0652	0,0666	0,0696
	3.125 mg/mL	0,8420	0,8440	0,8380	0,7450	0,0970	0,0990	0,0930	0,0963
	1.562 mg/mL	0,5660	0,5840	0,5760	0,4780	0,0880	0,1060	0,0980	0,0973
	0.781 mg/mL	0,4350	0,4240	0,4390	0,3240	0,1110	0,1000	0,1150	0,1087
Kontrol DMSO 10%		0,4120	0,4140	0,4060	0,1840	0,2280	0,2300	0,2220	0,2267
Nystatin	5 mg/ml	1,6581	1,6584	1,6587	1,6366	0,0215	0,0218	0,0221	0,0218

Tabel 3. Jumlah Koloni *Candida albicans* Setelah Diinkubasi 24 Jam pada Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Daun Oregano

Sampel	Konsentrasi	Jumlah Koloni (CFU/mL)			Rata-rata	STD	RSD (%)
		1	2	3			
Ekstrak etanol daun oregano	50 mg/mL	0	0	0	0	0	#DIV/0!
	25 mg/mL	13.643	11.043	10.843	11.843	1562	13,19
	12.5 mg/mL	20.043	14.443	16.443	16.976	2838	16,72
	6.25 mg/mL	112.443	88.843	91.643	97.643	12893	13,2
	3.125 mg/mL	152.443	156.443	144.443	151.110	6110	4,04
	1.562 mg/mL	134.443	170.443	154.443	153.110	18037	11,78
	0.781 mg/mL	180.443	158.443	188.443	175.776	15535	8,84
Kontrol DMSO 10%		414.443	418.443	402.443	411.776	8327	2,02
Nystatin	5 mg/ml	0	0	0	0	0	#DIV/0!

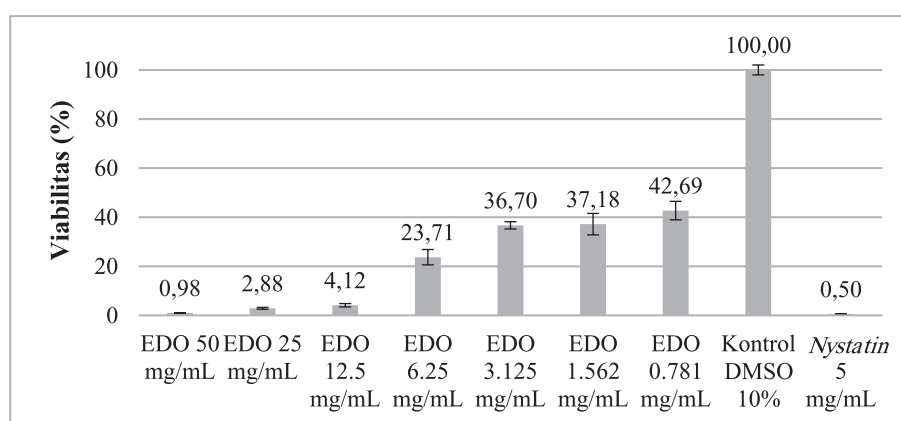
Hasil pengukuran KBM ekstrak etanol daun oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yang disajikan pada tabel 3 menunjukkan bahwa kontrol DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% memiliki jumlah koloni *Candida albicans* tertinggi dengan rata-rata jumlah koloni 411.776 CFU/mL dan jumlah koloni terendah terdapat pada kontrol *nystatin* dengan rata-rata jumlah koloni 0 CFU/mL. Pada hasil pengukuran berbagai perlakuan ekstrak etanol daun oregano, menunjukkan bahwa jumlah pertumbuhan koloni *Candida albicans* tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,781 mg/ml dengan rata-rata jumlah koloni 175.776 CFU/mL dan jumlah pertumbuhan koloni *Candida albicans* terendah terdapat pada konsentrasi 50 mg/ml dengan rata-rata jumlah koloni 0 CFU/mL. Hasil ini menunjukkan sejalanannya pengamatan KHM meng-

gunakan spektrofotometri bahwa terjadi penghambatan *Candida albicans* oleh ekstrak etanol daun oregano.

Setelah dilakukannya uji KHM dan KBM ekstrak etanol daun oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans* maka didapatkanlah data hasil perhitungan persentase viabilitas dan inhibisi. Persentase viabilitas merupakan persentase jumlah *Candida albicans* yang masih tumbuh setelah diberi perlakuan dibandingkan dengan kontrol DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10%. Nilai persentase viabilitas didapatkan dari perhitungan: $\frac{\text{jumlah koloni (CFU/ mL)}}{\text{kontrol DMSO 10\%}} \times 100\%$. Sedangkan persentase inhibisi merupakan persentase jumlah *Candida albicans* yang dihambat setelah diberi perlakuan. Nilai persentase inhibisi didapatkan dari perhitungan: $100\% - \text{nilai viabilitas}$ dan terlihat pada tabel 4.

Tabel 4. Viabilitas dan Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Oregano terhadap *Candida albicans*

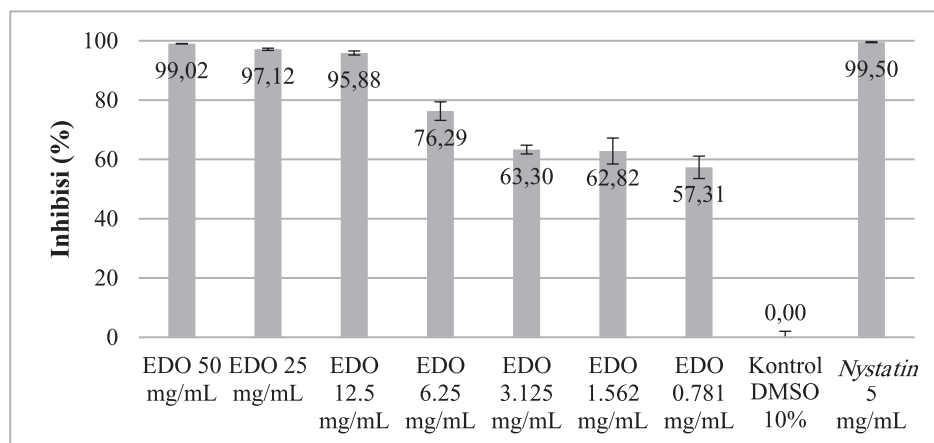
Sampel	Viabilitas (%)	Inhibisi (%)
Ekstrak Etanol Daun Oregano		
50 mg/mL	0.98 ± 0.08	99.02 ± 0.08
25 mg/mL	2.88 ± 0.38	97.12 ± 0.38
12.5 mg/mL	4.12 ± 0.69	95.88 ± 0.69
6.25 mg/mL	23.71 ± 3.13	76.29 ± 3.13
3.125 mg/mL	36.70 ± 1.48	63.30 ± 1.48
1.562 mg/mL	37.18 ± 4.38	62.82 ± 4.38
0.781 mg/mL	42.69 ± 3.77	57.31 ± 3.77
Kontrol DMSO 10%	100.00 ± 2.02	0.00 ± 2.02
<i>Nystatin</i> 5 mg/mL	0.50 ± 0.15	99.50 ± 0.15



Gambar 1. Persentase Viabilitas Ekstrak Etanol Daun Oregano terhadap *Candida albicans*

Dilihat dari grafik pada gambar 1 persentase nilai viabilitas tertinggi terdapat pada kontrol DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% sebesar 100% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun oregano nilai viabilitas tertinggi terdapat pada konsentrasi 0,781 mg/ml dengan persentase

sebesar 42,69%. Persentase nilai viabilitas terendah terdapat pada kontrol *nystatin* sebesar 0,50%, dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun oregano nilai viabilitas terendah terdapat pada konsentrasi 50 mg/ml dengan persentase sebesar 0,98%.



Gambar 2. Persentase Inhibisi Ekstrak Etanol Daun Oregano terhadap *Candida albicans*

Mengacu pada grafik dari gambar 2 persentase nilai inhibisi tertinggi terdapat pada kontrol *nystatin* sebesar 99,50% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun oregano nilai inhibisi tertinggi terdapat pada konsentrasi 50 mg/ml dengan persentase sebesar 99,02%. Persentase nilai inhibisi terendah terdapat pada kontrol DMSO (*Dimethyl Sulfoxide*) 10% sebesar 0% dan pada berbagai perlakuan konsentrasi ekstrak etanol daun oregano nilai inhibisi terendah terdapat pada konsentrasi 0,781 mg/ml dengan persentase sebesar 57,31%.

Kedua data tersebut (nilai viabilitas dan nilai inhibisi) merupakan dasar dalam menentukan nilai KHM maupun KBM berdasarkan data hasil penelitian secara keseluruhan. KHM merupakan konsentrasi paling rendah yang dapat menurunkan viabilitas dari 100% dan konsentrasi paling rendah yang menunjukkan aktivitas inhibisi jamur, tabel 4 menunjukkan bahwa KHM pada penelitian ini berada pada konsentrasi 0,781 mg/ml. KBM merupakan konsentrasi yang dapat menurunkan viabilitas sampai di bawah 1% dan konsentrasi yang menunjukkan aktivitas inhibisi sampai 99%, berdasarkan tabel 4 dapat disimpulkan bahwa KBM pada penelitian ini berada pada konsentrasi 50 mg/ml. Pada penelitian ini menunjukkan bahwa nilai viabilitas jamur *Candida albicans* berbanding terbalik dengan nilai inhibisi (semakin tinggi jumlah *Candida albicans* yang dihambat, maka jumlah *Candida albicans* yang masih tumbuh semakin rendah).

PEMBAHASAN

Aktivitas antijamur yang dihasilkan oleh ekstrak etanol daun oregano diperkirakan berasal dari gabungan metabolit sekunder dalam ekstrak tersebut. Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan pada penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun oregano mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder seperti fenolik, tanin, flavonoid, saponin, triterpenoid, dan steroid dalam jumlah yang

sedikit. Hal tersebut sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Bharti dkk. (2013). Senyawa metabolit sekunder pada tanaman yang sama juga dapat menunjukkan kandungan senyawa yang berbeda, hal ini dipengaruhi oleh beberapa faktor lingkungan seperti cahaya, suhu, pH dan ketinggian tempat.

Ekstrak etanol daun oregano terkandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki berbagai mekanisme kerja sebagai antijamur. Mekanisme kerja dari senyawa fenolik dengan cara mendenaturasi protein sehingga struktur tersier protein akan rusak dan kehilangan sifat-sifat aslinya. Dinding sel dapat mudah ditembus oleh senyawa aktif yang bersifat fungistatik dikarenakan adanya kerapuhan dinding sel yang disebabkan oleh terdenaturasinya protein dinding sel *Candida albicans*. Jika yang terdenaturasi adalah protein enzim, maka proses penyerapan nutrisi dan metabolisme akan terganggu sehingga menyebabkan kerusakan pada enzim dan enzim tidak dapat bekerja. Pada kadar yang rendah senyawa fenolik akan mendenaturasi protein dan pada kadar yang tinggi senyawa fenolik menyebabkan koagulasi protein sehingga sel akan mati.^{22,23}

Mekanisme kerja tanin dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* yaitu ergosterol yang merupakan sterol penyusun utama membran sel jamur dihambat biosintesisnya, sehingga akan menyebabkan permeabilitas membran sel terganggu. Permeabilitas membran sel yang terganggu tersebut akan menurunkan volume sel, sel-sel menjadi berlubang dan menyusut diikuti dengan fungsi metabolisme yang hilang dan pada akhirnya akan hancur. Selain itu, tanin juga dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan kemampuannya dalam menghambat sintesis kitin yang dipergunakan dalam pembentukan dinding sel jamur dan kemampuannya dalam merusak membran sel.^{9,24,25}

Flavonoid juga merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas sebagai antijamur. Mekanisme kerja dari flavonoid yaitu dengan cara protein ekstraseluler dinding sel jamur didenaturasi sehingga dinding sel jamur akan rusak dan kerja

enzim menjadi terhambat. Protein yang terdenaturasi menyebabkan terganggunya proses pembentukan sel sehingga akan terjadi perubahan komposisi protein dan menyebabkan peningkatan permeabilitas membran sel. Peningkatan tersebut menyebabkan terjadinya *leakage* bahan intrasel, defisiensi ATP pada sel, terganggunya metabolisme, terhambatnya pertumbuhan, dan sel menjadi lisis. Rusaknya sel juga dapat menyebabkan pemisahan dari dinding sel jamur dan akan terjadi penurunan pada pembentukan *germ tube* dan panjang hifa, yang kemudian menyebabkan jamur tidak berkembang.¹⁰ Perubahan komponen organik dan transpor nutrisi yang disebabkan oleh gugus hidroksil dalam flavonoid dapat menimbulkan efek toksik terhadap jamur.¹²

Saponin memiliki efek sebagai antibakteri dan antijamur. Gugus monosakarida dan turunan saponin dapat mengganggu efek pada jamur.²⁶ Saponin merupakan senyawa metabolit sekunder dengan tingkat toksisitas yang tinggi terhadap jamur. Mekanisme kerja saponin dalam menghambat *Candida albicans* yaitu dengan cara berinteraksi dengan sterol membran. Selain itu, saponin berperan sebagai antijamur dengan menurunkan tegangan permukaan membran sterol dinding sel jamur sehingga akan terjadi peningkatan permeabilitas. Peningkatan permeabilitas tersebut akan mengakibatkan tertarik keluarnya cairan intraseluler yang lebih pekat dari sel, sehingga menyebabkan enzim, protein, nutrisi, zat-zat metabolisme dalam sel keluar dan jamur akan mengalami kematian.²⁷

Terpenoid (termasuk triterpenoid dan steroid) dapat menghambat pertumbuhan jamur melalui membran sitoplasma ataupun dengan mengganggu perkembangan dan pertumbuhan spora jamur. Menurut Natta dkk. (2008), dikatakan bahwa belum diketahui dengan jelas mekanisme senyawa terpenoid dalam menghambat jamur, tetapi dengan adanya sifat lipofilik atau hidrofobik yang terdapat pada senyawa terpenoid memungkinkan untuk terjadinya koagulasi sel, gangguan proton, kerusakan sitoplasmik membran pada sel jamur.^{20,28}

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada uji KHM ekstrak etanol daun oregano dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* berada pada konsentrasi 0,781 mg/ml dengan persentase inhibisi sebesar 57,31% dan persentase viabilitas sebesar 42,69%. Sedangkan KBM berada pada konsentrasi 50 mg/ml, dengan persentase inhibisi sebesar 99,02%, dan persentase viabilitas sebesar 0,98%. Dilihat dari tingkat penghambatan yang ditunjukkan pada ekstrak etanol daun oregano dapat dikatakan bahwa tingkat penghambatan berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan maka semakin tinggi daya hambat yang dihasilkan. Hal ini disebabkan karena sejumlah senyawa aktif yang terkandung pada ekstrak tersebut memiliki peran sebagai antijamur. Menurut Pelczar

(1988) mengatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba, semakin tinggi pula daya antimikroba yang artinya semakin banyak mikroba yang akan terbunuh jika konsentrasi zat tersebut lebih tinggi, sehingga efek antijamur yang dihasilkan semakin efektif.²¹ Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun oregano memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, yaitu dapat menghambat (fungistatik) dan membunuh (fungisid) pertumbuhan jamur. Berdasarkan pembahasan tersebut dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun oregano berpotensi untuk dijadikan sebagai bahan acuan inovasi baru dalam mengembangkan pemanfaatan tanaman herbal oregano sebagai obat antijamur alternatif.

KESIMPULAN DAN SARAN

Berdasarkan hasil penelitian ini, diketahui bahwa nilai KHM dari ekstrak etanol daun oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah sebesar 0,781 mg/ml, yang merupakan konsentrasi terendah yang digunakan dalam penelitian ini. Sedangkan nilai KBM dari ekstrak etanol daun oregano terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah sebesar 50 mg/ml, yang merupakan konsentrasi tertinggi yang digunakan dalam penelitian ini. Tingkat penghambatan yang ditunjukkan ekstrak etanol daun oregano (*Origanum vulgare* L.) berbanding lurus dengan tingkat konsentrasinya, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula daya hambat yang dihasilkan.

Saran yang dapat diberikan untuk penelitian selanjutnya yaitu perlu dilakukannya uji fitokimia secara kuantitatif terhadap ekstrak etanol daun oregano. Karena penelitian ini hanya dilakukan secara *in vitro* maka untuk mengetahui efeknya pada sistem biologi makhluk hidup diperlukan penelitian lanjutan, seperti uji praklinik yang terdiri dari uji toksisitas dan uji farmakodinamik pada hewan coba secara *in vivo* efek toksik.

DAFTAR PUSTAKA

1. Kashem SW, Igyártó BZ, Gerami-Nejad M, Kumamoto Y, Mohammed J, Jarrett E, et al. *Candida Albicans Morphology and Dendritic Cell Subsets Determine T-Helper Cell Differentiation*. Immunity. 2015;42(2):356–66.
2. Tsui C, Kong EF, Jabra-Rizk MA. Pathogenesis of *Candida Albicans* Biofilm. Pathog Dis. 2016;74(4):1–13.
3. Regezi J, Sciubba J, Jordan R. Oral Pathology: Clinical Pathologic Correlations. 7th ed. Oral Pathology: Clinical Pathologic Correlations. California: Elsevier; 2017. 104–107 p.
4. Odell E. Cawson's Essentials of Oral pathology and Oral Medicine. 9th ed. London: Elsevier; 2017. 244 p.
5. Glick M. Burket's Oral Medicine. 12th ed. Shelton: People's Medical Publishing House; 2015. 93–100 p.
6. Nur'aeny N, Hidayat W, Setiani TS, Herawati E, Wahyuni IS. Profil Oral Candidiasis di Bagian Ilmu

- Penyakit Mulut RSHS Bandung Periode 2010-2014. Maj Kedokt Gigi Indones. 2017;3(1):23–8.
7. Fazel N. Oral Signs of Systemic Diseases. In: Fazel N, editor. Dental Abstracts. 1st ed. Switzerland: Springer; 2019. p. 194.
 8. Hupp JR, Williams TP, Firriolo FJ. Dental Clinical Advisor. 1st ed. Louisville: Mosby; 2006. 243 p.
 9. Katzung BG. Basic and Clinical Pharmacology. 14th ed. San Francisco: McGraw-Hill Education; 2018. 1073 p.
 10. Staf Pengajar Departemen Farmakologi UNSRI. Kumpulan Kuliah Farmakologi. 2nd ed. Jakarta: EGC; 2008. 228–229 p.
 11. McCuiston LE, Vuljoin-DiMaggio K, Winton MB, Yeager JJ. Pharmacology: A Patient-Centered Nursing Process Approach. 9th ed. Philadelphia: Elsevier; 2017. 748 p.
 12. Cutler SJ, Cutler HG. Biologically Active Natural Products: Pharmaceuticals. Florida: CRC Press LLC; 1999. 85 p.
 13. Pignatti S, Guarino R, La Rosa M. Flora d'Italia. 2nd ed. Bologna: Edagricole-New Business Media; 2017. 535 p.
 14. Hakim L. Rempah dan Herba Kebun-Pekarangan Rumah Masyarakat. 1st ed. Yogyakarta: Diandra Creative; 2015. 12 p.
 15. Shafaghat A, Rahbar N, Salimi F. Antimicrobial activity and constituents of the hexane extracts from leaf and stem of *Origanum vulgare* L. ssp. *Viride* (Boiss.) Hayek. growing wild in Northwest Iran. J Med Plants Res. 2012;6(13):2681–5.
 16. Fardin, Sarina. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Oregano (*Origanum vulgare*) Terhadap Bioavailabilitas Tablet Diazepam Pada Mencit. Maj Farm Nas. 2017;14(1):52–8.
 17. Pezzani R, Vitalini S, Iriti M. Bioactivities of *Origanum vulgare* L.:an update. Phytochem Rev. 2017;16(6):1253–1268.
 18. Manohar V, Ingram C, Gray J, Talpur NA, Echard BW, Bagchi D, et al. Antifungal Activities of *Origanum* Oil Against *Candida Albicans*. Mol Cell Biochem. 2001;228(1–2):111–7.
 19. Spiridon I, Colceru S, Anghel N, Teaca CA, Bodirlau R, Armatu A. Antioxidant Capacity and Total Phenolic Contents of Oregano (*Origanum vulgare*), Lavender (*Lavandula angustifolia*) and Lemon Balm (*Melissa officinalis*) from Romania. Nat Prod Res. 2011;25(17):1657–61.
 20. Oniga I, Pus C, Silaghi-Dumitrescu R, Olah NK, Sevastre B, Marica R, et al. *Origanum Vulgare* ssp.: Chemical Composition and Biological Studies. Molecules. 2018;23(8):1–14.
 21. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. J Zarah. 2018;6(1):21–9.
 22. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida Albicans* Pathogenicity Mechanisms. Virulence. 2013;4(2):119–28.
 23. Toenjes KA, Stark BC, Brooks KM, Johnson DI. Inhibitors of Cellular Signalling are Cytotoxic or Block the Budded-to-Hyphal Transition in the Pathogenic Yeast *Candida Albicans*. J Med Microbiol. 2009;58(Part 6):779–90.
 24. Tjampakasari CR. Karakteristik *Candida Albicans*. Cermin Dunia Kedokt. 2006;151(1):33–6.
 25. Pei Pei C, Chin VK, Wong WF, Madhavan P, Yong VC, Looi CY. Transcriptomic and Genomic Approaches for Unravelling *Candida albicans* Biofilm Formation and Drug Resistance-An Update. Genes (Basel). 2018;9(11):1–19.
 26. Bharti V, Vasudeva N. *Origanum vulgare* Linn. Leaf: An Extensive Pharmacognostical and Phytochemical Quality Assessment. Adv Pharm Bull. 2013;3(2):277–81.
 27. Watson DG. Pharmaceutical Analysis. 5th ed. Edinburgh: Elsevier; 2020. 387 p.
 28. Muflikhatur R S, Rahayuningsih HM. Perbedaan Pengaruh Antara Ekstrak dan Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha*) Dalam Pencegahan Peningkatan Kadar Kolesterol Total Pada Tikus Sprague Dawley. J Nutr Coll. 2014;3(1):142–9.