

UJI AKTIFITAS ANTIFUNGI MADU *APIS MELLIFERA* TERHADAP *CANDIDA ALBICANS*

Ananta Sandi Putra¹, Masfufatun^{2*}, Handy Arief³, Inawati⁴

¹Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

²Bagian Biokimia, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

³Bagian Bedah, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

⁴Bagian Patologi Anatomi, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

*Email: masfufatun@uwks.ac.id

Abstrak

Candida albicans merupakan jamur patogen pada manusia yang mampu menyebabkan infeksi mukosa superfisial maupun sistemik. Tujuan penelitian ini adalah untuk menguji efektifitas Madu *Mellifera* dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Penelitian ini menggunakan penelitian eksperimental laboratorium dengan rancangan eksperimental murni. Uji antifungi dilakukan menggunakan metode mikrodilusi. Hambatan pertumbuhan *C. albicans* diamati menggunakan mikroplate reader. Nilai Konsentrasi Hambatan Minimum (KHM-50) ditentukan dengan menggunakan analisis probit. Hasil penelitian menunjukkan bahwa makin besar konsentrasi madu *apis mellifera* semakin rendah pertumbuhan *C. albicans*. Berdasarkan analisis probit dihasilkan nilai KHM₅₀ Madu sebesar 28%. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa Madu *Apis Mellifera* efektif menghambat pertumbuhan sel planktonik *C. albicans* sehingga bisa dimanfaatkan sebagai agen alternatif antifungi.

Kata kunci: antifungi, *Candida albicans*, madu *apis mellifera*

PENDAHULUAN

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida sp.* Prevalensi kandidiasis di Indonesia sekitar 20-25%, dapat menyerang rambut, kulit, kuku, selaput lendir, dan organ lain seperti mulut dan kerongkongan, namun informasi tentang faktor dan karakteristik risikonya masih terbatas (Puspitasari et al., 2019). Kandidiasis sebagian besar menyerang individu yang memiliki status kekebalan yang lemah setelah pemberian obat immunosupresan pada pasien yang membutuhkan transplantasi organ atau menderita kanker (Karasuno et al., 2019). Ketika host menjadi immunocompromised, *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi superfisial, serta septikemia.

C. albicans merupakan organisme polimorfik yang mengalami transisi morfologi antara bentuk khamir (blastoconidium), pseudohifa dan hifa, tergantung pada lingkungannya (Iwalokun et al., 2004). Hingga saat ini kandidiasis masih menjadi perhatian utama karena tingkat infeksi yang meningkat mulai dari infeksi topikal yang rendah hingga infeksi sistemik yang serius (Frías-De-León et al., 2019). *C. albicans* adalah patogen paling umum yang terkait dengan infeksi biofilm jamur, terutama infeksi yang terkait dengan perangkat medis yang ditanam. Masalah umum yang terkait dengan biofilm *C. albicans* adalah peningkatan resistensi biofilm terhadap agen antijamur seperti obat azol dan turunannya dan sel inang sehingga sulit dieradikasi. Munculnya *C. albicans* yang resisten berdampak besar terhadap kesehatan masyarakat dan perekonomian. Dengan adanya peningkatan prevalensi *C. albicans* yang resisten terhadap obat, maka perlu dilakukan pengembangan pengobatan alternatif untuk infeksi *Candida* yang aman, efektif dan murah. Hal ini bisa dilakukan dengan menggunakan bahan alam seperti madu.

Madu telah dikenal di seluruh dunia untuk antioksidan, anti-tumor, anti-inflamasi dan antivirus (Küçük et al., 2007). Baik penelitian in vitro dan in vivo telah menunjukkan bahwa madu adalah agen antimikroba aktif, spektrum luas dan efektif terhadap berbagai macam bakteri dan jamur (Al-Waili et al., 2014). Beberapa penelitian telah menyelidiki sifat antimikroba madu terhadap bakteri, namun hanya sedikit yang meneliti sifat antijamurnya (Rodrigues et al., 2017). Madu telah dilaporkan mengandung sekitar 200 senyawa, campuran kompleks gula dengan

sejumlah kecil senyawa lain, seperti mineral, protein, vitamin, senyawa aroma, asam organik, enzim, asam fenolik, flavonoid, pigmen, lilin, serbuk sari, dan fitokimia lainnya.

Madu Apis mellifera lokal yang berasal dari kota Mojokerto provinsi Jawa Timur terbukti memiliki kandungan senyawa flavonoid yang tinggi, yang berfungsi sebagai antimikroba (Rosyidi et al., 2018). Oleh karena itu tujuan penelitian ini untuk menguji efektifitas Madu Mellifera dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium yang menggunakan rancangan eksperimental murni (*True Experimental Design*) dengan metode mikrodilusi untuk melihat efek antijamur madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dengan pendekatan *Post-test Only Control Group Design*.

Pembuatan inokulum dan Suspensi *C. albicans*

Isolat *C. albicans* yang sudah diregenerasi pada media *Sabourand Dextrose Agar* (SDA), diambil sebanyak 1 ose dan diinokulasikan ke dalam Labu Erlenmeyer yang berisi 10 mL media *Sabourand Dextrose Broth* (SDB). Selanjutnya labu erlenmeyer *dishaker* dengan kecepatan 150 rpm selama 18 jam (Lee & Chee, 2010) (lala). Inokulum yang terbentuk disentrifuse dengan kecepatan 4000 rpm selama 15 menit pada suhu ruang. *Pellet* yang dihasilkan dipisahkan dari filtrat dan diresuspensi dengan Buffer PBS. Selanjutnya disentrifus kembali selama 15 menit. Tahapan ini diulang sebanyak dua kali (Clontech Laboratories, 2009). Suspensi *C. albicans* yang diperoleh diukur *Optical Density* (OD) nya menggunakan *ELISA reader*.

Uji Antifungi Madu

Uji antifungi *C. albicans* dilakukan dengan metode mikrodilusi yang menggunakan *microplate Corning 96 well U-Bottom*. Sumuran-sumuran yang ada pada plate akan diisi dengan larutan madu dan kontrol positif dalam media SDB serta suspensi *C. albicans*. Ke dalam masing-masing sumuran mikroplate dimasukkan 150 μ L larutan madu dengan seri konsentrasi 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125 dan 1.56% dalam media SDB. Sebagai kontrol negatif digunakan 150 μ L media SDB, kontrol positif digunakan 150 μ L flukonazol 0,1% dalam media SDB. Selanjutnya ke dalam masing-masing sumuran tersebut ditambahkan 50 μ L suspensi *C. albicans* OD₅₉₅ 0.5 dan inkubasi selama 24 jam. Selanjutnya ke dalam masing-masing sumuran ditambahkan reagen MTS Assay dan diinkubasi selama 1 jam. Densitas sel (OD) dihitung menggunakan *microplate reader* pada panjang gelombang 595 nm sebagai parameter pertumbuhan sel planktonik *C. albicans*

Penentuan nilai Konsentrasi Hambat Minimal (KHM₅₀)

Nilai KHM₅₀ didapatkan dengan menghitung %penghambatan dan dianalisis menggunakan analisis probit dengan program SPSS for Windows versi 26.0 Free Trial.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Untuk menilai efek antifungi dari berbagai konsentrasi madu yang paling aktif terhadap pertumbuhan *C. albicans*, dilakukan uji viabilitas sel menggunakan reagen MTS Assay. Kultur *C. albicans* (10⁷ CFU/ml) diinkubasi dengan konsentrasi serial madu (dari 50 sampai dengan 1.56%) pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, viabilitas sel *C. albicans* diamati dengan mengukur OD menggunakan *ELISA reader* pada panjang gelombang 490 nm. Seperti yang ditunjukkan pada Tabel 2, konsentrasi madu yang paling tinggi memiliki efek antifungi terhadap *C. albicans* paling tinggi dibandingkan dengan kontrol negatif (*C. albicans* tanpa madu) dimana viabilitas sel nya paling rendah. Kontrol positif (flukonazol me) juga menunjukkan penurunan sel yang cukup besar hampir sama dengan viabilitas sel pada konsentrasi madu 12.5%

Tabel 1. Hasil Uji Viabilitas Sel *C. albicans*

Replikasi	Nilai OD sel <i>C. albicans</i> pada berbagai Konsentrasi Madu (%)							
	Madu (%)							
	50	25	12.5	6.25	3.12	1.56	(+)	(-)
1	0.81	1.36	1.69	2.55	2.76	2.95	1.60	3.06
2	0.73	1.35	1.73	1.79	2.73	2.78	1.61	2.96
3	0.85	1.39	1.52	1.94	2.89	2.85	1.93	2.65
4	0.87	1.31	1.94	1.72	2.15	3.16	1.93	2.67
5	0.75	1.41	1.46	1.96	2.81	2.50	1.66	2.91
Rerata	0.80	1.37	1.67	1.99	2.67	2.85	1.75	2.85

Mekanisme efek antifungi madu belum sepenuhnya dipahami, ada beberapa hipotesis yang diusulkan oleh peneliti (Ansari et al., 2013). Salah satu faktor yang paling kuat mempengaruhi aktivitas antifungi madu adalah hidrogen peroksida (H_2O_2), sebagai hasil dari oksidasi glukosa. Methylglyoxal (MGO), defensin-1 lebah dan senyawa lain yang berasal dari lebah (misalnya flavonoid dan senyawa fenolik dan flavonoid yang berasal dari bunga, dan lisozim) juga telah dikaitkan dengan efek antijamur madu (Chen et al., 2012). Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa senyawa fenolik menginduksi penghambatan pertumbuhan pada berbagai bakteri Gram-positif dan Gram-negatif. Efek antimikroba fenolik terkait dengan kemampuannya denaturasi protein. Selain itu, keasaman madu (pH 3.2-4.5) juga dapat menghambat pertumbuhan berbagai mikroorganisme.

Nilai absorbansi/OD pada Tabel 1 digunakan untuk menentukan persen penghambatan yang disajikan pada Tabel 2.

Tabel 2. %Penghambatan Sel planktonik *C.albicans*

Konsentrasi Madu (%)	Rerata %Penghambatan Sel Planktonik
50	71.90
25	52.11
12.5	41.42
6.25	30.11
3.12	6.50
1.56	0.00
Flukonazol	36.97

Berdasarkan analisis probit, dapat diperoleh bahwa konsentrasi madu yang dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik *C.albicans* sebanyak 50% (KHM 50) terletak pada konsentrasi 28%. Makin kecil nilai KHM maka sensitifitasnya makin besar. Nilai KHM ini jauh lebih kecil jika dibandingkan dengan madu Kastanye, Kayu Putih, Bunga Jeruk, Rosemary, Heather, Manuka (Fernandes et al., 2021). Perbedaan nilai KBM ini dapat disebabkan oleh berbagai macam hal, seperti perbedaan sumber ekstrak etanol kunyit yang diberikan, jenis pelarut yang digunakan saat ekstraksi maupun metode antifungi (Nadifah et al., 2018).

KESIMPULAN

Madu Apis Mellifera memiliki dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik *C. albicans* secara efektif (MIC₅₀ = 28 %). Hal ini menunjukkan bahwa madu dapat digunakan sebagai pilihan terapi alternatif untuk beberapa infeksi Infeksi yang disebabkan oleh spesies *Candida*, terutama *C. albicans*.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih kami sampaikan kepada Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Unair (RSKI UA) yang telah menyediakan sarana penelitian dan semua pihak yang berkontribusi pada penelitian atau artikel.

DAFTAR PUSTAKA

- Al-Waili, N. S., Al-Waili, F. S., Akmal, M., Ali, A., Salom, K. Y., & al Ghamdi, A. A. (2014). *Effects of natural honey on polymicrobial culture of various human pathogens*. <https://doi.org/10.5114/aoms.2012.28603>
- Ansari, M. J., Al-Ghamdi, A., Usmani, S., Al-Waili, N. S., Sharma, D., Nuru, A., & Al-Attal, Y. (2013). Effect of Jujube Honey on *Candida albicans* Growth and Biofilm Formation. *Archives of Medical Research*, 44(5), 352–360. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2013.06.003>
- Chen, C., Campbell, L. T., Blair, S. E., & Carter, D. A. (2012). The effect of standard heat and filtration processing procedures on antimicrobial activity and hydrogen peroxide levels in honey. *Frontiers in Microbiology*, 3(JUL), 265. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2012.00265/BIBTEX>
- Clontech Laboratories. (2009). *Yeast Protocols Handbook*. *Yeast*, 1(July), 1–66.
- Fernandes, L., Ribeiro, H., Oliveira, A., Sanches Silva, A., Freitas, A., Henriques, M., & Rodrigues, M. E. (2021). Portuguese honeys as antimicrobial agents against *Candida* species. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(2), 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.02.007>
- Frías-De-León, M. G., Martínez-Herrera, E., Acosta-Altamirano, G., Arenas, R., & Rodríguez-Cerdeira, C. (2019). Superficial candidosis by *Candida duobushaemulonii*: An emerging microorganism. *Infection, Genetics and Evolution*, 75. <https://doi.org/10.1016/J.MEEGID.2019.103960>
- Iwalokun, B. A., Ogunledun, A., Ogbolu, D. O., Bamiro, S. B., & Jimi-Omojola, J. (2004). In vitro antimicrobial properties of aqueous garlic extract against multidrug-resistant bacteria and *Candida* species from Nigeria. *Journal of Medicinal Food*, 7(3), 327–333. <https://doi.org/10.1089/JMF.2004.7.327>
- Karasuno, T., Sata, H., Noda, Y., Imakita, M., & Yasumi, M. (2019). Invasive candidiasis leading to gastric perforation in an immunocompromised patient. *IDCases*, 18. <https://doi.org/10.1016/J.IDCR.2019.E00627>
- Küçük, M., Kolaylı, S., Karaoğlu, Ş., Ulusoy, E., Baltacı, C., & Candan, F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100(2), 526–534. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.10.010>
- Lee, J. A., & Chee, H. Y. (2010). In Vitro Antifungal Activity of Equol against *Candida albicans*. *Mycobiology*, 38(4), 328. <https://doi.org/10.4489/myco.2010.38.4.328>
- Nadifah, F., Farida Muhajir, N., & Retnoningsih, F. (2018). Daya Hambat Minyak Atsiri Rimpang Kunyit terhadap Pertumbuhan *Candida Albicans* In Vitro. *Jurnal Vokasi Kesehatan*, 4(1), 1. <https://doi.org/10.30602/jvk.v4i1.124>
- Puspitasari, A., Kawilarang, A. P., Ervianti, E., & Rohiman, A. (2019). Profil Pasien Baru Kandidiasis (Profile of New Patients of Candidiasis). *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 31(1), 24–34.
- Rodrigues, C. F., Rodrigues, M. E., Silva, S., & Henriques, M. (2017). *Candida glabrata* biofilms: how far have we come? *Journal of Fungi*. <https://www.mdpi.com/2309-608X/3/1/11>

- Rosyidi, D., Radiati, L. E., Minarti, S., Mustakim, M., Susilo, A., Jaya, F., & Azis, A. (2018). Perbandingan Sifat Antioksidan Propolis pada Dua Jenis Lebah (*Apis mellifera* dan *Trigona* sp.) di Mojokerto dan Batu, Jawa Timur, Indonesia. *Jurnal Ilmu Dan Teknologi Hasil Ternak (JITEK)*, 13(2), 108–117. <https://doi.org/10.21776/UB.JITEK.2018.013.02.5>