

ARTIKEL ASLI

EFEK MADU SEBAGAI ANTIFUNGI TERHADAP *Candida albicans* PENELITIAN LABORATORIS IN VITRO

Sjoekoer M.Dzen*, Sri Winarsih*, M. Cholis**, Langga Sintong Siahaan***

* Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

** Laboratorium Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya - RSUD Dr. Saiful Anwar Malang

*** Mahasiswa Smt IX Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang

ABSTRACT

Although the honey had been reported has known as an antiseptic, but the effect of honey against *Candida albicans* is not clear yet. This study is to clarify if honey has a fungistatic activity against *Candida albicans* and which is to know association between the concentration of honey with fungistatic activity on *Candida albicans*. In vitro experimental study by using 5 reatmen of concentrations of honey (20%, 40%, 60%, 80% and 100%); with 2 controls such as *Candida albicans* and honey. Every concentration of honey with *Candida albicans* were cultured of the Nutrient Broth liquid medium. After 18-24 hours of incubation, one take ose of culture was streaked to Sabouraud Dextrose Agar (SDA) plate. After 18-24 hours of incubation, their amount of colonies that grown in the SDA plate were counted with colony counter. The statistic analyses used in this study were One Way ANOVA and Pearson Correlation. The amount of colonies of the concentration of honey are 20% = 317,508.5; 40% = 213,057.4; 60% = 37,734.52; 80% = 1,732.69; 100% = 1.011 respectively. There are significant difference between every concentration of honey against *Candida albicans* (One Way ANOVA, $p (0,05)$ and there are significant association between the concentration of honey with the amount of *Candida albicans* colonies (Pearson Correlation, $p (0,05)$). This conclusion is that honey have a fungistatic activity against *Candida albicans* in vitro and there are an association between the concentration of honey with fungistatic activity on *Candida albicans*.

Key words: Fungistatic, Honey, *Candida albicans*

ABSTRAK

Walaupun madu dilaporkan memiliki sifat antiseptik, namun pengaruhnya terhadap jamur *Candida albicans* belum jelas. Penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah madu mempunyai efek fungistatik terhadap *Candida albicans* dan untuk mengetahui apakah terdapat hubungan antara konsentrasi madu dengan derajat fungistatik pada *Candida albicans*. Penelitian eksperimental in vitro ini menggunakan 5 macam perlakuan dengan konsentrasi madu yang berbeda-beda yaitu 20%, 40%, 60%, 80% dan 100% di dalam medium Nutrient Broth serta 2 kontrol yaitu kontrol *Candida albicans* dan kontrol madu. Setelah diinkubasi selama 18-24 jam, satu ose perbenihan dipindahkan ke medium Sabouraud Dextrose Agar (SDA). Setelah diinkubasi kembali selama 18-24 jam, jumlah koloni yang tumbuh dihitung dengan colony counter. Analisis statistik menggunakan ANOVA Satu Arah dan korelasi Pearson. Jumlah koloni yang terdapat pada konsentrasi madu 20% = 317.508,5; 40% = 213.057,4; 60% = 37.734,52; 80% = 1.732,69; 100% = 1.011. Terdapat perbedaan efek antara setiap konsentrasi madu terhadap jumlah koloni *Candida albicans* (ANOVA satu arah, $p < 0,05$) dan terdapat hubungan asosiasi yang signifikan antara konsentrasi madu dengan jumlah koloni *Candida albicans* (Korelasi Pearson, $p (0,05)$). Hasil tersebut menunjukkan bahwa madu mempunyai efek fungistatik terhadap *Candida albicans* secara in vitro dan terdapat korelasi antara konsentrasi madu dengan derajat fungistatik pada *Candida albicans*.

Kata kunci: Fungistatik, Madu, *Candida albicans*.

PENDAHULUAN

Madu adalah cairan yang kental dan terasa manis yang dihasilkan oleh lebah madu dengan jalan proses peragian suatu cairan manis yang dihasilkan oleh bunga atau bagian-bagian dari tanaman. Madu yang dihasilkan oleh lebah madu mempunyai beberapa persyaratan yaitu bahwa madu yang dihasilkan harus disimpan oleh lebah itu sendiri di dalam sarangnya, kemudian madu tidak boleh mengandung air lebih dari 25%, tidak boleh mengandung abu lebih dari 0,25% dan tidak boleh mengandung gula sukrosa lebih dari 8% (1).

Madu terjadi melalui suatu proses kimia dan fisika. Apabila seekor lebah madu hinggap pada bunga, maka ia akan menghisap cairan manis yang disebut sebagai nektar. Cairan nektar tersebut akan mengalami suatu invertasi dengan bantuan

enzim di dalam tubuh lebah madu. Kandungan air dalam madu sedikit demi sedikit akan berkurang, karena setelah proses tersebut madu diletakkan oleh lebah madu di antara kedua mandibulanya dan kemudian kedua mandibula tersebut diregangkan sehingga madu akan terkena udara dari luar. Dengan demikian, air di dalam madu akan menguap perlahan. Proses itu tidak berlangsung lama dan setelah menjadi madu, lebah madu meletakkannya di dalam sarang (1).

Candida albicans merupakan *Candida* yang tersering menyebabkan penyakit dan juga penyebab infeksi oportunistik. *Candida albicans* adalah suatu jamur lonjong bertunas yang menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan, dalam jaringan dan eksudat. *Candida* adalah anggota flora normal kulit, selaput lendir saluran pernafasan, saluran pencernaan dan

genitalia wanita. Pada tempat-tempat tersebut jamur ini dapat menjadi dominan dan dihubungkan dengan keadaan-keadaan patogen. Kadang-kadang jamur ini menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya tertekan. *Candida* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, tromboflebitis, endokarditis, atau infeksi pada mata dan organ-organ lain bila dimasukkan intravena (2,3,4)

Pada sediaan mikroskopik eksudat, *Candida albicans* tampak sebagai ragi lonjong bertunas, tunas yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa) dan sifatnya gram-positif ukurannya $3 \times 4-6 \mu\text{m}$. Pada agar Sabouraud yang diinkubasi pada suhu kamar, terbentuk koloni-koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan terdiri dari sel-sel bertunas yang lonjong. Pertumbuhan yang tertutup terdiri dari pseudomiselium, terdiri dari pseudohifa yang membentuk blastospora pada nodus-nodusnya. *Candida albicans* meragikan glukosa dan maltosa menghasilkan asam dan gas, menghasilkan asam dari sukrosa, dan tidak bereaksi dengan laktosa (5).

Di masyarakat luas, madu sudah dikenal sebagai bahan bernutrisi dan bergizi tinggi, bahkan berkhasiat obat sudah dikenal sejak lama. Madu dikenal bukan sekedar bahan yang dapat menyegarkan tetapi juga mempunyai fungsi sebagai sumber gizi untuk menjaga dan meningkatkan kesehatan dan kebugaran (6).

Madu merupakan bahan pangan alami yang tidak ada taranya dan tidak ada saingannya, karena komposisi kimia di dalam madu tersusun dari enzim, mineral, vitamin, asam organik, dan senyawa-senyawa lainnya. Madu juga disebutkan mengandung senyawa yang mempunyai efek merangsang biogenik, antibakteri dan antifungi serta antiseptik (6).

Larutan madu banyak juga digunakan sebagai campuran di dalam kosmetika, terutama dengan tujuan untuk menghindari kulit dari gangguan penyakit jamur, mencegah timbulnya infeksi

pada jerawat, kulit tidak cepat mengeriput, serta kulit tetap kelihatan segar (6).

Agar madu dapat diterima secara luas oleh masyarakat kesehatan sebagai obat antifungi, maka perlu dibuktikan secara ilmiah mengenai efek madu sebagai antifungi khususnya terhadap *Candida albicans*.

TUJUAN PENELITIAN

1. Untuk mengetahui apakah madu mempunyai efek fungistatik terhadap *Candida albicans*.
2. Untuk mengetahui apakah terdapat hubungan antara konsentrasi madu dengan derajat fungistatik pada *Candida albicans*.

BAHAN DAN METODE PENELITIAN

Penelitian dilaksanakan dengan rancang bangun penelitian eksperimental laboratorium secara invitro. Penelitian ini memiliki rancangan operasional sebagai berikut: madu dengan berbagai pengenceran (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%) dicampur dengan jamur *Candida albicans* (dengan kekeruhan 3×10^6 jamur per ml (7) dalam medium perbenihan cair *Nutrient Broth*. Dalam pengamatan tersebut disediakan dua tabung kontrol yang masing-masing berisi madu dan jamur *Candida albicans*. Kemudian masing-masing tabung diinkubasi pada suhu 37°C , 5°C selama 18-24 jam. Setelah itu, diamati ada atau tidaknya pertumbuhan jamur dengan melihat derajat kekeruhan media perbenihan cair *Nutrient Broth* tersebut. Kemudian satu ose volume $100 \mu\text{l}$ perbenihan cair tersebut dipindahkan ke medium perbenihan padat *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Selanjutnya diinkubasi kembali selama 18-24 jam, jumlah koloni yang tumbuh pada media perbenihan padat SDA dihitung dengan *colony counter*. Penelitian ini diulang sampai empat kali (8).

HASIL PENELITIAN

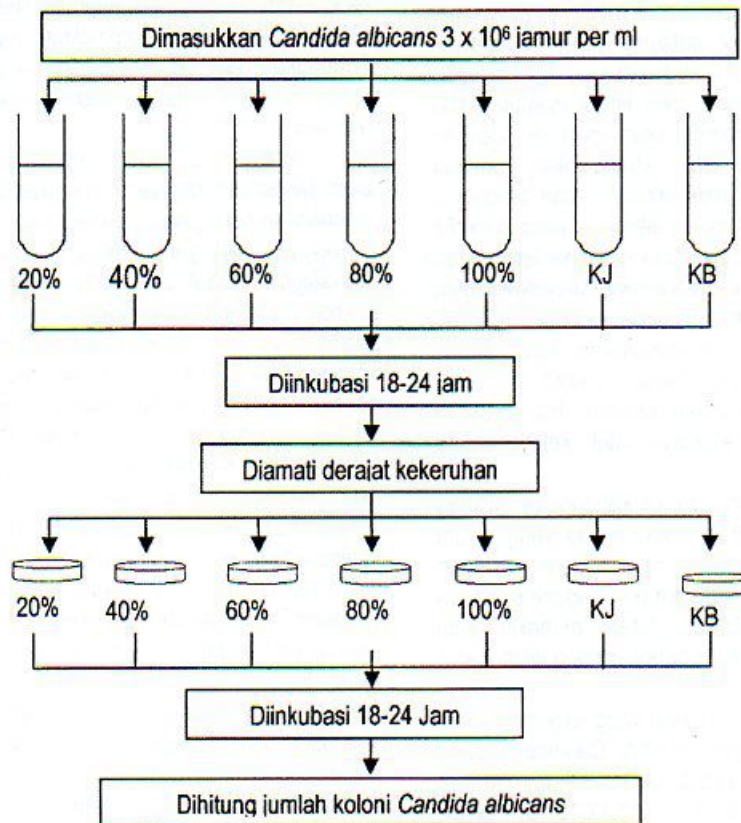
Table 1. Rata-rata Koloni *Candida albicans* pada Berbagai Konsentrasi Madu dan Kontrol Jamur *Candida albicans* (KJ) serta Kontrol Bahan Madu (KB).

Ulangan	Konsentrasi Madu (%)					KJ	KB
	20	40	60	80	100		
I	421606,70	420716,51	3586,19	1119,10	712,15	699435	0
II	422382,44	421733,87	142354,10	1793,10	826,61	99435	0
III	421237,91	5938,84	2696,00	2454,38	1119,10	699435	0
IV	4807,03	3840,53	2301,78	1564,19	1386,15	699435	0
Rata-rata	317508,5	37734,52	37734,52	1732,69	1011	699435	0

Keterangan:

1. KJ : Kontrol Jamur (*Candida albicans*)
2. KB : Kontrol Bahan (madu)

Skema penelitian dapat dilihat pada gambar 1



Gambar 1. Skema Prosedur Penelitian

Keterangan: 1. KJ: Kontrol Jamur (*Candida albicans*); 2. KB: Kontrol Bahan (madu)

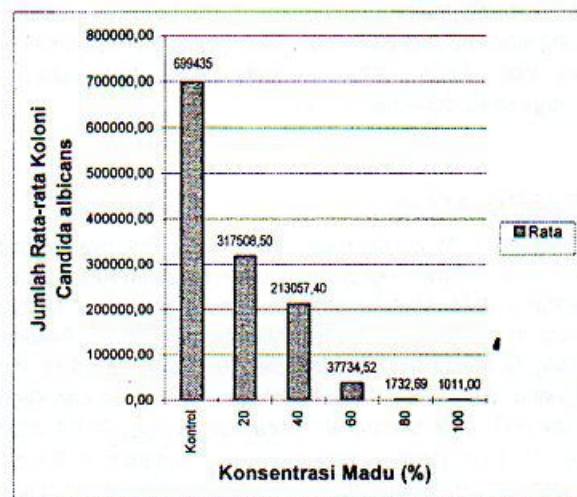
Dari tabel 1 di atas didapatkan penurunan jumlah rata-rata koloni *Candida albicans* dari kontrol jamur = 699.435 ke konsentrasi madu 20% = 317.508,5; 40% = 213.057,4; 60% = 37.734,52; 80% = 1.732,69; 100% = 1011. Terlihat bahwa terdapat penurunan jumlah rata-rata koloni *Candida albicans* seiring dengan peningkatan dosis konsentrasi madu. Hal ini dapat disimpulkan bahwa madu memberikan efek terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Dari data di atas dapat dilihat lebih jelas lagi efek madu terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada gambar 2. Gambar 2 menunjukkan dengan jelas penurunan rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* seiring dengan meningkatnya dosis konsentrasi madu. Terlihat perubahan jumlah rata-rata koloni *Candida albicans* dari kontrol jamur *Candida albicans* (699.435) ke dosis konsentrasi madu 20% (317.508,5) berbeda secara nyata. Hal ini dikarenakan madu memberikan efek terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Pada hasil penghitungan jumlah koloni jamur didapatkan data kuantitatif rasio sehingga analisis statistik yang digunakan adalah uji ANOVA satu arah. Dari uji analisis ini didapatkan hasil ada perbedaan efek antara setiap dosis konsentrasi madu terhadap jumlah koloni *Candida albicans* ($p < 0,05$; dengan taraf kepercayaan 95%) (9).

Uji korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui keeratan hubungan antara dosis konsentrasi madu dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Dari uji analisis ini didapatkan hubungan asosiasi yang signifikan antara variabel dosis

konsentrasi madu dengan jumlah koloni *Candida albicans* ($p < 0,05$; dengan taraf kepercayaan 95%) (9). Dari hasil analisis statistik tersebut tampak bahwa madu memiliki efek terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.



Gambar 2. Jumlah Koloni *Candida albicans* akibat Perlakuan

PEMBAHASAN

Efek antifungal secara *in vitro* dari madu kemungkinan disebabkan oleh beberapa faktor antifungi yang terdapat di dalamnya. Faktor yang pertama adalah kandungan utama madu yang berupa glukosa dan fruktosa yang tinggi (sekitar 84%) sehingga menyebabkan madu memiliki sifat hipertonis (dengan kandungan air yang sedikit) bila dibandingkan dengan lingkungan di dalam tubuh *Candida albicans* dan akibatnya terjadi efek osmosis terhadap *Candida albicans* yang ditandai dengan keluarnya cairan dari dalam tubuh jamur ke lingkungan luar. Selain itu, ikatan yang kuat antara molekul-molekul gula tersebut dengan molekul-molekul air menyisakan molekul-molekul air yang sedikit untuk mikroorganisme dapat hidup. Bahkan, dalam jumlah air yang sangat sedikit itu tidak memungkinkan spesies apapun dapat tumbuh. Hal ini tidak mencukupi kebutuhan *Candida albicans* untuk kelangsungan hidupnya (10,11,12,13).

Faktor yang kedua adalah adanya kandungan glukosa oksidase yang terutama terdapat di dalam madu yang belum diolah, merupakan suatu enzim yang memproduksi hydrogen peroksida. Proses antifungal dari hydrogen peroksida biasanya karena kemampuan pengoksidasian, tetapi mungkin juga disebabkan formasi dari radikal bebas hidroksil yang lebih toksik dari peroksida (14).

Faktor yang ketiga adalah pH madu yang tergolong asam berkisar antara 3,2-4,5 sehingga pertumbuhan *Candida albicans* terhambat karena pH optimum untuk pertumbuhan *Candida albicans* pada umumnya berkisar 7 (10,11,12,13,15). Selain komponen aktif di atas, madu juga mengandung komponen-komponen yang bernetrisi dan bergizi tinggi sehingga mampu meningkatkan sistem imunitas apabila digunakan secara *in vivo*. Madu banyak mengandung vitamin B2, B3, B6, C, K, karoten, biotin, dan lain-lain. Bahan-bahan tersebut dapat meningkatkan ketahanan tubuh terhadap infeksi khususnya infeksi jamur *Candida albicans* (6).

Selain itu, terdapat kemungkinan bahwa efek antifungi yang ada di dalam madu diperoleh dari faktor-faktor lain yang mendukung sifat antifungi dari madu. Oleh karena itu, diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengidentifikasi faktor-faktor tersebut, juga suatu penelitian *in vivo*.

Laporan penelitian yang lain ternyata madu mempunyai efek antiseptik dan antibakteri (6). Hasil penelitian madu selain sebagai antiseptik, antibakteri, juga sebagai antifungi. Sedangkan hasil penelitian kami ini adalah menyokong bahwa madu memiliki antifungi yaitu khususnya terhadap *Candida albicans*.

Masalah di bidang kesehatan khususnya kedokteran akan bertambah dengan meningkatnya berbagai penyakit yang disebabkan oleh jamur, terutama jamur *Candida*. Karena jamur bukan penyakit yang harus dilaporkan, maka insiden dan prevalensinya tidak dapat ditentukan dengan benar (16). Dalam berbagai literatur disebutkan bahwa insidennya 8 per 100.000 kasus dan angka ini meningkat pada neonatus. Angka mortalitas infeksi ini sekitar 40% pada penderita dengan infeksi sistemik (17). Di Amerika Serikat dimana sistem rekam mediknya sudah bagus, ternyata ditemukan insiden infeksi 8% dari seluruh populasi (16). Kandidiasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi *Candida* baik primer maupun sekunder yang disebabkan oleh akibat lain yang telah ada. Walaupun penyebab utama adalah spesies *Candida albicans* namun spesies *Candida* yang lain dapat pula menyebabkan penyakit, bahkan ada yang berakhir fatal. Kandidiasis mempunyai gambaran klinik dengan variasi yang sangat luas, bergantung pada organ atau jaringan yang terkena, bersifat akut atau menahun. Kelainan dapat berupa rangsangan setempat, reaksi alergi, granuloma atau nekrosis, baik mengenai satu organ atau sistemik. Kelainan dapat pula tampak pada kulit, kuku, selaput lendir atau alat-alat dalam. Kandidiasis dapat ditemukan pada semua umur, pria dan wanita, dan mempunyai penyebaran di seluruh dunia. Penyakit ini merupakan penyakit yang terbanyak didiagnosis di antara penderita mikosis (18). *Candida spesies* menduduki peringkat kelima penyebab infeksi nosokomial di Amerika Serikat (19).

Diharapkan penelitian ini dapat bermanfaat untuk penelitian lebih lanjut tentang efek madu untuk mengatasi masalah klinis yang disebabkan oleh *Candida albicans*.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa madu mempunyai efek fungistatik terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dan terdapat hubungan antara konsentrasi madu dengan derajat fungistatik pada *Candida albicans*.

DAFTAR KEPUSTAKAAN

1. Hadiwiyoto, S., Mengenal Hasil Tawon Madu. Pradnya Paramita. Jakarta. 1982: 8-21.
2. Yulius, E.S., Mikrobiologi dan Imunologi. Binarupa Aksara. Jakarta. 1993: 191-192.
3. Linardakis, W.M., Microbiology and Immunology 2nd Ed. Mc Graw Hill Companies. Singapore. 1998.
4. Jawetz, et al., Review of Medical Microbiology 20th Ed. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1996: 261-262.
5. Bonang, G. Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan. Edisi 16. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. 1984: 382-384.
6. Suriawiria, H.U., Madu Untuk Kesehatan, Kebugaran dan Kecantikan. Penerbit Papas Sinar Sinanti. Jakarta. 2000: 21-26.
7. Murray, P.R., et al. Manual of Clinical Microbiology 7th Ed. ASM Press Washington, DC. 1999: 1648.
8. Lukito, H., Rancangan Percobaan, Suatu Pengantar. IKIP Malang. Malang. 1998: 25-75.
9. Santoso, S., SPSS Versi 10. PT Elex Media Komputindo. Jakarta. 2002: 260-303.
10. Anonymous., The Antimicrobial Properties of Honey. (on line). 2002: 2(1). (<http://www.umfactive-manukahoney.com/antimicrobial.htm>)
11. Anonymous., Waikato Home: Honey Research Unit. Honey as An Antimicrobial Agent. 2002: 3(6) (http://www.honey.bio.waikato.ac.nz/honey_2.shtml); diakses 22 Juni 2002.

12. Broadhurst, C.L., What's The Buzz? Medicine from The Bee Hive. (on line). 2001 (http://www.healthwell.com/hnbreakthrough/dec99/traditional_med.ctm), diakses 5 Juli 2001.
13. Anonymous., "Bee" Healthy-"Bee" Wise: The Magical Properties of Bee Products (on line). 2000 (<http://www.skybusiness.com/bee3/bewise.html>), diakses 8 Juli 2001.
14. Wolfgang, K., et al., In: Joklitz, W.K., Witet, H.P., Amos, D.B., Wilfert, C.M. (eds). Zinsser Microbiology 20th Ed. Appleton Lange Prentice Hall International Inc. London. 1992: 153-186.
15. Marhiyanto, B., Peluang Bisnis Beternak Lebah. Gita Media Press. Surabaya. 1999.
16. Sunflowers Natural Food and Café. *Candida*-A Brief Overview. 2003, available in (<http://www.healthyhealing.com/aisle171.html>)
17. Central for Disease Control and Prevantion, National Center for Infectious Diseases, Division of Bacterial and Mycotic Diseases. Candidiasis. 2002, available in (<http://www.candida-yeast.com/information.asp>)
18. Suprihatin, S.D., *Candida dan Kandidiasis pada Manusia*. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Jakarta. 1982:1-12.
19. Bennet, J.E., *Candidiasis*. Horison's Principles of Internal Medicine 15th Ed. Mc Graw-Hill Companies, United States of America.