Uji Aktivitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.)

terhadap *Malassezia furfur* secara *In Vitro*

Qurratul Aini¹, Muhamad Agus Wibowo², Mahyarudin³

¹ Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

² Departemen Kimia, FMIPA UNTAN

³ Departemen Mikrobiologi, Program Studi Kedokteran, FK UNTAN

Abstrak

Latar Belakang. *Pityriasis versicolor* atau panu merupakan infeksi jamur superfisial pada kulit yang disebabkan oleh *Malassezia furfur*. Minyak atsiri daun pala diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antijamur. **Metode.** Penelitian ini merupakan eksperimental murni menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Uji aktivitas antijamur menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer* dengan variasi konsentrasi 10%, 25%, 50%, 75% dan 100%. Kontrol positif yang digunakan adalah ketokonazol 30 µg/disk sedangkan kontrol negatif yang digunakan adalah Tween 20. Analisis data menggunakan uji statistik *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Least Significant Different (LSD)*. **Hasil.** Hasil uji aktivitas antijamur minyak atsiri daun pala pada konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100% membentuk zona hambat dengan rata-rata diameter sebesar 8,875mm, 9,625mm, 10mm, dan 15mm. Uji statistik menunjukkan nilai signifikansi ($p < 0,05$) yang mengindikasikan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok perlakuan. **Kesimpulan.** Minyak atsiri daun pala memiliki aktivitas antijamur terhadap *Malassezia furfur*.

Kata Kunci: Antijamur, minyak atsiri daun pala, *Malassezia furfur*

Background. *Pityriasis versicolor* was a superficial fungal infection of the skin caused by *Malassezia furfur*. Nutmeg leaf essential oils was known for its potential as an antifungal. **Method.** This study was a pure experimental with a randomized block design. Effectiveness of antifungal test was performed with Kirby-Bauer disk diffusion test method, with the concentration variation of 10%, 25%, 50%, 75% and 100%. Positive control groups were given ketoconazole 30 µg /dics while negative control group were given Tween 20. Data was analyzed using *One Way ANOVA* statistical test and continued with *Post Hoc Test Least Significant Different (LSD)*. **Result.** The nutmeg leaf essential oil with concentration variation of 25%, 50%, 75% and 100% show an average of diameter inhibition zone was 8,875mm, 9,625mm, 10mm, and 15mm against *Malassezia furfur*. Statistic test showed the significance score ($p < 0,05$) which indicates significant differents between groups. **Conclusion.** The nutmeg leaf essential oil have an antifungal activity against *Malassezia furfur*.

Keywords: antifungal, nutmeg leaf essential oils, *Malassezia furfur*.

PENDAHULUAN

Pityriasis versicolor atau yang lebih dikenal dengan sebutan panu di masyarakat merupakan infeksi jamur superfisial pada kulit yang disebabkan oleh *Malassezia furfur*.¹ Penyakit ini ditandai dengan adanya makula di kulit, skuama halus dan disertai rasa gatal¹. Pada umumnya *pityriasis versicolor* mengenai bagian tubuh seperti di ketiak, sela paha, tungkai atas, leher, muka dan kulit kepala.^{2,3} *Pityriasis versicolor* lebih banyak ditemukan pada daerah yang memiliki suhu dan kelembaban tinggi.¹

Prevalensi di negara tropis diperkirakan berkisar 40-50%, sedangkan di negara subtropis seperti di Eropa tengah dan utara, prevalensi hanya berkisar 0,5-1% dari semua penyakit akibat infeksi jamur.¹ Indonesia merupakan negara beriklim tropis dan sangat memungkinkan untuk perkembangan penyakit infeksi yang

disebabkan oleh jamur. Epidemiologi infeksi jamur superfisial di Indonesia khususnya pada kejadian *Pityriasis versicolor* adalah sebesar 53,2%.⁴

Malassezia termasuk dalam divisi *Basidiomycota* yang bersifat patogen bagi manusia.⁵ *Malassezia furfur* adalah fase hifa yang bersifat invasif, patogen dan sering ditemukan pada tempat lesi, terutama pada lesi yang aktif. *Malassezia furfur* berupa kelompok sel-sel bulat, memiliki tunas, berdinding tebal, serta memiliki hifa yang bengkok dan pendek yang menghasilkan konidia dengan ukuran sangat kecil (mikrokonidia) dan konidia yang besar (makrokonidia) serta multiseptat. *Pityriasis versicolor* timbul ketika *Malassezia furfur* membentuk koloni pada kulit dan berubah bentuk dari bentuk *yeast* menjadi miselium yang kemudian menginvasi stratum korneum kulit. Pemeriksaan makroskopik tampak koloni berwarna krem kekuningan dengan permukaan halus dan cembung

sedangkan pada pemeriksaan mikroskopis langsung dengan penambahan KOH 10%, akan tampak gambaran seperti bentuk *spaghetti and meatball*.⁶

Terdapat beberapa obat antijamur yang memiliki sensitivitas cukup tinggi adalah terbinafin dan golongan triazol, namun dalam penggunaan obat antijamur tersebut terdapat efek samping yang tidak diinginkan antara lain gangguan pencernaan, pruritus, pusing hingga sakit kepala.^{7,8} Adanya efek samping dari obat-obatan sintetis membuat masyarakat beralih ke pola hidup tradisional, yakni memanfaatkan tumbuh-tumbuhan sebagai pengobatan tradisional.⁹

Pengobatan tradisional dinilai memiliki efek samping yang lebih kecil dan harganya lebih terjangkau daripada obat-obatan sintetis.⁹ Tanaman yang berpotensi mengatasi penyakit dan masalah kesehatan salah satunya adalah rempah-rempah.¹⁰ Beberapa penelitian

mengatakan bahwa rempah-rempah memiliki sifat antimikrob. Komponen utama yang memberikan sifat antimikrob pada rempah-rempah adalah minyak esensial.¹¹

Tanaman Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) adalah tanaman asli Indonesia yang berasal dari pulau Banda. Tanaman ini dikenal sebagai tanaman rempah yang memiliki nilai ekonomis dan multiguna karena setiap bagian tanaman dapat dimanfaatkan dalam berbagai industri.¹¹ Bagian tanaman pala yang paling sering dimanfaatkan dan bernilai ekonomis adalah buah pala, yang terdiri dari 83.3% daging buah, 3.22% fuli, 3.94% tempurung biji, serta 9.54% daging biji sementara itu, daun pala merupakan salah satu bagian yang belum banyak dimanfaatkan. Daun pala mengandung senyawa aktif, diantaranya adalah alkaloid, triterpenoid, tanin, dan flavonoid.¹²

Kandungan senyawa utama dalam minyak daun pala berupa α - pinen (18.04%), sabinen (19.07%), 4-terpeniol (11.83%), limonene (8.32%), β -pinen (7.92%) dengan senyawa sampingan berupa β -mirsen, α -felandren, δ -3-karen, α -terpinen, α -terpinolen, α -terpineol, t-2-menten-1- ol, dan miristisin.¹³ Senyawa trimiristin dengan asam miristat, miristisin, dan emilisin dalam pala diketahui memiliki aktivitas sebagai anti oksidan, anti *convulsant*, analgesik, anti inflamasi, anti diabetik, antibakteri, dan antijamur.¹⁴

METODE

Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni yakni melalui pengujian aktivitas antijamur dari minyak atsiri daun pala secara *in vitro* dengan rancangan acak lengkap. Kelompok uji dan kelompok kontrol akan dinilai setelah diberikan perlakuan. Penelitian

yang dilakukan adalah uji aktivitas antijamur larutan uji terhadap *Malassezia furfur*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui zona hambat yang dihasilkan dari minyak atsiri daun pala *Myristica fragrans* Houtt. terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur*.

Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura dan Unit Laboratorium Kesehatan Kalimantan Barat. Penelitian dilakukan mulai Agustus 2017 sampai November 2017.

Alat Penelitian

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah wadah kaca, lemari pendingin, sendok tanduk, *rotary evaporator*, timbangan analitik, sendok *stainless*, *oven*, inkubator, krusibel porselen, desikator, pinset, *autoclave*, labu ukur 25 dan 50 mL, gelas ukur, erlenmeyer, gelas beaker, cawan

penguap, tabung reaksi, BSC (*Bio-Safety Cabinet*), penggaris, gunting, pinset, spidol permanen, kertas label, batang pengaduk, cawan petri, kaca objek, kaca penutup, pipet tetes, pipet pasteur, jangka sorong, prevorator, jarum ose, mikroskop tip, mikropipet dan pembakar Bunsen.

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak atsiri daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.), Ketokonazol (30 µg/disk), *Tween* 20, *Lacto Phenol Cotton Blue* (LPCB), spiritus, *olive oil*, Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), Standar McFarland no. 0.5, dan larutan natrium klorida (NaCl) 0,9%. kultur murni *Malassezia furfur* yang didapat dari Departemen Parasitologi FKUI, Akuades, aluminium foil, kertas saring, kertas sampul coklat, tisu, plastik tahan panas.

Prosedur Penelitian

Jamur Uji

Jamur Uji yang digunakan dalam

penelitian ini adalah biakan murni *Malassezia furfur* yang diperoleh dari Departemen Parasitologi FKUI.

Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah ketokonazol tablet dengan dosis 30 µg/disk. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah pelarut *Tween* 20.

Uji Aktivitas Antijamur

Pengujian daya hambat minyak atsiri daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* dilakukan dengan metode difusi menggunakan kertas saring berdiameter 6 mm. *Malassezia furfur* ditanam dengan menggunakan jarum ose dan digoreskan ke media *Sabouraud Dextrose Agar* + *olive oil*, selanjutnya kertas saring ditetaskan terlebih dahulu larutan sampel minyak atsiri daun pala, kontrol positif ketonokazol 30 µg/disk, dan kontrol negatif *Tween* 20 selama 15 menit, kemudian tempatkan masing masing kertas saring tersebut pada

permukaan media yang telah memadat. Setelah keseluruhan proses selesai, cawan-cawan petri tersebut dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 27-30°C selama 2 hari. Zona hambatan yang terbentuk akan diukur dengan menggunakan jangka sorong/penggaris untuk mengetahui aktivitas dan sifat antijamur minyak atsiri daun pala.

HASIL

Uji Aktivitas Antijamur

Uji aktivitas antijamur pada penelitian ini menggunakan metode *Kirby-Bauer*. Terdapat lima kelompok perlakuan dengan variasi konsentrasi minyak atsiri daun pala 10%, 25%, 50%, 75%, dan 100% serta dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan ketokonazol 30 µg/disk dan kontrol negatif menggunakan *Tween* 20. Zona hambatan terkecil didapatkan pada konsentrasi minyak atsiri 25% dengan rata-rata diameter sebesar 8,875 mm, sedangkan zona hambatan terbesar

didapatkan pada konsentrasi minyak atsiri 100% dengan rata-rata diameter sebesar 15 mm.

Ketokonazol sebagai kontrol positif menunjukkan adanya zona hambatan dengan diameter rata-rata 25,375 mm pada empat kali pengulangan menunjukkan bahwa ketokonazol sensitif pada jamur *Malassezia furfur*. Kepekaan antijamur menggunakan ketokonazol dilihat berdasarkan ukuran zona hambatan yang terbentuk setelah inkubasi yaitu ≥ 18 mm diinterpretasikan sebagai sensitif, 13-17 mm merupakan intermediate dan ≤ 12 resisten. *Tween* adalah zat yang digunakan untuk melarutkan minyak saat pembuatan larutan uji, maka dari itu larutan harus bersifat negatif dan tidak memberikan aktivitas antijamur.

Rata-rata zona hambatan yang terbentuk pada uji aktivitas antijamur dengan menggunakan berbagai variasi konsentrasi berkisar 8,875 mm - 25,375 mm. Hasil dari uji aktivitas antijamur tersebut selanjutnya dilakukan analisis

data menggunakan parameter *Shapiro Wilk* (sampel kurang dari 50) untuk melihat normalitas data dan hasil yang didapatkan bahwa data $p > 0,05$ yaitu data terdistribusi normal. Data kemudian di uji homogenitasnya dengan uji *Levene*, didapat hasil $p > 0,05$ sehingga dapat dilanjutkan untuk dilakukan pengujian data menggunakan *One-Way Analysis of Variance* (ANOVA) terhadap diameter zona hambat antar kelompok uji, kelompok kontrol positif dan kontrol negatif menunjukkan nilai signifikansi $p < 0,05$. Uji *Post Hoc Least Significant Difference* (LSD) menunjukkan konsentrasi memiliki perbedaan bermakna ($p < 0,05$) antar kelompok konsentrasi lainnya.

Hasil aktivitas antijamur menunjukkan adanya peningkatan diameter zona hambat seiring dengan peningkatan konsentrasi minyak atsiri. Hal ini disebabkan karena efek atau aktivitas yang ditimbulkan oleh minyak atsiri berbanding lurus dengan nilai dosis

atau konsentrasinya. Semakin besar dosis atau konsentrasinya, maka semakin tinggi juga kandungan senyawa antijamur yang terlarut didalamnya. Adanya penghambatan tersebut mengindikasikan bahwa kandungan senyawa aktif pada minyak atsiri daun pala berperan dalam penghambatan pertumbuhan jamur. Penghambatan antijamur dapat disebabkan oleh perlekatan senyawa pada permukaan sel atau berdifusinya senyawa tersebut ke dalam sel jamur.¹⁵ Terdapat beberapa faktor yang dapat mempengaruhi aktivitas antimikroba yakni; konsentrasi antimikroba, intensitas zat antimikroba, jumlah mikroba, pH media, suhu inkubasi, potensi suatu antimikroba dalam larutan yang diuji, dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi antimikrob.¹⁶

PEMBAHASAN

Berdasarkan hasil skrining fitokimia senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam minyak atsiri

daun pala antara lain; terpenoid, flavonoid, saponin dan miristisin.¹⁷ Minyak atsiri memiliki aktivitas antijamur dengan mekanisme kerja mengganggu permeabilitas dari membran sel jamur. Membran sel jamur yang mengalami gangguan permeabilitas kemudian mati akibat kebocoran cairan intrasel. Senyawa flavonoid diketahui dapat digunakan sebagai antijamur. Flavonoid bekerja dengan cara mendenaturasi protein, mengganggu lapisan lipid pada sel jamur hingga mengakibatkan kerusakan dinding sel jamur tersebut. Flavonoid bersifat lipofilik yang bekerja dengan cara mengikat fosfolipid- fosfolipid pada membran sel jamur sehingga mengganggu permeabilitas membran sel.¹⁸ Saponin adalah suatu glikosida alami yang terikat dengan steroid atau triterpenoid yang bekerja dengan cara menurunkan tegangan dari permukaan membran sterol pada dinding sel jamur sehingga menyebabkan gangguan

permeabilitas membran sehingga pemasukan zat-zat yang diperlukan oleh sel jamur menjadi terganggu dan akhirnya sel membengkak hingga pecah.¹⁹

Hasil uji aktivitas antijamur minyak atsiri daun pala terhadap jamur *Malassezia furfur* selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Lamdasari (2016), Sipahelut (2015), Kausar (2013) yang juga menggunakan minyak atsiri dan menunjukkan hasil bahwa memiliki aktivitas antijamur.^{20,21,22} Berdasarkan penelitian Lamdasari (2016) didapatkan hasil bahwa minyak atsiri daun pala dan ekstrak methanol daun pala dapat menghambat pertumbuhan diameter koloni miselium *Rhizoctonia sp.*²⁰ Pada penelitian yang dilakukan Sipahelut (2015) minyak daging buah pala memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *Fusarium moniliforme* yang ditunjukkan dengan adanya daya hambat namun potensi hambat minyak daging

buah pala masih rendah.²¹ Penelitian yang dilakukan Kausar (2013) juga menunjukkan aktivitas antijamur minyak atsiri buah pala pada *Candida albicans*.²²

Penelitian uji aktivitas antijamur minyak atsiri daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) ini selaras dengan penelitian antijamur minyak atsiri lainnya seperti yang telah dilaporkan oleh Dewi (2008) menggunakan minyak atsiri daun kemangi (*Ocimum basilicum* linn) dan Dian (2008) menggunakan minyak atsiri kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) menunjukkan hasil bahwa minyak atsiri daun kemangi dan minyak atsiri kayu manis yaitu memiliki aktivitas antijamur terhadap *Malassezia furfur*.^{23,24}

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa minyak atsiri daun pala (*Myristica*

fragrans Houtt.) memiliki aktivitas antijamur terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur* dan didapatkan konsentrasi efektif minyak atsiri daun pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dalam menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* tidak ditemukan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Partogi D. Pityriasis versikolor dan Diagnosis Bandingnya. Medan: Universitas Sumatera Utera; 2008.
2. Budimulja U. Mikosis. Di dalam: Djuanda A, Hamzah M, Aisah S, ed. Ilmu penyakit kulit dan kelamin. Edisi ke 4. Jakarta: Balai Penerbit FK UI; 2005. p. 99-100.
3. Siregar RS. Penyakit Jamur Kulit. Edisi ke 2. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2005. p. 8-11.
4. Hidayati AN, Suyoso S, Hinda D, Sandra E. Mikosis Superfisialis di Divisi Mikologi Unit Rawat Jalan Penyakit Kulit dan Kelamin RSUD Dr. Sutomo Surabaya tahun 2003-2005. Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin; 2009. p.1-8.
5. Saunders, Charles W, Anika S, Joseph H. *Malassezia* Fungi Are Specialized to Live on Skin and Associated with Dandruff, Eczema, and Other Skin Diseases; 2012. Tersedia di www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/pmc3380954/pdf/ppat. (Diakses pada 24 Desember 2016)
6. Sutanto, Pudji KS, Saleha S. Parasitologi Kedokteran ed IV. Jakarta: Balai Penerbit FKUI; 2008.
7. Barros MEDS, Santos DDA, dan Hamdan JS. Evaluation of susceptibility of *Trichophyton mentagrophytes* and *Trichophyton rubrum* clinical isolates to antifungal drugs using a modified CLSI microdilution method (M38-A). JMM.2007;56:514–18.
8. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. Pharmacology. 7th ed. London: Churchill Livingstone; 2011.
9. Direktorat Jenderal Bina Kefarmasian dan Alat Kesehatan. Daftar Obat Esensial

- Nasional. Jakarta, Indonesia: Departemen Kesehatan; 2005.
10. Putra D.P. and Verawati, V., Analisa Kandungan Flavonoid dan Aktivitas Antioksidan dari Rempah Tumbuhan Obat Sumatera Barat. *Scientia-Jurnal Farmasi dan Kesehatan*, 1(1);2015. pp.1-7.
 11. Hadad H.M. Perbaikan Budidaya dan Mutu Hasil Tanaman Pala (*Myristica fragrans* Houtt.). Bogor: Balai Penelitian Rempah dan Obat; 2006
 12. Rastuti U., Widyaningsih S., Kartika D., Ningsih D.R.. Aktivitas antibakteri minyak atsiri daun pala dari banyumas terhadap *Staphylococcus aureus* dan *E.Coli* serta identifikasi senyawa penyusunnya. *Jurnal Kimia*; 2013. 7(1): 197-203.
 13. Zacharia TJ, Leela NK, Maya KM, Rema J, Mathew PA, Vipin TM, Krisnamoorthy B. Chemical composition of leaf oils of *Myristica beddmeii* (King.), *Myristica fragrans* (Houtt.), and *Myristica malabarica* (Lamk.). *Journal of Spices and Aromatic Crops*; 2008. 17(1): 10-15.
 14. Asgarpanah J, Kazemiyas N. Phytochemistry and pharmacologic properties of *Myristica fragrans* Houtt: A review. *Africa Journal of Biotechnology Islamic Azad University, Tehran*; 2012. 11(65):12787– 12793.
 15. Kanazawa A, Ikeda T, dan Endo TA. Approach to ode of action of cationic biocides morphological effect on antibacterial activity. *J Appl Bacterial*. 1995; 78(1): 55-60.
 16. Pelczar MJ dan Chan ECS. Dasar-dasar Mikrobiologi. Hadioetomo RS (alih bahasa). Jakarta: UI Press;2005.
 17. Puspa Olyvia Eka, dkk. Uji Fitokimia dan Toksisitas Minyak Atsiri Daun Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) dari Pulau Lemukutan. [Skripsi]. Pontianak : Fakultas MIPA Universitas Tanjungpura;2016
 18. Watson RR, Preesdy VR. Botanical medicine In clinical practice. Cambridge: Cromwell Press; 2007.
 19. Cowan MM. Plant products a antimicrobial agent. *Clin Microbiol Rev*. 2002; 12:564-82.
 20. Lamdasari Chatarina Tyas. Aktivitas antifungi minyak atsiri dan ekstrak Metanol daun pala (*Myristica fragrans* houtt.) Terhadap *Rhizoctonia* sp. [Skripsi]. Bogor : Fakultas Kehutanan IPB; 2016
 21. Sipahelut Sophia Grace. Identifikasi senyawa antijamur dari minyak daging buah pala dan Aktivitasnya terhadap *fusarium moniliforme*. Ambon: *Jurnal Agroforestri X* Nomor 2. 2015.
 22. Kausar Akmal., Uji Aktivitas Antifungal Minyak Atsiri Buah Pala (*Myristica fragrans* Houtt) terhadap jamur *Candida albicans* secara in vitro. [Skripsi]. Aceh : Fakultas Kedokteran UNSYIAH; 2013
 23. Dewi Dian Puspita., Pemisahan Minyak Atsiri Daun Kemangi (*Ocimum basilicum*) Secara Kromatografi Lapis Tipis dan Aktivitasnya Terhadap *Malassezia furfur* In Vitro. [Skripsi]. Semarang : FK UNDIP; 2008
 24. Dian Monica., Pemisahan Minyak Atsiri Kayu Manis (*Cinnamomum zeylanicum*) Secara Kromatografi Lapis Tipis dan Aktivitas Antijamurnya Terhadap *Malassezia furfur* In Vitro. [Skripsi]. Semarang : FK UNDIP; 2008