

ARTIKEL PENELITIAN

**EFEK ANTIFUNGAL SINERGIS FLUCONAZOLE
DENGAN MINYAK ATSIRI *CYMBOPOGON CITRATUS*
TERHADAP *CANDIDA ALBICANS***

**SYNERGISTIC ANTIFUNGAL EFFECT OF FLUCONAZOLE
WITH *CYMBOPOGON CITRATUS* ESSENSIAL OIL
AGAINST *CANDIDA ALBICANS***

Sharon Claudia Ethelyn Sihole¹, Sandy Vitria Kurniawan^{2,*}

¹ Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jl. Pluit Raya no. 2, Jakarta, 14440

² Departemen Farmakologi - Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Unika Atma Jaya, Jl. Pluit Raya no. 2, Jakarta, 14440

* **Korespondensi:** sandy.vitria@atmajaya.ac.id

ABSTRACT

Introduction: *Candida albicans* is a common human flora. However, if the amount is above average, it can cause a disease called candidiasis. Fluconazole is an antifungal medication that can cure candidiasis but its number of resistance is increasing. Therefore alternative treatments are needed like using herbs. *Cymbopogon citratus* essential oil is proven to have an antifungal effect. The purpose of this study is to see the synergistic antifungal effect of fluconazole combined with lemongrass against *C. albicans*.

Methods: Experimental study design was used in this research and conducted in vitro. *C. citratus* was extracted with hydrodistillation method. Disc diffusion method was performed using MHA agar with Glucose 2% and methylene blue. Lemongrass essential oil concentration that are used are 2,5%, 5%, 10%, and 20% using tween as a solvent.

Results: Minimum concentration of lemongrass essential oil that could inhibit *C. albicans* growth is 10% with average diameter of inhibition zone 10 mm. Minimum concentration of fluconazole combined with lemongrass essential oil that could inhibit *C. albicans* growth is 2,5% with average diameter 21,3333 mm. Average diameter of inhibition zone by fluconazole combined with lemongrass essential oil is greater than fluconazole's inhibition zone added with lemongrass essential oil inhibition zone alone, therefore fluconazole combined with *C. citratus* essential oil work synergistically.

Conclusion: There is a synergistic antifungal effect of fluconazole combined with *C. citratus* essential oil against *C. albicans*.

Key Words: *Candida albicans*, *Cymbopogon citratus*, fluconazole, synergistic

ABSTRAK

Pendahuluan: *Candida albicans* merupakan flora normal yang dapat ditemukan di dalam tubuh, jika berada pada jumlah di atas normal, *C. albicans* dapat menyebabkan penyakit kandidiasis. Penyakit kandidiasis dapat diobati dengan fluconazole, tetapi angka resistensi fluconazole semakin meningkat. Maka diperlukan alternatif lain seperti tanaman herbal. *Cymbopogon citratus* merupakan tanaman yang terbukti memiliki efek antifungal. Penelitian ini dilakukan untuk melihat apakah fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* dapat bekerja sinergis menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

Metode: Desain pada penelitian ini menggunakan studi eksperimental yang dilakukan secara in vitro. *C. citratus* diekstraksi dengan metode distilasi air. Metode uji yang dilakukan adalah dengan metode difusi cakram pada agar *Mueller-Hinton* dengan glukosa 2% dan *methylene blue*. Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* yang dipakai adalah 2,5%, 5%, 10%, dan 20% dilarutkan dengan *tween*.

Hasil: Konsentrasi minimal minyak atsiri *C. citratus* menghasilkan adanya hambatan pada pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 10% dengan rata-rata diameter zona inhibisi 10 mm. Konsentrasi minimal kombinasi fluconazole dengan *C. citratus* menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 2,5% dengan rata-rata diameter zona inhibisi 21,3333 mm. Kombinasi fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* memiliki diameter zona inhibisi lebih besar dibandingkan dengan zona inhibisi minyak atsiri ditambah dengan zona inhibisi fluconazole sehingga fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* teruji bersifat sinergis.

Simpulan: Terdapat efek antifungal sinergis fluconazole dan minyak atsiri *C. citratus* terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Kata Kunci: *Candida albicans*, *Cymbopogon citratus*, fluconazole, sinergis

PENDAHULUAN

Candida merupakan flora normal yang dapat ditemukan di dalam tubuh. Pertumbuhan *Candida* yang berada dalam tubuh kita dilimitasi oleh sistem imun dan kompetisi dengan flora lainnya sehingga tidak dapat menyebabkan infeksi.¹ Namun jika pertumbuhan candida dalam tubuh tidak dapat dihambat, maka jamur ini dapat menyebabkan kandidiasis.²

Salah satu obat untuk kandidiasis adalah dengan fluconazole.³ Namun saat ini angka resistensi fluconazole terhadap *Candida* sudah semakin meningkat.⁴ Resistensi *Candida albicans* terhadap fluconazole sangat berdampak dikarenakan tingginya angka kejadian kandidiasis.⁵ Pemberian fluconazole dengan dosis yang tinggi dan jangka panjang juga dapat menyebabkan efek hepatotoksik sehingga dapat merusak hepar.⁶ Oleh karena itu dibutuhkan alternatif lain untuk mengeliminasi *Candida*.

Minyak atsiri dapat dihasilkan dari hasil ekstraksi *Cymbopogon citratus*, dengan nama lain serai. Tanaman serai memiliki efek antifungal dikarenakan kandungannya yang kaya akan agen antifungal seperti citral, flavonoid, dan tannin.⁷ *C. citratus* terbukti dapat bekerja sebagai antifungal terhadap *C. albicans*.⁸

Kombinasi minyak atsiri *C. citratus* dengan flucoanzole terhadap pertumbuhan *C. albicans* sudah pernah diteliti sebelumnya oleh Pandurang, *et al.*⁹ dengan menggunakan

metode dilusi terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Penelitian tersebut memisahkan senyawa-senyawa kimia pada minyak atsiri *C. citratus* dan menguji tiap senyawa dengan fluconazole dengan metode mikrodilusi. Saat ini belum ada penelitian yang menguji sinergitas fluconazole dan minyak atsiri *C. citratus* secara keseluruhan dengan metode cakram difusi. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek sinergitas fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* terhadap *C. albicans* secara keseluruhan dengan metode cakram difusi.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan metode difusi cakram secara *in vitro*. Pengambilan data dilakukan di Laboratorium Parasitologi dan Laboratorium Biokimia Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Katolik Indonesia Atma Jaya (FKIK UAJ) pada bulan Juli-Desember 2019. *C. albicans* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari koleksi Departemen Parasitologi FKIK UAJ. *C. Albicans* berasal dari isolat spesimen pasien Rumah Sakit Atma Jaya yang sering dikultur ulang (*reculture*). Daun *C. citratus* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari Institut Pertanian Bogor. Metode distilasi air dilakukan untuk mendapatkan minyak atsiri *C. citratus*. Konsentrasi minyak atsiri *C. citratus* yang dipakai adalah 2,5%, 5%, 10%, dan 20% dilarutkan dengan *tween*. Media yang diguna-

kan dalam penelitian ini adalah *Mueller-Hinton Agar* (MHA) dengan glukosa 2% dan *methylen blue*.

Metode difusi cakram dilakukan untuk mendapatkan konsentrasi minimum dari konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, dan 20%. *C. albicans* dengan kekeruhan 0,5 standar Mc Farland dioleskan pada media MHA. Kemudian uji sinergitas dilakukan dengan menggunakan cakram fluconazole 25 µg direndam oleh minyak atsiri *C. citratus* dan diletakkan pada agar yang sudah diinokulasi. Kemudian inkubasi selama 1 hari dengan suhu 32°C.¹⁰ Setelah zona inhibisi terbentuk oleh kombinasi cakram fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus*, dilakukan evaluasi seperti yang sudah dilakukan oleh Boonyanugomol.¹¹ Jika zona inhibisi kombinasi lebih dari zona inhibisi obat antifungal dan zona

inhibisi minyak atsiri, maka kombinasi tersebut sinergis. Jika zona inhibisi kombinasi sama dengan zona inhibisi obat antifungal tambah zona inhibisi minyak atsiri, maka obat dan minyak atsiri tidak saling mempengaruhi. Jika zona inhibisi kombinasi lebih kecil zona inhibisi obat antifungal tambah zona inhibisi minyak atsiri, maka obat antifungal dengan minyak atsiri antagonis.

HASIL

Hasil uji efektivitas antifungal minyak atsiri *C. citratus* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, dan 20% terhadap *C. albicans* menunjukkan adanya zona inhibisi pada konsentrasi 10% dan 20%. Pada konsentrasi 10% dan 20% ditemukan terbentuknya zona inhibisi dengan rerata masing-masing 10 mm dan 16,3333 mm. (Tabel 1)

Tabel 1. Zona inhibisi *C. citratus* terhadap *C. albicans*.

<i>C. citratus</i> (%)	Hasil uji sensitivitas (mm)			
	I	II	III	Rerata
2,5	0	0	0	0
5	0	0	0	0
10	11	9	10	10
20	15	18	16	16,3333

Tabel 2. Zona inhibisi fluconazole terhadap *C. albicans*

Obat Antifungal	Hasil uji sensitivitas (mm)			
	I	II	III	Rerata
Fluconazole	18	20	19	19

Tabel 3. Zona inhibisi kombinasi fluconazole dengan *C. citratus* terhadap *C. albicans*

<i>C. citratus</i> (%)	Hasil uji sensitivitas (mm)			
	I	II	III	Rerata
2,5	23	22	19	21,3333
5	16	22	26	21,3333
10	32	30	28	30
20	46	42	45	44,3333

Hasil uji efektivitas antifungal fluconazole terhadap *C. albicans* menunjukkan adanya zona inhibisi pada setiap pengulangan dengan rata-rata 19 mm. Hasil ini menunjukkan adanya efek antifungal pada fluconazole. (Tabel 2)

Hasil uji efektivitas antifungal fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* dengan konsentrasi 2,5%, 5%, 10%, dan 20% terhadap *C. albicans* menunjukkan adanya zona inhibisi pada setiap konsentrasi. Hasil ini menunjukkan bahwa adanya pengaruh *C. citratus* dengan fluconazole dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Diameter zona inhibisi pada konsentrasi 2,5% dan 5% memiliki rata-rata diameter yang sama yaitu 21,3333 mm. Pada konsentrasi 10% terbentuk

zona inhibisi dengan rata-rata diameter 30 mm dan pada konsentrasi 20% terbentuk zona inhibisi dengan rata-rata diameter 44,3333 mm. (Tabel 3)

Pada uji sinergi, didapatkan zona inhibisi kombinasi minyak atsiri dengan fluconazole pada konsentrasi 10% dan 20% didapati lebih dari zona inhibisi fluconazole ditambah dengan zona inhibisi minyak atsiri. Nilai konsentrasi *C. citratus* 2,5% dan 5% tidak dapat dinilai karena tidak terbentuk zona inhibisi. (Tabel 1) Maka berdasarkan hasil tersebut didapati bahwa minyak atsiri *C. citratus* bekerja sinergis dengan fluconazole dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. (Tabel 4)

Tabel 4. Uji sinergitas minyak atsiri *C. citratus* dengan fluconazole terhadap *C. albicans*

Konsentrasi <i>C. citratus</i> (%)	Rerata jumlah zona inhibisi fluconazole + <i>C. citratus</i>	Rerata zona inhibisi kombinasi fluconazole dan <i>C. citratus</i>	Interpretasi
2,5	19	21,33	-
5	19	21,33	-
10	29	30	S
20	35,33	44,33	S

*S = sinergis, (-) = tidak dapat dinilai

DISKUSI

Hasil penelitian yang dilakukan oleh peneliti menunjukkan konsentrasi minimal adanya hambatan pada pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 10% dengan rata-rata diameter zona inhibisi 10 mm. Diameter zona inhibisi terbesar pada penelitian ini terdapat pada konsentrasi 20% dengan diameter 16,3333 mm.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Kusriawati ditemukan bahwa minyak atsiri *C.*

citratus pada konsentrasi 5% dapat menginhibisi aktivitas *C. albicans* dan dapat menghasilkan zona inhibisi dengan diameter 12,1125 mm.⁸ Penelitian tersebut menggunakan metode distilasi uap, berbeda dengan peneliti yang menggunakan metode distilasi air. Metode distilasi air dipilih oleh peneliti karena berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Slamet, *et al.*, metode distilasi air menghasilkan rendemen yang lebih tinggi dibandingkan distilasi uap dan kukus.¹²

Rendemen menunjukkan jumlah (kuantitas) minyak atsiri yang dihasilkan dari proses ekstraksi. Rendemen yang dihasilkan pada metode distilasi uap sebanyak 0,15% sedangkan rendemen yang dihasilkan metode distilasi air sebanyak 0,49%. Berdasarkan penelitian yang sama metode distilasi uap menghasilkan citral yang lebih banyak daripada distilasi air, namun perbandingannya tidak terlalu jauh. Metode distilasi uap menghasilkan citral sebanyak 74,99% dan metode distilasi air menghasilkan 71,90%. Berdasarkan penelitian oleh Abe, *et al.*, komponen citral dalam minyak atsiri *C. citratus* merupakan komponen yang paling berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini yang mungkin dapat menyebabkan perbedaan hasil dengan peneliti.¹³

Afrina, *et al.* juga melakukan penelitian efek antifungal *C. citratus* terhadap pertumbuhan *C. albicans*.¹⁴ Konsentrasi inhibisi minimum yang didapatkan menurut penelitian tersebut adalah pada konsentrasi 25%. Metode ekstraksi yang dilakukan adalah dengan metode maserasi dengan etanol 96% berbeda dengan metode yang dilakukan oleh peneliti. Metode maserasi memiliki keunggulan karena lebih mudah untuk dilakukan, namun metode ini membutuhkan waktu yang lebih lama dan pelarut yang lebih banyak dibandingkan dengan metode distilasi yang menggunakan pemanasan, sehingga metode maserasi kurang efisien.¹⁵ Menurut penelitian yang dilakukan oleh Salma, *et al.*, citral yang dihasilkan oleh *C. citratus* dengan metode maserasi hanya 37,03%, hal ini mungkin

menyebabkan perbedaan hasil konsentrasi minimum dengan peneliti.¹⁶

Hasil penelitian yang dilakukan oleh beberapa peneliti di atas menunjukkan adanya bahwa *C. citratus* dapat bersifat sebagai antifungal dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hasil penelitian yang dilakukan peneliti menunjukkan konsentrasi minimal kombinasi fluconazole dengan *C. citratus* menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 2,5% dengan rata-rata diameter zona inhibisi 21,3333 mm. Zona inhibisi terbesar terdapat pada konsentrasi 20% dengan rata-rata diameter 44,3333 mm. Rata-rata zona inhibisi kombinasi fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* memiliki diameter yang lebih besar dibandingkan dengan jumlah diameter zona inhibisi fluconazole dan diameter zona inhibisi minyak atsiri *C. citratus* sendiri.

Menurut penelitian yang dilakukan Khan, *et al.*, fluconazole teruji bersinergi dengan minyak atsiri *C. citratus* dan senyawa citral dalam menghambat pertumbuhan *Aspergillus fumigatus* dan *Trichophyton rubrum* yang resisten dengan obat golongan azol.¹⁷ Pada penelitian tersebut, kombinasi dengan citral dapat menurunkan MIC fluconazole 8 kali lipat. Fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* juga memiliki efek sinergitas terhadap pertumbuhan *C. albicans*. Menurut penelitian yang sudah dilakukan oleh Pandurang, *et al.*, komponen-komponen *C. citratus* seperti citral, nerol, geraniol, linalool, cinole, terpiolene, ionone, limonene, dan geranyl memiliki efek sinergis dengan flucona-

zole dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.⁹ Komponen-komponen minyak atsiri tersebut bekerja sinergis dengan fluconazole dalam menghambat terbentuknya biofilm *C. albicans*.

Berdasarkan penelitian di atas, kombinasi obat dengan produk herbal meningkatkan potensinya dalam menghambat pertumbuhan jamur dibandingkan dengan monoterapi. Penggunaan dengan kombinasi juga dapat menurunkan angka resistensi dan meminimalisir toksisitas obat yang disebabkan oleh dosis obat yang tinggi.¹⁸

Peneliti menggunakan metode difusi cakram yang memiliki kekurangan karena tidak dapat memastikan berapa banyak senyawa aktif minyak atsiri yang masuk ke dalam cakram. Namun metode ini dipilih peneliti karena lebih mudah dan lebih murah untuk dilakukan. Keterbatasan lain yang dialami peneliti adalah tidak dilakukannya uji dilusi. Uji dilusi, mikrodilusi maupun makrodilusi, dapat menentukan konsentrasi minimum inhibisi (MIC) sehingga hasil yang diperoleh lebih spesifik. Peneliti tidak melakukan metode dilusi dikarenakan metode dilusi cukup memakan waktu dan lebih rumit.¹⁹

SIMPULAN

Terdapat efek sinergitas antifungal fluconazole dengan minyak atsiri *C. citratus* terhadap *C. albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

1. AG M, AH G. Primary care medicine: Office evaluation and management of the adult patient. Wolters Kluwer Health. 2009; 802–3.

2. CDC. Candidiasis [Internet]. 2019 [cited 2019 Oct 29]. Available from: <https://www.cdc.gov/fungal/disease/candidiasis/index.html>
3. Pappas PG, Kauffman CA, Andes DR, Clancy CJ, Marr KA, Ostrosky-Zeichner L, et al. Clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2016;62(4):e1–50.
4. Berkow EL, Lockhart SR. Fluconazole resistance in *Candida* species: a current perspective. Infect Drug Resist. 2017;10:237–45.
5. Bongomin F, Gago S, Oladele RO, Denning DW. Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. J Fungi [Internet]. 2017 [cited 2019 Oct 29];3(4). Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5753159/>
6. Hoofnagle J. Fluconazole. In: LiverTox: Clinical and research information on drug-induced liver injury [Internet]. Bethesda (MD): National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases; 2012 [cited 2019 Nov 19]. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548300/>
7. Shah G, Shri R, Panchal V, Sharma N, Singh B, Mann AS. Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). J Adv Pharm Technol Res. 2011;2(1):3–8.
8. Kusriawati D. Uji efektivitas distilasi uap minyak atsiri serai dapur (*Cymbopogon citratus*) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* secara in vitro dengan metode difusi cakram. Univ Brawijaya [Internet]. 2014; Available from: <http://repository.ub.ac.id/124440/>
9. Pandurang M, Devrao H, Ganpatrao B, Mohan K. Lemongrass oil components synergistically activates fluconazole against biofilm forms of *Candida albicans*. J Bacteriol Mycol. 2018;8.
10. CLSI. Method of antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeast 3rd ed. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018
11. Boonyanugomol W, Krairiwattana K, Rukseree K, Boonsam K, Narachai P. In vitro synergistic antibacterial activity of essential oil from *Zingiber cassumunar* Roxb against extensively drug-

- resistant *Acinetobacter baumannii* strains. *J Infect Public Health*. 2017.
12. Slamet, Supiyanto, Riyanto. Studi perbandingan perlakuan bahan baku dan metode distilasi terhadap rendemen dan kualitas minyak atsiri sereh dapur (*Cymbopogon citratus*). *J Online Univ Gajah Mada*. 2013.
 13. Abe S, Sato Y, Inoue S, Ishibashi H, Maruyama N, Takizawa T, et al. Anti-*Candida albicans* activity of essential oils including Lemongrass (*Cymbopogon citratus*) oil and its component, citral. *Nihon Ishinkin Gakkai Zasshi Jpn J Med Mycol*. 2003;44(4):285–91.
 14. Afrina, Nasution A, Rahmania N. Konsentrasi hambat dan bunuh minimum ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap *Candida albicans*. *Cakradonya Dent J*. 2017.
 15. Zhang Q-W, Lin L-G, Ye W-C. Techniques for extraction and isolation of natural products: a comprehensive review. *Chin Med [Internet]*. 2018 [cited 2020 Jan 1];13. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5905184/>
 16. Salma, Yunus M. An analysis and comparison of two essential oils extraction methodologies for lemongrass (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf). *Univ Malays Perlis*. 2013.
 17. Khan MSA, Ahmad I. In vitro antifungal activity of oil of *Cymbopogon citratus* and citral alone and in combination with flucanazole against azole-resistant strains of *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Pharmacogn J*. 2013;3(3):6.
 18. Ahmad I, Owais M, Shadid M, Aqil F. Combinational antifungal therapy and recent trends in drug discovery. *Springer Verl*. 2010;213–40.
 19. Kumar R, Shrivastava SK, Chakraborti A. Comparison of broth dilution and disc diffusion method for the antifungal susceptibility testing of *Aspergillus flavus*. *Am J Biomed Sci*. 2010;2