

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kaki merupakan salah satu bagian tubuh yang dihuni oleh mikroorganisme yang mana sangat beragam dikarenakan kontak secara teratur dengan tanah. Relung mikroorganisme pada kaki ditentukan oleh ketebalan kulit, fitur anatomi (lipatan kulit), distribusi kelenjar keringat, pH kulit, dan ketersediaan oksigen (Adamczyk *et al.*, 2020). Faktor penting juga yang mempengaruhi mikroorganisme pada kaki adalah *hygiene* (Adamczyk *et al.*, 2020) yang mana berkaitan dengan sifat pekerjaan yang dilakukan (Steglinska *et al.*, 2019) dan kebiasaan berjalan dengan kaki telanjang sehingga terkena tanah yang merupakan sumber mikroorganisme. Keringat pada kaki memberikan kondisi yang menguntungkan bagi pertumbuhan dan perkembangbiakan mikroorganisme (Revathi *et al.*, 2015), dimana sekitar 250.000 kelenjar keringat pada kedua kaki memproduksi keringat meskipun selama periode aktivitas yang tidak berat. Penggunaan sepatu tertutup selama berjam-jam dan suhu bumi yang tinggi (Tiran dan Nastiti, 2014; Ashfia dkk., 2019) dapat meningkatkan produksi keringat yang memberikan keuntungan bagi perkembangan mikroorganisme, salah satunya adalah fungi.

Fungi merupakan kelompok mikroorganisme eukariotik yang bersifat heterotrofik dan umumnya aerobik, dapat menyebabkan penyakit superfisial, kulit, subkutan atau sistemik. Fungi dapat tumbuh sebagai khamir yaitu fungi mikroskopis yang terdiri dari sel-sel soliter yang berkembang biak dengan tunas, dan sebagai kapang yaitu fungi yang ditandai dengan dengan perkembangan hifa menghasilkan karakteristik koloni yang terlihat di laboratorium (McGinnis and Tyring, 1996).

Berdasarkan penelitian Steglinska *et al.* (2019), hasil isolasi mikroorganisme dari permukaan kulit kaki dengan cara swab yang ditemukan dalam persentase yang besar, yaitu bakteri *Staphylococcus haemolyticus* (90%), *Staphylococcus hominis* (52,5%), dan *Micrococcus luteus* (22,5%), fungi *Aspergillus fumigatus* (25%), *Penicillium glabrum* (17,5%), *Aspergillus candidus* (12,5%) dan *Aspergillus niger* (12,5%), yeast *Naganishia diffluens* (17,5%) dan *Wickerhamomyces anomalus* (15%). Selain *Penicillium glabrum*, juga ditemukan spesies *Penicillium* lain meskipun dalam jumlah yang sedikit yaitu *P. citrinum*, *P. corylophilum*, *P. funiculosum*, *P. sclerotiorum*.

Pada penelitian Rafiq *et al.* (2020), dilakukan isolasi mikrobiologi pada kaus kaki anak sekolah dan diperoleh isolat bakteri dan fungi. Isolat bakteri yang diperoleh berupa bakteri Gram positif cocci (*Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus* negatif koagulase), bakteri Gram negatif batang (*Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Alcaligenes faecalis*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*, *E. coli*, *Citrobacter freundii*), bakteri Gram positif batang (*Bacillus polymyxa*, *Bacillus stearothermophilus*, *Bacillus firmus*, *Bacillus cereus*) dan fungi (*Rhizopus* spp, *Mucor*, *Penicillium* spp, *Aspergillus niger*). Dari penelitian tersebut dapat disimpulkan *Penicillium* merupakan salah satu fungi (Kapang) yang ditemukan pada permukaan kulit kaki. *Penicillium* umumnya dikenal sebagai penghasil antibiotik beta-laktam yaitu penisilin, dimana spesies yang menghasilkan antibiotik tersebut adalah *P. chrysogenum*.

Penicillium juga merupakan spesies patogen yang memberikan efek negatif bagi kesehatan. Egbuta *et al.* (2017) menyatakan efek negatif ini ditunjukkan dengan diproduksi metabolit sekunder yang dikenal sebagai mikotoksin yang dapat memberikan efek toksik bagi manusia atau hewan. Spesies patogen diantaranya yaitu *P. citrinum* yang memproduksi

mikotoksin *ochratoxin* dan *citrinin* yang berkaitan dengan beberapa infeksi dan penyakit yaitu keratitis, asma dan pneumonia. Salah satu kasus pneumonia yang disebabkan oleh *P. citrinum*, yaitu laki-laki berusia 60 tahun menjalani kemoterapi untuk multiple myeloma tahap II datang ke rumah sakit dengan keluhan batuk, hemoptisis, demam dan mencret. Sampel dahak dikumpulkan dan dikultur kemudian isolat yang diperoleh diidentifikasi sebagai *P. citrinum* (Beena, Gupta, and Kindo, 2021). *Penicillium marneffe* adalah patogen oportunistik ketiga yang paling umum dengan individu yang menderita AIDS di daerah endemik (Egbuta *et al.*, 2017), dimana daerah endemik infeksi *Penicillium marneffe* yaitu Asia Tenggara, Cina Selatan dan India Timur Laut (Qin *et al.*, 2020).

Sedangkan *P. digitatum*, *P. expansum*, *P. chrysogenum* merupakan spesies *Penicillium* patogen yang kurang umum. *Penicillium digitatum* merupakan patogen tanaman yang sering menyebabkan penyakit jamur pasca panen pada jeruk yang disebut *green mould*, selain itu juga *Penicillium* ini dilaporkan dapat mengakibatkan pneumonia fatal (Oshikata *et al.*, 2013). *P. expansum* dikenal karena berperan dalam proses pembusukan makanan, diantaranya menyebabkan pembusukan pada jeruk dan anggur (Mahlo *et al.*, 2016). *Penicillium* ini memproduksi metabolit toksik antara lain, yaitu *citrinin*, *ochratoxin A*, patulin, penitrem A, dan *rubratoxin B* (Andersen, Smedsgaard, and Frisvad, 2004). Untuk mengatasi dampak negatif yang disebabkan oleh *Penicillium* dapat diatasi dengan penggunaan antifungi. Antifungi merupakan obat atau senyawa yang dapat membunuh fungi (*Fungicidal*) atau menghambat pertumbuhan fungi (*Fungistatic*), dimana dapat diperoleh secara sintesis dan dari bahan alam.

Tumbuhan secara luas telah dikenal manfaatnya bagi manusia dibidang kesehatan. Tumbuhan obat adalah tumbuhan yang salah satu atau seluruh bagiannya seperti daun, buah, bunga, akar, rimpang, batang (kulit)

dan getah (resin) mengandung zat aktif yang berkhasiat bagi kesehatan yang dapat dimanfaatkan sebagai penyembuh penyakit (Sada dan Tanjung, 2010). Sejak dahulu, masyarakat Indonesia telah menggunakan tumbuhan sebagai obat yang dapat menyembuhkan berbagai penyakit yang masih dikelola secara tradisional dan diwariskan turun-temurun dari generasi ke generasi. Tumbuhan obat dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan jika seseorang tidak ingin mengkonsumsi obat-obat sintetik karena memberikan efek samping yang lebih besar, kesulitan ekonomi (Diniarti dan Iljanto, 2017), dan resistensi terhadap obat tertentu (Sahakhiz *et al.*, 2012). Dikarenakan insiden resistensi yang meningkat dan obat herbal yang diketahui memiliki efek samping yang minimal, relatif murah, dan dapat dengan mudah ditemukan di alam, maka sudah banyak produk alam yang diteliti aktivitasnya sebagai antimikroba khususnya sebagai antifungi, diantaranya adalah biji kopi robusta dan daun mint.

Biji kopi robusta mengandung kafein, fenol, flavonoid, alkaloid (Purwanto *et al.*, 2020) dan asam klorogenat (Martínez, G. *et al.*, 2017) sebagai senyawa bioaktif yang memiliki aktivitas antifungi. Kafein menghambat sintesis membran plasma fungi dan menyebabkan lisis pada fungi. Fenol dapat berinteraksi dengan protein membran fungi dan menyebabkan perubahan struktural dan fungsional. Flavonoid menghambat pertumbuhan fungi dengan beberapa mekanisme yaitu mendisrupsi membran plasma, induksi disfungsi mitokondria, dan menghambat pembentukan dinding sel, pembelahan sel, sintesis RNA dan protein, dan sistem pemompaan yang dimediasi oleh efflux. Alkaloid memiliki peran dalam menghambat sintesis DNA fungi (Purwanto *et al.*, 2020). Asam klorogenat memiliki aktivitas antifungi dengan mendisrupsi membran sel (Sung and Lee, 2010). Kadar kafein, fenol dan flavonoid lebih tinggi pada kopi robusta dibandingkan kopi arabika (Wijaya, Ridawan and Budi, 2016; Purwanto *et*

al., 2020). Berdasarkan penelitian Purwanto *et al.* (2020), *Steeping Freeze-dried Robusta Ground Coffee* (SFRGC) memiliki aktivitas antifungi pada *Candida albicans* dengan konsentrasi 25% (g mL⁻¹) diameter zona hambat 9,19 mm±0,63 ab, 50% (g mL⁻¹) diameter zona hambat 10,43 mm±0,63 ab, 75% (g mL⁻¹) diameter zona hambat 11,48 mm±0,71 ab, 100% (g mL⁻¹) diameter zona hambat 12,88 mm ± 1,14.

Hasil menunjukkan adanya aktivitas antifungi pada setiap konsentrasi (P<0.05). Konsentrasi 100% menunjukkan aktivitas antifungi yang sama kuatnya dengan Nistatin sebagai kontrol positif, dimana DHP yang terbentuk dari Nystatin yaitu 12,95 mm±0,93. Metha *et al* (2014) menyatakan bahwa ekstrak *aqueous* kopi (*Coffea canephora*) efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Pada penelitian ini dilakukan uji penghambatan pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 5%, 10%, 15% dan 20%. Hasil menunjukkan ekstrak *aqueous* biji kopi (*Coffea canephora*) efektif menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 15% diameter zona hambat 15 mm dan konsentrasi 20% diameter zona hambat 20 mm (P=0.00). Meskipun kedua konsentrasi tersebut memberikan khasiat antifungi, tetapi nilainya tidak sebanding dengan klorheksidin 0,2% sebagai kontrol positif dan *fluconazole* sebagai standar emas. Nilai daerah hambatan pertumbuhan klorheksidin 0,2% yaitu 25 mm dan *fluconazole* yaitu 24 mm tidak berbeda jauh dengan nilai daerah zona hambat ekstrak *aqueous* biji kopi (*Coffea canephora*) konsentrasi 20%. Sedangkan nilai daerah zona hambat konsentrasi 20% hampir setengah dari nilai daerah zona hambat kontrol positif dan standar emas.

Minyak atsiri daun mint memiliki aktivitas biologis terhadap berbagai organisme, termasuk fungi, bakteri, nematoda dan hama serangga (Moghaddam *et al.*, 2013). Komponen utama minyak atsiri adalah *menthol* dan *menthone*, selain itu komponen lain yaitu *menthofuran*, *β-phellandrene*,

isomenthone, *menthol acetate*, *pulegone*, β -*caryophyllene*, *neomenthol*, *1,8-cineole*, *germacrene D*, *trans-sabinene hydrate* dan β -*pinene* (Moghaddam *et al.*, 2013; Tullio *et al.*, 2019). Hasil penelitian Tullio *et al.* (2019), menunjukkan bahwa minyak atsiri memberikan aktivitas fungisida terhadap khamir dan aktivitas fungistatik terhadap dermatofita. Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa minyak atsiri *M. piperita* L memiliki aktivitas penghambatan pertumbuhan terhadap beberapa spesies *Penicillium* (Felšöciová, Vukovic, and Kačániová, 2020). Penelitian ini berupa uji aktivitas antifungi minyak atsiri dari 10 tanaman salah satu diantaranya adalah *M. piperita* L., terhadap 10 spesies *Penicillium* yaitu *Penicillium brevicompactum*, *P. citrinum*, *P. crustosum*, *P. expansum*, *P. funiculosum*, *P. glabrum*, *P. chrysogenum*, *P. oxalicum*, *P. polonicum* dan *Talaromyces purpurogenus* dengan konsentrasi dari setiap tanaman yaitu 0.75, 0.50, 0.25 dan 0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$.

Mentha piperita L menghasilkan aktivitas antifungi yang lemah terhadap *Penicillium brevicompactum* dengan rentang daerah hambatan pertumbuhan 1,67 \pm 0,82 mm hingga 4,50 \pm 0,55 mm jika dibandingkan dengan *Lavandula angustifolia* Mill. yang menghasilkan efek antifungi yang kuat dimana zona hambat berkisar antara 10,33 \pm 3,67 mm hingga 19,67 \pm 0,82 mm. Konsentrasi 0,75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ *M. piperita* L memberikan efek antifungi yang sedang terhadap *Penicillium crustosum* dibandingkan *Carum carvi* L., *Foeniculum vulgare* L. dan *Satureja hortensis* L. yang pada konsentrasi 0,75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ menghasilkan efek antifungi yang kuat (6,17 \pm 1,33 mm hingga 6,67 \pm 3,14 mm). Untuk *Penicillium expansum* sangat sensitif terhadap minyak atsiri *M. piperita* L pada konsentrasi 0,75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ dengan nilai zona hambat 9.83 \pm 2.56 mm. *Mentha piperita* L memberikan efek penghambatan pertumbuhan terhadap *Penicillium funiculosum*, tetapi hasil

menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi, efek penghambatan pertumbuhan semakin menurun.

Dibandingkan *Lavandula angustifolia* Mill. yang memiliki aktivitas antifungi yang kuat pada konsentrasi 0.75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (15.50 ± 1.38 mm), minyak atsiri dari *Mentha piperita* L menghasilkan efek penghambatan yang lemah terhadap *Penicillium glabrum* pada konsentrasi 0.75 $\mu\text{L}/\text{mL}$ (0.83 ± 0.98 mm) dan pada konsentrasi 0.125 $\mu\text{L}/\text{mL}$ tidak menghasilkan aktivitas antifungi. Pada umumnya *Mentha piperita* L dapat menghasilkan efek antifungi terhadap spesies *Penicillium* yang diuji, dengan kekuatan penghambatan yang berbeda-beda, kecuali *Penicillium citrinum* yang tidak mengalami penghambatan oleh minyak atsiri *Mentha piperita* L. Memiliki aktivitas yang sama yaitu sebagai antifungi, kombinasi biji kopi robusta dan daun mint diharapkan memberikan efek sinergis dari setiap metabolit sekunder yang terkandung. Efek sinergis adalah interaksi dua atau lebih agen untuk menghasilkan efek gabungan yang lebih besar dibandingkan efek individualnya (Zhou *et al.*, 2016). Dari penelitian terdahulu, belum pernah dilakukan uji aktivitas antifungi campuran ekstrak biji kopi robusta dan ekstrak daun mint terhadap *Penicillium* sp.

Untuk memberikan efek sebagai antifungi, senyawa yang memiliki aktivitas antifungi dipisahkan dari jaringan tumbuhan menggunakan pelarut yang selektif, dimana proses ini disebut ekstraksi (Rasul, 2014). Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dimana bahan berupa serbuk kasar bagian tanaman ditempatkan dalam wadah kemudian ditambahkan pelarut hingga benar-benar menutupi bahan. Lalu wadah tersebut ditutup dan dibiarkan dalam waktu yang lama (Bervariasi dari jam hingga hari) sambil diaduk secara berkala (Rasul, 2014; Abubakar and Haque, 2020). Keuntungan dari metode ini adalah sederhana dimana alat yang digunakan tidak rumit, hemat biaya dan energi (Rasul, 2014), dan cocok untuk bahan

tanaman yang termolabil (Abubakar and Haque, 2020). Adapun pelarut yang digunakan dalam metode ini adalah etanol 96% dan etil asetat. Pemilihan Etanol 96% sebagai pelarut karena memiliki sifat polar, tidak beracun, bersifat universal yang cocok untuk mengekstraksi sebagian besar golongan senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, minyak atsiri, glikosida, tannin, saponin, antrakinon, steroid dan flavonoid, ekonomis (Tanauma, Citraningtyas, dan Lolo, 2016; Wicaksono dan Ulfah, 2017), menetralkan enzim-enzim yang dapat merusak metabolit sekunder (Wicaksono dan Ulfah, 2017), dan mudah menguap (Mamede and Pastore, 2005).

Etanol merupakan alkohol alifatik dengan daya ekstraksi besar untuk semua bahan alam berbobot rendah seperti alkaloid, flavonoid, saponin dan juga dapat digunakan untuk ekstraksi tanaman yang bahan aktifnya belum diketahui dengan baik (Wijaya, Setiawan, dan Purnama, 2019). Dari uraian di atas, etanol dapat menarik golongan senyawa pada biji kopi robusta yang memiliki aktivitas antifungi yaitu alkaloid, flavonoid dan saponin. Sedangkan etil asetat bersifat semipolar sehingga diharapkan dapat menarik senyawa yang bersifat polar dan non-polar (Asmah *et al.*, 2020), toksisitas rendah (Piotrowski and Kubica, 2021), mudah menguap sehingga mudah dihilangkan dengan proses penguapan (Putri, Warditiani, dan Larasanty, 2013). Menurut hasil penelitian Lestyningrum, Rukmi, and Pujiyanto (2018), ekstrak etil asetat daun mint memiliki aktivitas antifungi yang lebih kuat dibandingkan etanol berdasarkan diameter DHP yang terbentuk dari masing-masing konsentrasi yang digunakan. Konsentrasi 40%, 60%, dan 80% ekstrak etil asetat daun mint secara berurutan membentuk diameter DHP yaitu 7,48 mm, 8,58 mm, dan 9,95 mm, sedangkan ekstrak etanol konsentrasi 40%, 60%, dan 80%

secara berurutan membentuk diameter DHP yaitu 6,45 mm, 6,9 mm, dan 7,65 mm.

Selain itu berdasarkan penelitian yang dilakukan Shalayer *et al.*, 2016 ekstrak etil asetat daun mint memiliki aktivitas antibakteri yang lebih kuat berdasarkan nilai MIC dan MBC yang diujikan pada beberapa isolat bakteri, kemudian diikuti oleh ekstrak kloroform, etanol, dan methanol. Formula yang digunakan adalah 1:1 karena beberapa penelitian menunjukkan aktivitas antifungi yang baik, diantaranya kombinasi 1:1 ekstrak *Saraca* dan *Eucalyptus citriodora* (Tiwari *et al.*, 2017) dan kombinasi 1:1 ekstrak daun dan batang bawah/*rootstock* dari tanaman *Lamium tenuiflorum* (Dulger, 2008). Berdasarkan uraian diatas, maka ingin dilakukan uji aktivitas antifungi campuran ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*) terhadap *penicillium* sp yang diisolasi dari kaki, dimana penelitian ini bertujuan memberikan data ilmiah terkait kemampuan campuran ekstrak kopi robusta dan daun mint dengan perbandingan 1:1 sebagai antifungi sehingga dapat dikembangkan penggunaan bahan alam sebagai antifungi khususnya infeksi yang disebabkan oleh *Penicillium* sp.

1.2 Rumusan Masalah

1. Apakah campuran ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*) memiliki aktivitas antifungi terhadap isolat *Penicillium* sp?
2. Apa saja golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*)?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan apakah campuran ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*) memiliki aktivitas antifungi terhadap isolat *Penicillium* sp.
2. Mengetahui kandungan golongan senyawa pada ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*).

1.4 Hipotesis Penelitian

1. Campuran ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*) memiliki aktivitas antifungi terhadap isolat *Penicillium* sp.
2. Kandungan golongan senyawa pada ekstrak etanol 96% biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan ekstrak etil asetat daun mint (*Mentha piperita*) diketahui.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Memberikan data ilmiah tentang aktivitas antifungi campuran ekstrak biji kopi robusta (*Coffea canephora*) dan daun mint (*Mentha piperita*) terhadap *Penicillium* sp.
2. Mengembangkan penggunaan tanaman obat di bidang mikrobiologi khususnya sebagai antifungi terhadap infeksi yang disebabkan oleh *Penicillium* sp.