

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. Minyak Atsiri

Minyak atsiri digunakan sebagai bahan baku di berbagai industri seperti industri parfum, kosmetika, farmasi, makanan, minuman, produk kebersihan, dan agrikultur. Selain itu, minyak atsiri juga digunakan untuk terapi, aromatik, parfum, dan keperluan spiritual. Ali dkk (2015) mengatakan bahwa minyak atsiri dan komponen penyusunnya memiliki beragam manfaat bagi manusia. Untuk mengidentifikasi senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri, dilakukan skrining fitokimia dengan cara memisahkan antara bahan alam yang memiliki kandungan fitokimia tertentu dan yang tidak memiliki. Skrining fitokimia dilakukan dengan menggunakan pereaksi warna dan memilih pelarut dan metode ekstraksi yang sesuai (Kristianti dkk, 2008). Uji fitokimia dapat dilakukan dengan cara melarutkan 1 ml larutan uji, kemudian dituangkan ke dalam cawan keramik dan diuapkan pelarutnya hingga terbentuk residu. Hasil positif dari uji kimia pada minyak atsiri biasanya ditunjukkan dengan residu berbau yang dihasilkan (Gunawan dan mulyani, 2004).

Dalam jurnal yang ditulis oleh Hanief dkk pada tahun 2013, dijelaskan beberapa sifat fisika dari minyak atsiri. Pertama, warna minyak atsiri yang baru dipisahkan biasanya tidak berwarna, tetapi warnanya dapat berubah mengikuti proses penguapan dan oksidasi. Perubahan ini termasuk hijau, coklat, kuning, biru atau merah. Kedua, rasa minyak atsiri bervariasi, mulai dari manis hingga pahit. Ketiga, bau dari setiap jenis minyak atsiri memiliki aroma yang khas dan dapat merangsang indra penciuman. Keempat, berat jenis minyak atsiri bervariasi antara 0,696-1,188 (kg/L) pada suhu 15°C, dan memiliki nilai koreksi antara 0,00042-0,00084 untuk setiap kenaikan 1°C. Kelima, meskipun kurang larut dalam air, minyak atsiri larut dalam pelarut organik termasuk alkohol, eter, kloroform, asam asetat pekat dan pelarut lain dengan komposisi organik tingkat tinggi (tetapi kurang larut dalam

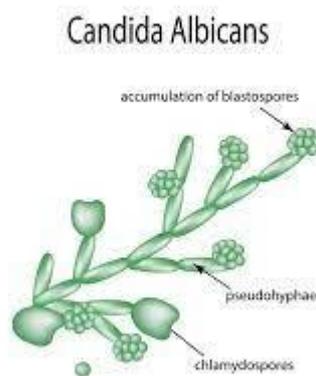
alkohol encer (<70%)). Keenam, minyak atsiri mampu berfungsi sebagai pelarut lemak, minyak, resin, kapur barus, belerang, dan lainnya.. Ketujuh, indeks bias dari minyak atsiri berkisar antara 1,3-1,7 pada suhu 20°

## B. *Candida albicans*

Penyakit yang disebut mikosis, banyak disebabkan oleh fungi. Infeksi yang terjadi dapat bersifat superfisial, yaitu infeksi pada permukaan kulit dan sistemik yang terjadi pada seluruh tubuh. Sehingga senyawa tersebut dapat berpotensi toksik adalah ergosterol yaitu suatu senyawa golongan steroid yang dapat menyusun dinding sel fungi (Sukandar dkk., 2008).

*C. albicans* adalah penyebab kandidiasis, yaitu penyakit yang berhubungan dengan selaput lendir mulut, vagina, dan sistem pencernaan. Banyak infeksi yang bersifat internal, hal ini dikarenakan jamur sudah menghuni tubuh penderita, terutama di usus. (Sukandar dkk., 2008) Alexander, dkk., 2000)

Gambar 2.1. *C. albicans*



### 1. Morfologi dan identifikasi

Dalam jurnal yang ditulis oleh Madigan dkk Pada tahun 2002, informasi yang diberikan bahwa sel jamur memiliki berbagai bentuk,

antara lain bulat, lonjong, atau elips. Koloni pada media padat memiliki permukaan agak cembung, licin, licin, atau berlipat, berwarna kekuningan, dan memiliki bau yang mirip dengan ragi. Ukuran koloni tergantung pada umur cendawan, dan pada tepi koloni terlihat hifa semu yang menembus media. Dalam cairan yang dipertahankan pada suhu yang lebih rendah, jamur biasanya tumbuh di bagian bawah wadah. Selain itu, *C. albicans* adalah penghuni umum mukosa saluran pencernaan, saluran pernapasan, vagina, uretra, kulit, dan kuku tangan dan kaki. Meskipun demikian, jamur ini dapat menjadi patogen jika daya tahan tubuh menurun baik secara lokal maupun sistemik, seperti pada pasien kanker yang menerima kemoterapi, pasien dengan HIV-AIDS, atau bayi baru lahir. (Berman and Sudbery, 2002; Grubb dkk., 2008).

*C. albicans* akan tumbuh di dasar tabung dalam medium cair seperti ekstrak pepton. Jamur ini mampu tumbuh pada suhu 37°C baik pada kondisi aerob maupun anaerob. Pada kondisi anaerob, waktu generasi *C. albicans* menjadi lebih lama, yaitu sekitar 248 menit, dibandingkan dengan pertumbuhan aerob yang hanya memerlukan waktu generasi 98 menit. Selain itu, pertumbuhan *C. albicans* akan lebih cepat jika ditempatkan pada kondisi asam daripada pH normal atau alkali. (Biswas and Chaffin, 2005; Tortora dkk., 2004).

## **2. Pertumbuhan dan Reproduksi *C. albicans***

*C. albicans* melakukan reproduksi secara aseksual melalui pembentukan spora yang langsung terbentuk dari hifa tanpa peleburan inti, dengan cara membentuk tunas. Spora *C. albicans* disebut juga Blastospora atau sel ragi. *C. albicans* membentuk pseudohifa yang sebenarnya merupakan rangkaian blastospora yang dapat bercabang-cabang. Oleh karena itu, dikatakan bahwa *C. albicans* memiliki kemiripan dengan ragi atau yeast-like, untuk membedakannya dengan fungi yang hanya membentuk blastospora. (Brooks dkk., 2007).

### 3. Patogenesitas dan Virulensi *C. albicans*

Patogenesis adalah kemampuan mikroorganisme untuk menginfeksi sel inang dan menyebabkan penyakit akibat interaksi antara patogen dengan sel inang melalui ekspresi faktor-faktor tertentu. Virulensi adalah kemampuan patogen untuk berkembang biak dan menyebabkan kerusakan pada inangnya (Casadevall and Pirofski, 1999). Penentu patogenesitas suatu mikroorganisme disebut faktor virulensi. Kemampuan jamur untuk tumbuh pada suhu 37°C dan pH fisiologis merupakan salah satu faktor virulensi pada jamur yang menginfeksi jaringan dalam. Sedangkan bentuknya yang dapat berubah dari bentuk ragi dan hifa sangat penting pada patogenesitas jamur dimorfik. Patogenesis suatu mikroorganisme merupakan fenomena yang kompleks sehingga diperlukan lebih dari satu macam faktor virulensi agar mikroorganisme tersebut bisa menjadi patogen. (Khan dkk., 2010).

Mekanisme patogenesitas *C. albicans* dimulai dari perlekatan sel-sel candida ke jaringan inang. Perlekatan ini merupakan fenomena yang kompleks yang melibatkan banyak faktor dan melibatkan berbagai tipe adhesin yang mengubah permukaan sel. Adanya kontak antara sel-sel candida dengan sel inang memicu perubahan yeast menjadi hifa dan pertumbuhannya diperantarai oleh thigmotropism. Selanjutnya terjadi endositosis sel jamur ke dalam sel inang yang dimediasi oleh invasion. Kemudian terjadi mekanisme invasi kedua yaitu penetrasi aktif sel jamur ke dalam sel inang yang terjadi karena difasilitasi oleh adhesi, kekuatan fisik dan sekresi hidrolase. Perlekatan sel ragi ke permukaan abiotik (misalnya kateter) atau biotik (sel inang) dapat menimbulkan pembentukan biofilm. Fenotip switching juga diperkirakan mempengaruhi biofilm *C. albicans*. Selain faktor virulensi tersebut, beberapa karakteristik kecocokan (fitness traits) juga mempengaruhi patogenesitas jamur. Yang termasuk fitness traits adalah respon stress yang kuat yang

dimediasi oleh heat shock protein (Hsp), auto induksi pembentukan hifa melalui penyerapan asam amino, ekskresi ammonia (NH<sub>3</sub>) dan alkalinisasi ekstraseluler, fleksibilitas metabolisme dan penyerapan berbagai senyawa seperti karbon (C) dan nitrogen (N), penyerapan logam penting misalnya besi (Fe), seng (Zn), tembaga (Cu) dan mangan (Mn). (Ramage dkk., 2005; Mayer dkk., 2013).

### **C. Biologi *C. albicans***

*C. albicans* dapat tumbuh pada suhu 37°C, baik dalam keadaan ada oksigen (aerob) maupun tidak ada oksigen (anaerob). Saat tumbuh tanpa oksigen, *C. albicans* membutuhkan waktu lebih lama untuk berkembang biak, yaitu 248 menit dibandingkan dengan 98 menit saat tumbuh dengan oksigen. Walaupun *C. albicans* dapat tumbuh di media padat, namun pertumbuhannya lebih cepat pada media cair yang digoyang pada suhu 37°C dan pada lingkungan yang lebih asam. Pada media khusus, *C. albicans* berbentuk bulat atau oval dengan ukuran (3,5-6) x (6-10) µm dan koloninya berwarna krem, agak mengkilap, dan halus. Bentuknya dapat berubah menjadi filamen (pseudomycelium) yang memungkinkannya untuk membentuk chlamydozoora. Kemampuan *C. albicans* untuk tumbuh pada suhu tubuh memungkinkannya untuk menginfeksi sel hewan dan manusia.

### **D. Definisi *Biofilm***

*Biofilm* merupakan kumpulan sel mikroba yang menempel pada suatu permukaan dan dilapisi oleh matriks Extracellular Polymeric Substance (EPS) yang dihasilkannya sendiri. *Biofilm* juga dapat menunjukkan perubahan fenotip seperti pergantian tingkatan perkembangan dan transkripsi gen dari sel planktonik atau sel bebas. Pembentukan *biofilm* dapat dipacu oleh keberadaan serum dan saliva di lingkungannya. *Biofilm* berperan sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk *biofilm* umumnya memiliki resistensi terhadap antimikroba biasa serta bebas dari sistem imunitas sel inang.

Berkembangnya *biofilm* umumnya bersamaan dengan bertambahnya peradangan klinis pada sel inang sehingga *biofilm* ini jadi

salah satu aspek virulensi serta resistensi. Di dalam susunan biofilm, mikroba tumbuh pesat sampai membentuk koloni paling utama pada bahan yang lembab serta kaya akan nutrisi.

Dalam alam, mikroba bergantian antara fase kehidupan uniseluler dan fase kehidupan multiseluler dalam biofilm. Biofilm terdiri dari populasi mikroorganisme yang berbeda yang dikelilingi oleh matriks yang diproduksi sendiri yang memungkinkan keterikatannya dengan permukaan inert atau organik. Fase kehidupan uniseluler memungkinkan dispersi mikroba dan kolonisasi lingkungan baru, sedangkan biofilm memungkinkan sel sesil untuk hidup secara terkoordinasi dan permanen yang mendukung proliferasinya. Dalam siklus bergantiannya, mikroba melakukan dua transisi fisiologi melalui ekspresi gen diferensial, yaitu pertama dari sel planktonik ke sel sesil dalam biofilm dan kedua dari sel sesil ke sel planktonik yang baru terlepas. (Berlanga dan Guerrero, 2016).

#### **E. Struktur *Biofilm***

Biofilm adalah komunitas terstruktur yang terdiri dari banyak koloni, dan proses utama yang memfasilitasi pembentukannya disebut penginderaan kuorum, resistensi antimikroba, dan kemampuan untuk melekat yang dapat dikaitkan dengan interaksi fisiologis mikrokoloni dalam biofilm dewasa. Biofilm tersusun atas dua bagian: bahan matriks (85% volume) terletak di tengah, sedangkan populasi bakteri (15% volume) terletak di dekat permukaan. Zat polimer ekstraseluler (EPS) yang terdiri dari 50-90% karbon organik biofilm dapat dianggap sebagai bahan matriks utama. Komposisi EPS bervariasi secara fisik dan kimia, tetapi sebagian besar terdiri dari polisakarida, protein, asam nukleat, lipid, fosfolipid, dan zat humat. EPS bersifat hidrofilik karena dapat menyerap air dalam jumlah besar, dengan tingkat kelarutan yang berbeda. (Gunardi, 2014).

EPS ialah produk yang dihasilkan sendiri oleh mikroorganisme serta bisa melindungi dari pengaruh buruk lingkungan (Hamzah dkk, 2020). Matriks molekul EPS dibutuhkan untuk komunikasi antar sel

yang disebut quorum sensing. Quorum sensing ialah sesuatu proses yang membolehkan mikroba bisa berinteraksi dengan mensekresikan molekul sinyal yang diucap autoinducer. ( Maric dan Vranes, 2007).

Koloni mikro adalah unit biofilm yang memiliki sistem sirkulasi air untuk mendistribusikan zat dan nutrisi berbahaya. Selain itu, lingkungan dapat berpengaruh pada biofilm, seperti jumlah nutrisi dan hidrodinamika, dan biofilm memiliki berbagai sifat dan memiliki perubahan struktural tergantung pada jumlah nutrisi yang tersedia. Penelitian telah menunjukkan bahwa ketika konsentrasi glukosa tinggi, mikrokoloni tumbuh dengan cepat, hal ini menyebabkan peningkatan ketebalan biofilm yang signifikan, namun ketika konsentrasi rendah, massa biofilm menurun. Selain itu, penyelidikan biofilm dalam kondisi hidrodinamik yang berbeda, seperti laminar dan turbulen, menunjukkan bahwa struktur biofilm bervariasi berdasarkan jenis alirannya. Pada aliran laminar, koloni bakteri menjadi bulat, namun pada aliran turbulen, koloni menjadi memanjang ke hilir. ( Mari dkk, 2007).

#### **F. Pembentukan *Biofilm***

Proses terbentuknya biofilm melalui 5 tahap. Pada tahap awal, sel bakteri terlekat pada substrat melalui gaya Van der Waals. Tahap kedua, sel bakteri melekat secara permanen melalui material eksopolimer yang lebih kuat. Tahap ketiga, terbentuk mikrokoloni dan terbentuk biofilm. Tahap keempat, biofilm semakin berkembang dan membentuk struktur tiga dimensi dengan sel-sel tertanam dalam kelompok terhubung. Pada tahap terakhir, struktur biofilm terus tumbuh hingga sel-sel melepaskan diri dari substrat, melekat pada substrat baru, dan membentuk biofilm baru. Proses ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, termasuk gaya Van der Waals, eksopolimer, serta pertumbuhan mikrokoloni dan biofilm. (Hamzah dkk, 2017).

#### **G. Faktor Yang Mempengaruhi Perlekatan Sel-Sel Bakteri Dalam Pembuatan *Biofilm***

1. Efek substrat perlekatan optimal terjadi pada permukaan yang kasar, karena ini akan mengurangi tekanan aliran yang

dapat melepaskan biofilm, dan permukaan yang kasar memiliki area permukaan yang lebih besar. Selain itu, mikroorganisme cenderung lebih menempel pada permukaan yang hidrofilik seperti gelas atau logam daripada permukaan hidrofobik seperti teflon atau plastik.

2. *Conditioning film*. Perlekatan mikroorganisme pada permukaan dipengaruhi oleh modifikasi kimiawi yang muncul akibat paparan media cair. Sebagai contoh, pada enamel gigi, terdapat film protein yang menutupi permukaannya, di mana sel-sel bakteri dapat menempel dalam beberapa jam paparan..
3. Pengaruh hidrodinamika terhadap perlekatan sel pada permukaan tergantung pada kecepatan aliran cairan. Semakin cepat aliran cairan, semakin kuat perlekatan sel pada permukaan karena sel-sel bakteri akan mengalami turbulensi dan berbalik. Namun, batasannya adalah kecepatan aliran tidak boleh terlalu tinggi sehingga sel-sel bakteri tidak terlepas dari permukaan.
4. Faktor-faktor lingkungan seperti pH, suhu, ketersediaan nutrisi, ion-ion kation, dan adanya senyawa antimikroba dapat memengaruhi proses perlekatan mikroorganisme pada substrat.
5. Ciri-ciri yang mempengaruhi perlekatan mikroorganisme meliputi sifat hidrofobik permukaan sel bakteri, keberadaan fimbriae, flagela, polisakarida, atau protein pada permukaan sel bakteri, yang dapat mempermudah perlekatan, terutama dalam situasi kompetisi antar kelompok mikroorganisme.

#### **H. Pengembangan Anti biofilm**

Ketahanan terhadap agen antimikroba menjadi isu global yang sangat penting saat ini karena terapi infeksi yang terkait dengan biofilm sering tidak efektif. Temuan obat konvensional tidak selalu memiliki potensi antimikroba yang efisien. Di sisi lain, penemuan pada tahun

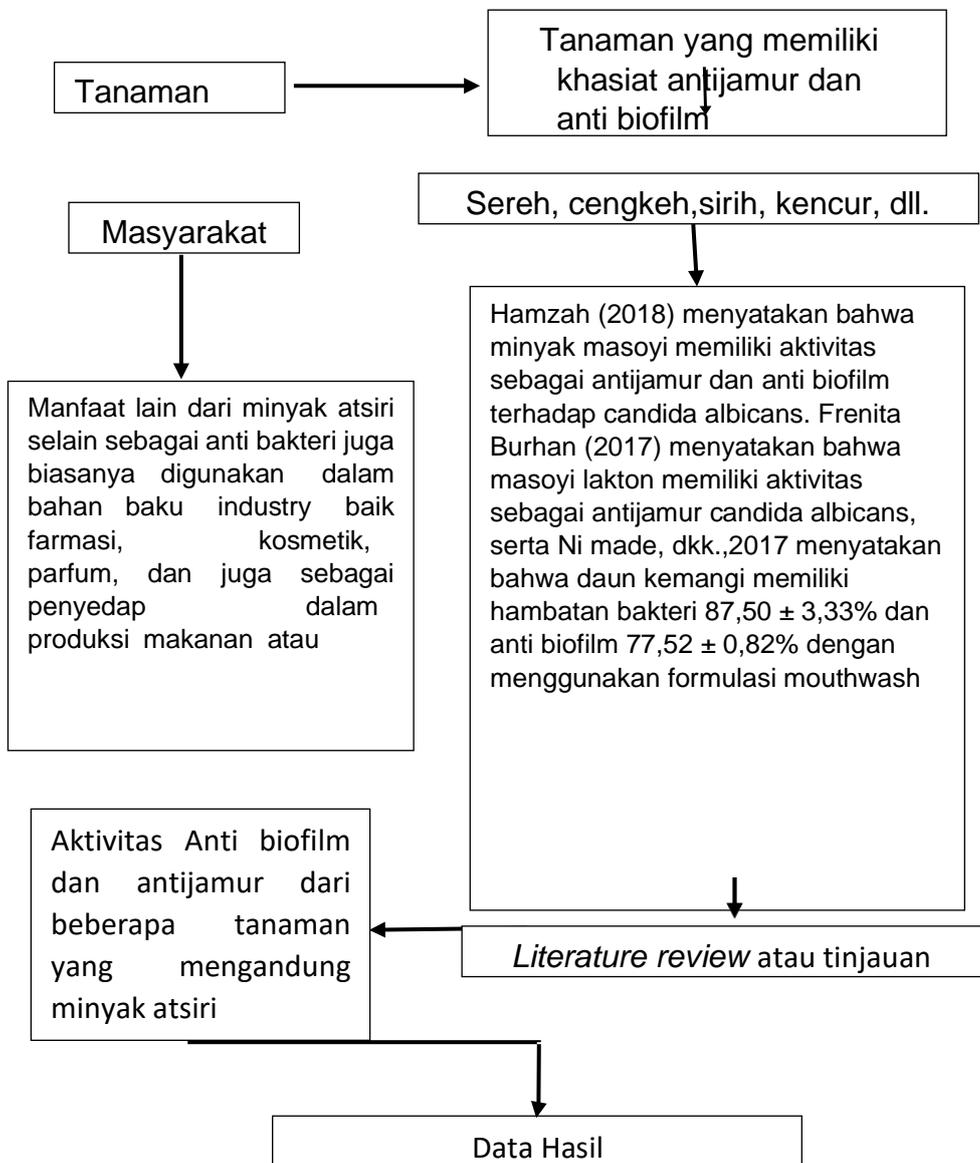
1940 bahwa sumber daya alam seperti Penicilin memiliki kemampuan sebagai agen antimikroba yang kuat telah mendorong para peneliti di seluruh dunia untuk terus mengembangkan penelitian mengenai penggunaan bahan alam sebagai antimikroba, termasuk di Indonesia. ( Marcinkiewicz dkk, 2013)

#### **I. Penghambatan Anti biofilm**

Uji penghambatan pembentukan biofilm dicoba dengan metode dilusi. Bakteri disiapkan dengan cara membuat suspensi pada media BHI (brain heart infusion). Media BHI digunakan sebab media ini merupakan media yang baik buat meningkatkan bakteri. Uji dicoba dengan memakai bottom 9 wells. Plate uji memakai larutan senyawa isolat bahan alam dan plate blanko dengan memakai larutan uji tanpa penambahan suspensi bakteri. Hasil uji berbentuk OD (Optical density) sehingga dapat dibaca dengan perlengkapan Bio Rad Microplate Reader Benchmark. Cara pembacaan dicoba sesudah ditambah kristal violet. Nilai MBIC 50 (minimum biofilm concentration) merupakan nilai konsentrasi senyawa uji yang masih bisa membatasi pembuatan biofilm sejumlah 50%. (Pratiwi dan Hertiani, 2015).

## J. Kerangka Pikir

Bersumber pada latar belakang maka disusun sesuatu kerangka pemikiran yang disajikan dalam wujud bagan berikut ini :



Gambar 2.2. Kerangka Pikir

**K. Hipotesis**

Hipotesis dari penelitian ini adalah mendapatkan data dari jurnal tanaman asli Indonesia yang mengandung minyak atsiri dan juga mekanisme kerja anti biofilm dan antijamur terhadap *C. albicans*