

Potensi antikandida ekstrak madu secara *in vitro* dan *in vivo*

Ning Rintiswati¹, Novi Eko Winarsih², Rusdy Ghazali Malueka²

¹Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

²Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

ABSTRAK

Ning Rintiswati, Novi Eko Winarsih, Rusdy Ghazali Malueka: *Potensi antikandida ekstrak madu secara in vitro dan in vivo*

Latar belakang: Telah diteliti potensi madu sebagai antikandida dalam rangka mendapatkan suatu agen anti jamur alternatif. Usaha ini didasarkan pada kenyataan bahwa anti jamur yang merupakan obat andalan untuk menanggulangi infeksi jamur yang ada tidak memiliki spektrum luas, dan sangat terbatas macamnya.

Tujuan: Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek madu murni, ekstrak madu, dan residunya terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dan *in vivo*.

Bahan dan cara: Penelitian dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorik secara *in vitro* dan eksperimental acak sederhana bagi uji *in vivo*. Pada uji *in vitro*, potensi madu murni dibandingkan dengan ekstrak madu dan residunya, mikroba uji yang digunakan adalah *Candida albicans*. Pengujian dilakukan menggunakan metode dilusi cair untuk kandida. Data yang diperoleh berupa angka KHM (kadar hambat minimal) dan KBM (kadar bunuh minimal), sedangkan pada uji *in vivo* hewan uji yang digunakan adalah mencit, data yang diperoleh berupa data histopatologi dan kecepatan kesembuhan antara kelompok terapi dan kontrol.

Hasil: Penelitian menunjukkan bahwa ekstrak madu memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap *Candida albicans* secara *in vivo* dan KHM serta KBM dicapai pada konsentrasi 0,3125 %. Madu murni tidak berefek terhadap *Candida albicans*, sedangkan residu madu menunjukkan daya hambat dan daya bunuh lemah dengan KHM 25% dan KBM 50%.

Simpulan: Ekstrak madu mampu mempercepat dan meningkatkan kesembuhan mencit yang diinfeksi dengan *Candida albicans* secara *in vivo*.

ABSTRACT

Ning Rintiswati, Novi Eko Winarsih, Rusdy Ghazali Malueka: *Potency of Anticandida extract combine by in vitro and in vivo*

Background: Antifungal agents are routinely used for the treatment of fungal infections. It is very likely however, that resistance of fungi to antifungal agents will emerge in the near future and the development new antifungal agent is very slow. To cope with the problem, it is important to search new antifungal agent from natural resources for the treatment of various diseases. It was also reported that bee honey has antibacterial property.

Objective: To know the *in vitro* and *in vivo* effect of crude honey, aether-extracted honey and its residual part on *Candida albicans*.

Methods: Samples used in this experiment were crude honey, aether-extracted honey and residual part of extracted honey. Each sample was tested for its anticandidal activity with macrobroth dilution method using casein-yeast extract-glucose medium. Minimal inhibitory concentration and minimal fungicidal concentration were determined for each sample.

Result: The result showed that extracted honey anticandidal effect *in vitro* at minimal inhibitory concentration was 0.3125% v/v and its residual was 25%, whereas crude honey has no inhibitory *in vitro* effect on *Candida albicans*.

Minimal fungicidal concentration of extracted honey and its residual were 0.31255 and 50% v/v respectively. *In vivo* study showed that treatment group recovered faster than control group.

Conclusion: Aether extracted honey and its residual have anticandidal activity *in vitro*. The extract have effect on recovery of candidal infected mice.

Key words: *Candida albicans* - bee honey - antifungal-minimal inhibitory concentration - candidal infection recovery

(B.I.Ked. Vol. 36, No.4: 187-194, 2004)

PENGANTAR

Obat antifungi sebagai agen pengobatan penyakit infeksi jamur pada waktu ini telah digunakan dengan luas, baik di negara maju maupun negara berkembang. Namun ternyata agen-agen tersebut tidak selalu dapat menyelesaikan persoalan yang berkaitan dengan penyakit infeksi karena hanya memiliki spektrum terbatas. Di samping itu jenis dan macam obat antifungi yang beredar pada waktu ini sangat sedikit. Pengembangan anti fungi baru merupakan kebutuhan yang mendesak mengingat makin tingginya kasus infeksi oportunistik yang di antaranya disebabkan oleh jamur oportunistik seperti *Candida albicans*.^{16,17,18} Dalam kaitan dengan permasalahan di atas perlu dicari agen lain yang berdaya antifungi yang mudah didapat, murah, dan efektif.

Salah satu agen yang diduga mampu berefek antibakteri dan anti fungi adalah madu. Bahan ini telah dikenal secara luas sebagai bahan makanan atau obat yang bernilai gizi dan berkhasiat sangat tinggi. Berbagai kitab suci seperti Injil, Al Qur'an, Atharva Weda telah menyebut khasiat madu. Hippocrates telah menyatakan bahwa madu berefek laksatif dan ekspektoran. Pada zaman dahulu bangsa Yunani, Romawi, China, dan Mesir telah menggunakan madu sebagai penyembuh luka serta penyembuhan ulkus pada usus. Namun demikian, sampai dewasa ini masih sedikit bukti empirik yang mendukung khasiat madu.^{1,2,3,4}

Beberapa penelitian mengenai potensi madu sebagai obat telah dilakukan. Efek madu terhadap *Echerichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *proteus mirabilis*, dan *Klebsiella sp* telah dilaporkan, demikian pula terhadap *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian dengan ekstrak eter madu terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi* menunjukkan bahwa ekstrak tersebut berpotensi menghambat pada konsentrasi relatif rendah.^{5,6,7,8,9,10}

Hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa terdapat substansi aktif yang diduga merupakan zat yang beraktivitas sebagai antibakteri pada madu. Telah dilakukan ekstraksi madu dengan berbagai bahan organik. Diketahui bahwa madu yang telah diekstraksi dengan eter kehilangan aktivitas anti bakteri. Hal tersebut mendukung suatu teori bahwa komponen aktif yang berpotensi antibakteri bersifat larut dalam eter. Dari analisis kimiawi yang telah dilakukan terhadap ekstrak eter terdapat senyawa enol. Senyawa ini setelah dipisahkan dengan menggunakan kromatografi lapis tipis dan diamati di bawah sinar ultraviolet ditentukan sebagai 6,4 dihidroksiflavonon.¹

Obat antikandida telah berkembang walaupun tidak terlalu cepat. Hingga kini *strain* candida yang resisten terhadap obat antifungi masih jarang dilaporkan. Namun, pengembangan obat antifungi tetap perlu dilakukan mengingat bahwa kasus infeksi mikosis oportunistik selalu meningkat. Di samping itu penemuan agen baru juga diperlukan untuk menambah khasanah obat antifungi/antikandida.

Khasiat madu sebagai antikandida belum pernah dilaporkan sebelumnya. Apabila dapat dibuktikan bahwa madu berefek antikandida, maka di kemudian hari dapat dikembangkan sebagai antifungi berspektrum luas. Penelitian ini bertujuan mengetahui efek madu terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dan *in vivo*.

CARA PENELITIAN

Penelitian dilakukan pada tahun 2003 di Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada Yogyakarta. Bahan uji pada penelitian ini adalah madu murni, ekstrak madu, dan residu madu (sisa madu setelah diekstraksi). Madu yang digunakan dalam penelitian ini merupakan madu klengkeng

monoflora. Ekstrak madu dibuat melalui proses ekstraksi madu menggunakan eter yang dilakukan di Laboratorium PPOT (Pusat Penelitian Obat Tradisional) Universitas Gadjah Mada. Residu madu, merupakan sisa hasil ekstraksi madu dengan eter.

LANGKAH KERJA

1. Subjek Penelitian

Candida albicans : diperoleh dari koleksi Lab. Mikrobiologi FK UGM. Bahan uji berupa madu berasal dari lebah *Apis mellivera* yang merupakan madu monoflora tanaman klengkeng yang diambil dari peternakan lebah di daerah Pringsurat, Secang. Untuk uji *in vivo* digunakan mencit betina dari galur DDY, berumur 3-4 bulan.

2. Persiapan madu

Pembuatan madu diperoleh dengan cara meng-ekstraksi madu murni menggunakan bahan pelarut eter. Proses ini dikerjakan oleh petugas laboratorium di Pusat Penelitian Obat Tradisional (PPOT). Dari proses ekstraksi madu akan dihasilkan ekstrak madu dan residu madu. Ekstrak madu bersifat sangat non polar sehingga perlu dilarutkan menggunakan PVP (poli vinil pirolidon) 5 %.^{8,10,19} Madu murni dan residu juga diuji daya antifungi terhadap kandida. Pada penelitian ini ekstraksi dilakukan di laboratorium PPOT UGM.

3. Uji *in vitro*

Penelitian ini dirancang sebagai penelitian eksperimental laboratorik dengan analisis deskriptif, yang pelaksanaannya dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran UGM. Uji *in vivo* dilakukan dengan maksud untuk mengetahui efek madu murni, ekstrak madu, dan residunya terhadap *C. albicans* secara *in vitro*. Dengan uji ini akan diketahui komponen madu yang paling efektif berpotensi sebagai antikandida di samping mengetahui KHM (kadar hambat minimal) dan KBM(kadar bunuh minimal) sehingga diketahui dosis paling kecil yang cukup berefek terhadap kuman uji. Dari hasil-hasil *in vivo* ini dapat ditentukan komponen mana yang paling efektif (madu, ekstrak madu atau residunya) yang dapat digunakan dalam uji *in vivo*, di samping dosis berapa

yang dapat digunakan untuk dipaparkan pada infeksi kulit pada mencit.

Sampel penelitian dibagi dalam 3 kelompok perlakuan dan kontrol, masing-masing adalah kelompok madu, ekstrak madu, dan residu madu. Metode pengujian daya antibakteri dilakukan dengan *macrobroth dilution method*. Media perbenihan yang digunakan adalah CYG (*cystein yeast extract glucose*).

a. Persiapan *Candida albicans*:

Dari biakan jamur *Candida albicans* pada media agar Sabouroud dextrose diambil beberapa koloni menggunakan ose, ditanam pada media CYG 2 ml dan diinkubasi pada suhu ruangan selama 24 jam. Kemudian dibuat larutan yang kekeruhannya sama dengan larutan Standart Mc Farland 1 (10^6 CFU/ml) dengan cara menambahkan NaCl fisiologis steril. Dari larutan yang telah dibuat, diambil 1 ml, ditambahkan pada 100 ml CYG dengan perbandingan 100 sehingga diperoleh larutan 10^4 CFU/ml. Suspensi ditambahkan pada tabung pengenceran bahan uji.

b. Dilusi Cair (*macrobroth dilution*)

Pada penelitian ini metode dilusi cair digunakan untuk uji potensi madu terhadap candida. Pengenceran bahan uji dilakukan dengan cara menyiapkan 10 tabung yang diberi nomor 1-10. Tabung nomor 2-10 masing-masing diberi 1 ml NaCl fisiologis steril. Tabung nomor 2 dikocok sampai homogen kemudian diambil 1 ml dan dimasukkan ke tabung nomor 3. Setelah dikocok sampai homogen diambil 1 ml dan dimasukkan ke tabung nomor 4 dan seterusnya sampai tabung ke 10. Dari masing-masing bahan uji (ekstrak madu, madu murni, residu madu) dilakukan tiga kali seri pengenceran. Setelah pengenceran bahan uji siap, pada masing-masing tabung diinokulasi 1 ml larutan 10^4 CFU/ml *C. albicans* yang telah dibuat ke tabung nomor 1-10 kemudian dikocok sampai homogen.

c. Inkubasi dan Pengamatan Hasil

Semua tabung yang telah diinokulasi dengan kandida kemudian di inkubasi pada temperatur kamar selama 24 jam. Pengukuran hasil penelitian

dilakukan dengan mengamati KHM dan KBM. Nilai KHM dapat ditentukan dengan mengamati turbiditas medium cair pada tabung percobaan. Larutan yang tampak jernih sejernih media cair tanpa ditumbuhi kandida (kontrol negatif) menandakan adanya hambatan pertumbuhan dibandingkan dengan kontrol positif yang tampak keruh oleh pertumbuhan kandida. Dari tabung dengan kadar tertentu yang mempunyai hambatan pertumbuhan candida kemudian cairan diambil kurang lebih 50 µl diinokulasikan pada media agar Sabouroud, diinkubasi dalam suhu ruangan atau suhu kamar selama 24 - 46 jam untuk memperoleh kadar bunuh minimal-KBM. Untuk menjamin reliabilitas telah dilakukan replikasi percobaan sebanyak tiga kali untuk setiap macam bahan uji. Penelitian dilakukan pada kondisi lingkungan yang sama dengan waktu, jumlah kuman, konsentrasi, dan sumber isolat yang sama.

4. Uji *in vivo*

Uji *in vivo* dilakukan di Lab. Mikrobiologi FK UGM. Uji ini merupakan penelitian eksperimental acak sederhana yang dirancang untuk meneliti potensi antikandida bahan madu terhadap kesembuhan infeksi kulit pada mencit yang diinfeksi dengan *C. albicans*. Hasil penelitian diperoleh dengan mengamati jumlah mencit yang mengalami kesembuhan, jumlah kematian, waktu kesembuhan mencit, diuji dengan metode Anava. Di samping itu diamati pula gambaran histopatologik kulit mencit pada 2 kelompok mencit yakni kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

a. Persiapan hewan uji

Tigapuluh delapan mencit dibagi secara acak menjadi 2 kelompok, kelompok terapi dan kelompok kontrol. Sebelum diinfeksi mencit disuntik setiap hari dengan dexamethazone secara subkutan dengan dosis sesuai berat badan. Hal ini dimaksud agar infeksi kandida dapat terjadi dan menghasilkan ulkus kronis. Pakan berupa BR II setiap hari.

b. Persiapan *Candida albicans*

Isolat kandida yang sama dengan uji *in vivo* dibiakkan pada medium agar Sabouroud glucosa. Biakan kemudian dipanen dibuat suspensi dalam larutan NaCl dengan kepadatan 4×10^9 cfu/ml

c. Infeksi *Candida albicans* dan terapi madu

Kedua kelompok mencit diinfeksi dengan suspensi *Candida albicans* secara subkutan pada punggung mencit yang sebelumnya telah dicukur bulunya. Beberapa hari setelah infeksi akan timbul reaksi peradangan berupa penonjolan/nodul yang kemudian berkembang menjadi ulkus. Setelah semua mencit terinfeksi, pada kelompok terapi dioleskan bahan madu secara topikal pada nodul atau ulkus menggunakan kasa steril setiap hari. Pada kelompok kontrol dioleskan akuades steril pada ulkusnya. Mencit dinyatakan sembuh bila nodul atau ulkus menghilang, warna jaringan normal walaupun bulu belum tumbuh.

d. Pemeriksaan histopatologi

Pemeriksaan histopatologik dilakukan pada hari 5, 10 dan 15 setelah terinfeksi dengan mengambil masing-masing kelompok 1 ekor untuk dibunuh menggunakan eter. Jaringan terinfeksi diambil dan dikirim ke Bagian Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada.

HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengujian *in vitro*

Pengujian potensi madu secara *in vitro* dilakukan 3 tahap yakni pengujian terhadap madu, kemudian dilakukan pengujian terhadap ekstrak madu. Setelah itu baru dilakukan uji terhadap residu madu setelah diekstraksi dengan eter. Tujuan dari langkah di atas adalah mengetahui pada tahap mana zat yang berpotensi sebagai antikandida berada. Mengingat bahwa madu terdiri atas berbagai senyawa dengan sifat-sifat yang berbeda.

Potensi antikandida pada madu murni tidak tampak pada konsentrasi sampai 50%. Konsentrasi tersebut adalah konsentrasi maksimal yang bisa dicapai pada pengujian dengan metode dilusi cair. Mengingat bahwa pada setiap tabung pengenceran bahan madu dibubuhkan larutan media yang mengandung kuman dengan perbandingan sama. TABEL 1. menunjukkan bahwa nilai KHM tidak tercapai. Hal ini berarti bahwa madu murni tidak memiliki potensi antikandida. Apabila terdapat bahan aktif yang terkandung dalam madu yang berefek antikandida kemungkinan zat tersebut tidak larut dalam air. Jadi harus dilakukan proses ekstraksi dengan zat-zat tertentu. Dalam penelitian

ini konsentrasi bahan madu dan residu yang digunakan pada proses dilusi tidak sama dengan konsentrasi ekstrak madu karena untuk ekstrak diperlukan bahan perantara agar larut pada medium. Bahan perantara yang digunakan adalah PVP (poli vinil pirolidon).

TABEL 1. Pertumbuhan *Candida albicans* pada CYG yang mengandung madu murni dan pada medium agar Sabouroud

No	Konsentrasi (%)	Pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	
		CYG	Sabouroud
1	50	+	+
2	25	+	+
3	12,5	+	+
4	6,25	+	+
5	3,125	+	+
6	1,5625	+	+
7	0,7813	+	+
8	0,3906	+	+
9	0,1953	+	+
10	0,0977	+	+

Keterangan : tidak tercapai KHM dan KBM

Hasil uji terhadap ekstrak madu dengan menggunakan bahan organik berupa eter ternyata memberi hasil yang sangat berbeda dibanding dengan madu murni. Dari TABEL 2 dapat ditunjukkan bahwa *C. albicans* mulai terhambat pada konsentrasi ekstrak madu 0,3125 %, artinya KHM dicapai pada konsentrasi tersebut, KBM dicapai pada konsentrasi 0,625%.

TABEL 2. Pertumbuhan *Candida albicans* pada CYG yang mengandung ekstrak madu dan pada medium Sabouroud

No	Konsentrasi (%)	Pertumbuhan kuman	
		CYG	Sabouroud
1	2,5	-	-
2	1,25	-	-
3	0,625	-	-
4	0,3125	-	+
5	0,1562	+	+
6	0,0781	+	+
7	0,0391	+	+
8	0,01953	+	+
9	0,00976	+	+
10	0,0048	+	+

Keterangan :

KHM (medium CYG) : konsentrasi 0,3125%

KBM (medium Sabouroud) : konsentrasi 0,625%

Tampak bahwa zat aktif yang berpotensi antikandida terlarut pada eter. Hal ini sesuai dengan penelitian terdahulu yang dilakukan oleh para peneliti dengan menggunakan beberapa bakteri seperti *S.aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhi*.^{8,9,10}

Potensi residu madu setelah diekstraksi dapat ditunjukkan pada TABEL 3, ternyata zat tersebut berefek sangat lemah pada kandida. Kemungkinan komponen aktif antikandida sebagian besar telah terlarut pada eter. Dari tabel di atas dapat ditunjukkan madu akan efektif sebagai antikandida bila zat aktif yang terlarut diekstraksi.

TABEL 3. Pertumbuhan *Candida albicans* pada CYG yang mengandung residu madu dan pada medium Sabouroud

No	Konsentrasi (%)	Pertumbuhan kuman	
		CYG	Sabouroud
1	50	-	-
2	25	-	+
3	12,5	+	+
4	6,25	+	+
5	3,125	+	+
6	1,5625	+	+
7	0,7813	+	+
8	0,3906	+	+
9	0,1953	+	+
10	0,0977	+	+

Keterangan : KHM : 25%. KBM : 50%

Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa aktif yang terlarut eter berkaitan dengan senyawa -enol yang bersifat antibakteri. Ditemukan bahwa madu Melayu mengandung senyawa fenol.¹ Seperti diketahui bahwa derivat fenolik memiliki kemampuan antibakteri. Dari analisis kimia senyawa enol dalam madu berupa turunan flavonoid yakni 6,4 dihidroksiflavanon. Aktivitas senyawa tersebut belum diketahui dengan pasti. Diduga interaksi antara senyawa ini dengan protein membran sel mengakibatkan kerusakan struktur membran sel bakteri.¹

Dari penelusuran pustaka telah dilaporkan bahwa senyawa flavonoid baik bioflavonoid ataupun sintetik memiliki lebih dari 100 macam aktivitas biologik, di antaranya sebagai antibakteri, anti jamur, maupun antivirus¹¹. Senyawa fenol masuk ke dalam sel bakteri dan mengakibatkan denaturasi protein

protoplasma. Hal ini menyebabkan gangguan metabolisme sehingga pertumbuhan bakteri terhambat¹³.

Senyawa 6,4 dihidroksiflavonon memiliki BM 256, termasuk partikel kecil sehingga dapat memasuki pori-pori membran sel bakteri. Sifat fraksi eter yang hidrofobik menyebabkan senyawa fenolik ini tidak mampu melalui membran sel. Madu mengandung kelator metal yang mampu merusak 'jembatan' garam antar bifosfolipid. Hal tersebut diduga penyebab madu mampu merusak membran sel kandida. Ekstrak eter pada penelitian ini tidak memerlukan media predispersi karena eter teknis yang digunakan bukan eter absolut sehingga memungkinkan adanya partikel non eter.¹

Terdapat suatu perbedaan pendapat mengenai pengaruh kadar gula dan kadar air pada madu. Wotton 1978 menyatakan bahwa daya antibakteri madu tidak karena efek kadar gula dan kadar air. Daya antibakteri madu semata-mata hanya didukung oleh zat selain gula. Hal ini dibuktikan bahwa madu randu dan sirup yang memiliki konsentrasi gula yang sama, tidak berbeda secara bermakna. Madu randu pada penelitian tersebut mengandung sukrosa 4,25%, glukosa 31% dan fruktosa 38%. Konsentrasi gula yang tinggi dianggap tetap memiliki kontribusi menghambat pertumbuhan bakteri. Hal ini dapat ditunjukkan pada penelitian Molan, 1997 yang menggunakan madu buatan yang hanya mengandung gula, ternyata pada konsentrasi 20%-30% mampu menghambat pertumbuhan bakteri.^{4,5}

Ada pendapat yang menyatakan bahwa kemampuan membunuh mikroorganisme pada madu didasarkan pada senyawa seperti lisozim yang disebut inhibin. Lisozim adalah suatu larutan enzim berupa protein kecil dengan BM 14.600 terdiri dari 129 asam amino. Bagian dalam dari zat ini bersifat polar sehingga larut air. Pengaruh utama lisozim terhadap bakteri adalah perannya yang mampu berinteraksi dengan dinding sel bakteri. Ikatan tersebut mengakibatkan dinding sel bakteri berlubang sehingga cairan dan komponen-komponen sel yang esensial keluar sel, akhirnya bakteri mengalami kematian. Untuk proses interaksi lisozim dengan dinding sel diperlukan suatu reseptor. Dalam hal ini terdapat peran gugusan fosfat yang bermuatan negatif yang mengikat lisozim yang bermuatan positif. Proses tersebut sangat efektif pada bakteri

gram negatif seperti *Pseudomonas aeruginosa* yang memiliki kandungan fosfor relatif lebih banyak dibanding bakteri gram positif.^{11,14}

Aktivitas antibakteri madu berkaitan pula dengan kondisi osmotiknya. Madu adalah larutan supersaturasi dari gula yang memiliki kemampuan osmotik. Molekul air bereaksi kuat dengan gula pada madu, hanya terdapat sisa air bebas sangat kecil bagi pertumbuhan mikroorganisme. Aktivitas enzim glukosa oksidase akan menghasilkan hidrogen peroksida. Konsentrasi hidrogen peroksida pada madu sekitar 3,6 - 4,3 ug/ml yang merupakan enzim desmutase hidrogen peroksida yang bersifat termolabil dan fotolabil. Dekomposisi hidrogen peroksida akan meningkatkan radikal bebas yang bersifat reaktif. Radikal bebas inilah yang akan beraksi terhadap mikroorganisme sehingga mengakibatkan kematian. Tekanan osmotik mampu menyebabkan mikroorganisme terdehidrasi dan mati.^{3,19,20}

Hasil pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian yang dicapai oleh Kurniawan, 1999, yang menggunakan ekstrak eter madu diujikan terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. Perbedaan yang terjadi adalah pada nilai KHM dan KBM. Perbedaan juga terjadi pada penelitian yang dilakukan oleh Dewianasari, 1998, yang menguji ekstrak madu. Hal tersebut mungkin disebabkan karena madu yang digunakan berbeda, pada kedua penelitian di atas digunakan madu multiflora yang dihasilkan oleh *Apis indica*, sedangkan pada penelitian ini madu yang digunakan adalah monoflora (klengkeng) dihasilkan oleh *Apis mellivera*. Di samping itu perbedaan juga disebabkan oleh kuman uji yang berbeda.^{8,10}

2. Pengujian *in vivo*

Setelah diketahui adanya potensi antikandida secara *in vitro* percobaan dilanjutkan secara *in vivo* menggunakan bahan yang paling potensial yakni ekstrak madu dalam PVP 5% b/v. Hasil pengamatan ditampilkan pada TABEL 4, dan 5 di bawah ini.

Bila diamati hasil pengamatan histopatologi hewan percobaan yang ditunjukkan pada TABEL 4, tampak tidak terdapat perbedaan kondisi pada kedua kelompok. Respon mencit terhadap infeksi kandida tampak sama pada keduanya. Namun TABEL 5 menunjukkan jumlah mencit sembuh lebih tinggi dibanding kontrol.

TABEL 4. Hasil Pemeriksaan histopatologi pada mencit kelompok kontrol dan terapi

Pengamatan	Hari ke 5		Hari ke 10		Hari ke 15	
	Kontrol	madu	Kontrol	madu	Kontrol	madu
Sel radang	+++	+++	+++	++	++	+
Area nekrosis	+++	+++	+++	++	++	+
Area abses	+++	+++	+++	+++	+	+
Granuloma	+	+	+++	++	+++	+
Jaringan granulasi	-	-	+	+	+	+

Keterangan :

+++ : banyak ++ : sedang + : sedikit

TABEL 5. Rata-rata hari kesembuhan mencit, kesembuhan, dan kematian pada kelompok kontrol dan terapi

Kelompok	Jumlah diinfeksi (ekor)	Kematian (ekor)	Sembuh (ekor)	Rata-rata hari sembuh
kontrol	19	7 (36,84%)	13 (68,42%)	37,50
terapi	19	3 (15,78%)	16 (84,21%)	20,58*

Keterangan

* : perbedaan bermakna dengan $p:0,045$ ($p<0,05$) antara hari kesembuhan pada kelompok mencit diterapi dan kontrol

Dengan mengamati rata-rata hari sembuh tampak bahwa kesembuhan mencit yang diterapi lebih cepat dibanding kontrol dengan perbedaan signifikan. Artinya pemberian ekstrak madu meningkatkan dan mempercepat kesembuhan infeksi kandida. Di samping itu terapi ekstrak madu dapat mengurangi jumlah kematian mencit akibat infeksi kandida. Hal ini sejalan dengan temuan *in vivo* pada penelitian ini yang menunjukkan efek antikandida ekstrak madu terhadap suspensi kandida.

SIMPULAN dan SARAN

Simpulan

Dari penelitian ini dapat diambil simpulan bahwa:

1. Madu murni tidak memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*
2. Ekstrak madu memiliki daya hambat dan daya bunuh terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*
3. Residu hasil ekstraksi madu memiliki daya hambat dan daya bunuh lemah terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*

4. Ekstrak madu mampu mempercepat kesembuhan mencit yang diinfeksi dengan *Candida albicans* secara *in vivo*

Saran

Perlu dianalisis lebih lanjut mengenai komposisi kimiawi zat aktif yang terkandung dalam madu.

KEPUSTAKAAN

1. Letchumanan S. Studies on the antibacterial action of honey, 1997.
2. Anonim. Honey scientific, technical and commercial application in formation chemical characteristics of honey. National Honey Board, 390 Lashley St., Long Mont. 1997.
3. Mc. Carthy J. The antibacterial effects of honey: medical fact or fiction? Amerika: University of Guelph. 1995.
4. Molan PC. Honey for the treatment of infection, New Zealand : University of Waikato, 1997.
5. Wotton M, Edward RA, Rowse A. Antibacterial properties of some Australian honey food in Australia. 1978.
6. Winarno FG. Madu, teknologi, khasiat dan analisa. Jakarta : Ghalia Indonesia. 1981
7. White JW. Honey in chichester. C.O. : Advances in food research, London: Academic Press. 1978.
8. Dewianasari E. Potensi ekstrak madu terhadap *Salmonella thyphi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran UGM, 1998.
9. Kuspartoyo. Berbagai macam khasiat madu dalam ayam dan telur No. 59. Jakarta: Gramedia, 1991.

10. Kurniawan NU. Potensi ekstrak madu terhadap *Pseudomonas Aeruginosa*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran UGM, 1999.
11. Achmad SA, Hakim EH, Makmur L. Flavonoid dan phyto medica, kegunaan dan prospek, Phito Medika 1990; 1(2): 120-27.
12. Amerongen AVN. Ludah dan kelenjar ludah, arti bagi kesehatan gigi. Yogyakarta : Gadjah Mada University Press, 1991.
13. Dwijoseputro D. Dasar-dasar mikrobiologi. Jakarta : Penerbit Djambatan, 1989.
14. Ganiswara VHS, Setiabudy R. Pengantar antimikroba dalam Ganiswara, 1995.
15. Shepherd MG, RTM, Poulter PA, Sullivan. *Candida albicans* : biology, genetics and pathogenicity. Ann Rev Microbiol, 1985; 39: 579-614.
16. Suprihatin D. Candida dan candidiasis pada manusia. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, 1982.
17. Volk WA, Benjamin DC, Kadher RJ. Essential of medical microbiology, third edition. Philadelphia : JB. Lippincott Company, 1986.
18. LevinsonWE, Jawetz E. Medical microbiology and immunology. USA: Prentice Hall Int, 1991.
19. Siagian PB. Petunjuk pengujian madu. Yogyakarta: Fakultas Kehutanan UGM, 1997.
20. Harborne JB. Phytochemical method. London: Chapman and Hall, 1983.