

EFEK EKSTRAK ALOE VERA TERHADAP CANDIDA ALBICANS YANG DIISOLASI DARI RONGGA MULUT PENDERITA HIV/AIDS DENGAN TEKNIK TUBE DILUTION

(EFFECT OF ALOE VERA LEAF EXTRACT TO CANDIDA ALBICANS ISOLATED FROM ORAL CAVITY OF HIV/AIDS PATIENTS BY TUBE DILUTION TECHNIQUE)

Elizabeth Fitriana Sari*, Gus Permana Subitha**

* Departemen Oral Medicine
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran
Jl. Sekeloa Selatan I no.1. Bandung

** Departemen Oral Medicine
Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia
Jl. Salemba Raya no. 4. Jakarta Pusat
E-mail: e_fitrianasari@yahoo.com

Abstract

Oral candidiasis is the third major opportunistic infection in people with HIV/AIDS. The antifungal has a very important role to prevent candidemia. But the use of antifungal has developed resistancy, for this reason it is important to find other high potent and cost effective antifungal. In this study *Aloe vera* was chosen because of its beneficial properties which has already been proven scientifically. The objective of the study was to investigate antifungal effect by finding the minimal inhibitory concentrations (MICs) and minimal fungicidal concentrations (MFCs) of *Aloe vera leaf* to *Candida albicans* isolated from oral cavity of HIV/AIDS patients, and to *Candida albicans* ATCC 10231 strain as the control group. Ethanol was used for the extraction of the leaf after obtaining the gel from it. MICs and MFCs were tested by tube dilution technique. Eight identified samples of *Candida albicans* isolated from oral cavity of HIV/AIDS patients. The result showed that from 3 samples had MIC 25%, and 4 samples 50%. MFC showed 1 sample in 12.5%, 3 samples in 100%, but 4 samples could still grow in 100% concentration with different number of colony forming units. As the control group, *Candida albicans* ATCC 10231 showed MIC in 25% and MFC in 75%. In conclusion, *aloe vera* plants seem to have promising role to cure oral candidiasis in HIV/AIDS patients because of its antifungal and immunomodulatory properties.

Key words: *Aloe vera leaf* extract, *Candida albicans*, antifungal MICs and MFCs, HIV/AIDS

PENDAHULUAN

Jumlah penderita HIV/AIDS (ODHA) di Indonesia meningkat secara tajam. Berdasarkan data Departemen Kesehatan Indonesia terdapat 22.664 kasus HIV/AIDS pada tahun 2008 yang sangat jauh berbeda jika dibandingkan tahun 1987 yang hanya mencapai 60 kasus saja. Menurut UNAIDS, data ODHA di Indonesia sampai akhir tahun 2008 mencapai angka 270.000 jiwa.¹ Jumlah ODHA secara global di seluruh dunia pada akhir tahun 2010 mencapai 40 juta jiwa.^{2,3} Negara-negara di Asia menunjukkan peningkatan jumlahnya lebih dari 150 % pada tahun 2007, dan di tahun yang sama negara

Indonesia menunjukkan pertumbuhan epidemik tercepat.⁴

Infeksi oportunistik masih tetap menjadi komplikasi terbesar pada ODHA walaupun terjadi penurunan yang dramatik dengan pemberian *highly active antiretroviral therapy* (HAART), akan tetapi masih terdapat angka kesakitan (morbiditas) dan kematian (mortalitas) yang cukup signifikan.⁵ *Oropharyngeal candidiasis* merupakan infeksi oportunistik terbanyak ke-3 pada ODHA.⁴ *Oral candidiasis* yang disebabkan oleh spesies *oral candida* terutama *Candida albicans* merupakan infeksi oportunistik yang paling sering ditemukan dan memiliki risiko terjadinya *candidemia* terutama pada ODHA

sehingga dapat menyebabkan kesakitan dan kematian^{5,6}

Obat-obat anti jamur memiliki peran yang sangat penting dalam menghadapi *oral candidiasis*. Pada riwayat penggunaannya, banyak terjadi resistensi terhadap obat anti jamur yang sering diberikan dan dicurigai salah satunya karena *phenotypic switching* pada *C. albicans*.⁷ Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian untuk mencari obat anti jamur lain yang efektif, mudah didapat, dengan harga terjangkau untuk *oral candidiasis* pada penderita HIV/AIDS.

Aloe vera adalah tanaman obat yang tumbuh subur di Indonesia. Penelitian terhadap tanaman ini masih terus berlanjut karena *Aloe vera* banyak mengandung zat-zat yang sangat bermanfaat untuk kesehatan.^{8,9} Daun *Aloe vera* terdiri atas bagian kulit dan gel. Ketika kulit daun dipisahkan, substansi *mu-cilaginous* keluar dan mengandung banyak serat dan air, bagian ini disebut sebagai gel. *Aloe vera gel* mengandung 99,3% air.¹⁰

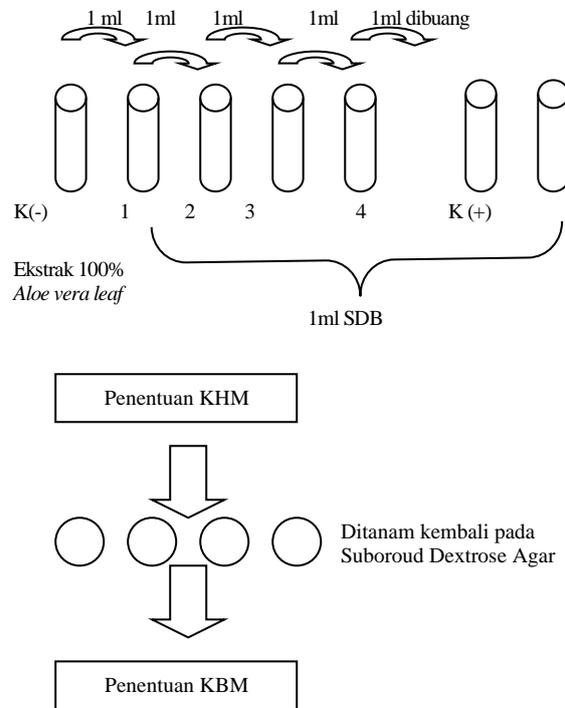
Penelitian yang dilakukan Agarry, Olaleye, dan Bello-Michael melaporkan ekstrak 25% *Aloe vera* dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.¹⁰ Melihat potensi yang cukup menjanjikan dari *Aloe vera*, merupakan tantangan bagi peneliti untuk mengetahui potensi *Aloe vera* yang memiliki aktifitas anti jamur dan imunomodulator terhadap spesies *Candida albicans* yang langsung diambil dari ODHA.

BAHAN DAN METODE

Daun *aloe vera* diambil dari kebun *Aloe vera* di Pusat Riset & Bisnis Fakultas MIPA Universitas Indonesia diiris dan direndam dalam bahan pelarut etanol selama 1-2 hari, kemudian dilakukan ekstrak dengan *rotary evaporator extractor*. Hasil ekstrak merupakan ekstrak *Aloe vera* dengan konsentrasi 100% yang akan di uji cobakan dalam penelitian ini.¹⁰

C. albicans diisolasi dari rongga mulut ODHA menggunakan teknik dengan 10 ml cairan PBS selama 1-1,5 menit, kemudian di ludahkan dan ditampung dalam kontainer steril, selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 1000 rpm selama 10 menit. Hasil sentrifugasi didapat endapan (sedimen) yang diambil sebanyak 100-200 µL dan diinokulasi pada CHROM-agar untuk dilakukan identifikasi jenis *C. albicans*¹¹, hanya 8 orang menunjukkan gambaran morfologi dan warna *C.albicans* yang jelas, kemudian ditanam dalam *Saboroud Dextral Agar* (SDA) dan dilihat pengaruh pemberian berbagai ekstrak *Aloe vera leaf* untuk dicari Konsentrasi Hambat Medice (KHM) dan Konsentrasi

Bunuh Minind (KBM). Setelah itu diinkubasi selama 24 jam dibuat suspensi menggunakan *Saboroud Dextral Broth* (SDB) dengan kekeruhan 0,5 Mc Farland atau se-banding dengan 10⁸ CFU/ml, juga dibuat suspensi dengan kekeruhan yang sama pada *C. albicans* ATCC 10231.¹²



Gambar 1. Teknik *Tube Dilution* untuk menentukan KHM dan KBM¹³

KHM ekstrak *Aloe vera* kemudian ditentukan dengan teknik *Tube dilution* pada konsentrasi 50, 25, 12,5, dan 6,25%. Setelah diinkubasi selama 24 jam, pada konsentrasi tertentu akan terlihat perbedaan kejernihan.¹³ Pada tabung pertama yang terlihat jernih inilah yang menunjukkan KHM. Namun karena dikarenakan ekstrak *Aloe vera* memperlihatkan cairan yang keruh, sulit untuk dilihat perbedaan kejernihan untuk menentukan KHM. Oleh karena itu, dilakukan penanaman kembali pada SDA sebanyak 100 µL larutan pengenceran pada setiap konsentrasi ekstrak *Aloe vera* setelah diinkubasi selama 24 jam sehingga diperoleh KHM.

HASIL

Hasil penelitian menggunakan teknik *Tube dilution* menunjukkan KHM pada konsentrasi 25% terhadap *C. albicans* ATCC 10231, sedangkan KHM terhadap *C. albicans* dari rongga mulut ODHA bervariasi dari konsentrasi 12,5 sampai dengan 50% (Tabel 1).

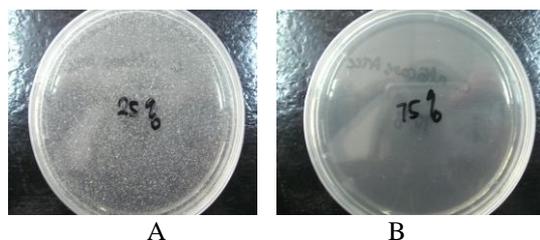
Tabel 1. Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) ekstrak *Aloe vera* terhadap *C.albicans* ATCC 10231 dan *C.albicans* yang diisolasi dari delapan sampel ODHA

Sampel	KHM Ekstrak <i>Aloe vera</i> (%)
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	25
<i>C. albicans</i> Sampel I	12,5
<i>C. albicans</i> Sampel II	25
<i>C. albicans</i> Sampel III	50
<i>C. albicans</i> Sampel VII	50
<i>C. albicans</i> Sampel IX	25
<i>C. albicans</i> Sampel X	50
<i>C. albicans</i> Sampel XIII	50
<i>C. albicans</i> Sampel XIV	50

Hasil tersebut belum diperoleh KBM walaupun telah diinokulasi kembali pada SDA, disebabkan *C. albicans* masih dapat hidup pada konsentrasi pengenceran tertinggi ekstrak *Aloe vera*, kecuali pada sampel I di mana *C. albicans* sudah tidak tumbuh pada konsentrasi 12,5%. Oleh karena itu, dilakukan lagi pengenceran mulai dari ekstrak *Aloe vera* 100%, 75%, dan seterusnya lalu diinokulasi kembali pada SDA, sehingga diperoleh KBM (Tabel 2).

Tabel 2. Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) Ekstrak *Aloe vera* terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan *C.albicans* yang diisolasi dari ODHA

Sampel	KBM ekstrak <i>Aloe vera leaf</i> (%)	Keterangan
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	75	-
<i>C. albicans</i> Sampel I	12,5	-
<i>C. albicans</i> Sampel II	100	-
<i>C. albicans</i> Sampel III	-	Pada ekstrak 100% masih tumbuh 8 koloni
<i>C. albicans</i> Sampel VII	-	Pada ekstrak 100% masih tumbuh >50 koloni
<i>C. albicans</i> Sampel IX	100	-
<i>C. albicans</i> Sampel X	-	Pada ekstrak 100% masih tumbuh 6 koloni
<i>C. albicans</i> Sampel XIII	100	-
<i>C. albicans</i> Sampel XIV	-	Pada ekstrak 100% masih tumbuh 1 koloni



Gambar 2. A. KHM pada konsentrasi 25%, B. KBM diperoleh pada konsentrasi 75% ekstrak *Aloe vera* terhadap *C.albicans* ATCC 10231

PEMBAHASAN

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa *Aloe vera* memiliki aktifitas anti jamur terhadap *C. albicans* baik ATCC 10231 maupun yang diisolasi dari rongga mulut ODHA. *Aloe vera* dapat memberikan efek fungistatik dan fungisid. Berdasarkan hal tersebut *Aloe vera* dapat dipertimbangkan untuk tujuan terapi di kemudian hari, mengingat sudah banyak ODHA yang resisten terhadap anti jamur terutama *fluconazole*.¹⁰

Kandungan *Acemannan* dan zat aktif lainnya di dalam *Aloe vera* berperan aktif sebagai anti jamur dan imunomodulator yang bekerja sama secara sinergis, hal ini membuat harapan yang cukup menjanjikan untuk pengembangan *Aloe vera* sebagai obat anti jamur alternatif lain khususnya untuk ODHA. *Acemannan* adalah sejenis karbohidrat rantai panjang yang dapat mempercepat penyembuhan luka, memodulasi fungsi imun terutama mengaktifkan makrofag dan produksi sitokin.¹⁴

Aloe vera mengandung polisakarida rantai panjang utama yaitu *Acemannan* dan *glucomannan*, yang merupakan karbohidrat golongan *mannan* sehingga memiliki epitop yang dapat bereaksi silang terhadap fungi khususnya spesies *candida*. Oleh karena itu, *Aloe vera* dimungkinkan dapat membantu membentuk antibodi *antimannan* yang merupakan antigen yang terdapat pada dinding sel *Candida* dan beberapa fungi lain, namun untuk mengetahui dengan pasti reaksi nya secara langsung terhadap respon imun ini harus dilakukan penelitian lebih lanjut.

Acemannan telah diteliti sebelumnya dapat bekerja sebagai imunostimulan, sebagai *adjuvant activity* pada produksi antibodi spesifik, meningkatkan pelepasan interleukin-1 (IL-1), interleukin-6 (IL-6), *Tumor Necrosis Factor* (TNF- α), dan interferon- γ (INF- γ). Pelepasan sitokin ini dapat meningkatkan replikasi fibroblas dalam kultur jaringan dan meningkatkan fagositosis makrofag. Proliferasi fibroblas ini bertanggung jawab untuk proses penyembuhan luka bakar, ulser, dan luka lainnya pada mukokutan.¹⁵

Penelitian yang dilakukan Agarry, Olaleye, dan Bello-Michael menunjukkan bahwa *Aloe vera leaf* memiliki KHM terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 25%.¹⁰ Hasil penelitian ini terhadap *C. albicans* ATCC 10231g menunjukkan KHM ekstrak *Aloe vera* yang sama pada konsentrasi 25%, sedangkan KBM diperoleh pada konsentrasi 75%. Kesamaan hasil KHM menunjukkan bahwa kedua jenis *C. albicans* tersebut masih memiliki tingkat sensitifitas yang sama terhadap *Aloe vera*. Kedua-

nya merupakan *Candida* subkultur laboratorium yang sudah dimurnikan.

KHM dan KBM ekstrak *Aloe vera* terhadap delapan sampel *C. albicans* yang diisolasi dari rongga mulut ODHA menunjukkan nilai konsentrasi yang berbeda-beda. Dua sampel menunjukkan KHM pada konsentrasi 25% dan lima sampel menunjukkan KHM pada konsentrasi 50%. Perbedaan KHM pada beberapa ODHA dimungkinkan antara lain karena perbedaan tingkat sensitifitas *C. albicans* klinis atau *wild type* terhadap *Aloe vera*. *Phenotyping switching* pada strain *C. albicans* pada ODHA frekuensinya meningkat. *Switching* ini berpengaruh pada sensitifitas terhadap obat anti-fungal dan level *secreted proteinase activity* begitu pula dapat terjadi jika direaksikan dengan *Aloe vera*.⁷

Tiga sampel yang diisolasi dari rongga mulut ODHA menunjukkan KBM pada konsentrasi 100% dan empat sampel masih menunjukkan pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi ekstrak 100%, hal ini dapat terjadi karena beberapa faktor, antara lain adanya perbedaan sensitifitas *C. albicans*, terdapat berbagai strain atau *subtype* pada *C. albicans*, dan sedikit yang mengetahui tentang *micro-evolution* sejalan dengan waktu dan progresifitas dari penyakit HIV.¹⁶ Data tersebut sangat memungkinkan bahwa terdapat perbedaan strain *C. albicans* yang diisolasi dari rongga mulut ODHA, sehingga respons terhadap *Aloe vera* menjadi berbeda-beda, perubahan genetik evolusi sesuai tahapan progresifitas penyakit tidak dihomogenisasi pada penelitian ini sehingga responsnya terhadap *Aloe vera* juga dapat berbeda-beda.

Biofilm adalah lingkungan sel-sel mikroba yang terikat pada permukaan yang kemudian ditutupi material matriks ekstraseluler. Sekali tertanam dalam pertumbuhan biofilm, sel-sel mikrobial menunjukkan berbagai *phenotypic properties* yang berbeda-beda dibanding dengan sel planktonik yang melayang bebas. Beberapa penelitian mempertimbangkan bahwa permukaan protein hifa penting dalam pembentukan biofilm. *Phenotypic properties* yang berbeda-beda pada berbagai strain *C. albicans* ini juga yang mungkin menyebabkan perbedaan daya bunuh *Aloe vera* terhadap *C. albicans* klinis atau *wild type* yang diisolasi dari rongga mulut ODHA.^{17,18,19,20}

Perbedaan KBM pada sampel yang diambil dari ODHA juga mungkin menunjukkan suatu *refractory* atau kegagalan dalam merespons perawatan anti jamur dengan dosis dan durasi yang sudah tepat. Beberapa hal yang dapat menyebabkan kondisi *refractory* adalah perkembangan penyakit HIV (CD4cells <50 cells/mm³), terekspos obat antifungal jangka panjang, dan riwayat penyakit oportunistik sebelumnya.²¹ Dapat disimpulkan bahwa tanaman *Aloe vera*

dapat memberikan harapan besar dalam menyembuhkan oral candidiasis terutama pada ODHA karena *Aloe vera* memiliki antifungal sekaligus imunomodulator. Diharapkan dapat dilakukan penelitian lebih lanjut yang lebih dikembangkan ke arah uji coba klinis, penentuan dosis dan waktu kontak yang tepat untuk terapi *oral candidiasis*.

Daftar Pustaka

1. Anonymous. Penanggulangan HIV/AIDS kalah cepat dengan penularan. 7 Januari 2009. <<http://www.bkkbn.go.id/webs/Detailberita.aspx?MyID=6439>> (29 Januari 2009).
2. Anonymous. Epidemiological fact sheet on HIV and AIDS for Indonesia. Core data on epidemiology and response. <<http://www.who.int/hiv>> (28 Desember 2010).
3. HIV/AIDS. <<http://www.hiv.developmentgateway.org/Community.content>> (28 Desember 2010).
4. Data HIV/AIDS di Indonesia. <<http://www.koalisi.org>> (29 Januari 2009).
5. Melody L, Duffalo P. Fungal opportunistic infections in HIV disease. *J Pharmacy Practice* 2006; 19; 17.
6. Capoluongo E, Moretto D, Giglio A, Belandi M, Prignano G, Crescimbeni E, et al. Heterogeneity of oral isolates of *candida albicans* in HIV positives patients: correlation between candidal carriage, karyotype and disease stage. *J Med Microbiol* 2000; 49: 985-91.
7. Vargas K, Messer SA, Pfaller M, Lockhart SR, Stapleton JT, Hellstein HJ, et al. Elevated phenotypic switching and drug resistance of *Candida albicans* from human immunodeficiency virus-positive individuals prior to first thrush episode. *J Clin Microbiol* 2000; 38 (10): 3595-607.
8. Furnawanthi I. Khasiat & manfaat lidah buaya si tanaman ajaib. Jakarta: Agro Media Pustaka, 2004.
9. Purbaya, JR. Mengenal & memanfaatkan khasiat Aloe Vera. Bandung: CV. Pionir Jaya, 2003.
10. Agarry O, Olaleye MT, Bello-Michael CO. Comparative antimicrobial activities of *aloe vera* gel and leaf. *African J Biotechnol* 2005; 4 (12):1413-14.
11. Mizugai H, Isogai E, Hirose K, Chiba I. Effect of denture wearing on occurrence of *candida* species in the oral cavity. *J Applied Res* 2007; 7 (3): 250-54.
12. Mason, Connie, Manuselis, George. Textbook of diagnostic microbiology. 2nd ed., Baltimore: Saunders 2000, 50-3.
13. Brooks GF, Butel JS, Morse SA, Jawetz. Melnick & Adelberg. Medical microbiology. 23th.ed., Connecticut : Appleton & Lange, 2004, 186-9.
14. Kemper KJ, Chiou V. Aloe vera. <<http://www.mcp.edu/herbal/default.htm>> (11 Februari 2009).
15. Nin Chow JT, Williamson DA, Yates KM, Goux WJ, Chemical characterization of the immunomodulating polysaccharide of *Aloe Vera* L. *J Carres* 2005; 340(6): 1131-42.

17. Samaranayake LP, Dessanayake JYY, Tsang WK, Heung BPK, Yeung KWS. Genotypic shuffling of sequential clones of *Candida albicans* in HIV-infected individuals with and without symptomatic oral candidiasis. *J Med Microbiol* 2003; 52: 349-59.
18. Zhao X, Daniels KJ, Hwan-oh S, Green CB, Yeater KM, Soll DR, *et al.* *Candida albicans* Als3p is required for wild-type biofilm formation on silicone elastomer surfaces. *Microbiology* 2006; 152 (8): 2287-99.
19. Ramage G, Saville SP, Wickes BL, Lopez-Ribot JL. Inhibition of *Candida albicans* biofilm formation by farnesol, a quorum-sensing molecule. *Appl Environ Microbiol* 2002a; 68: 5459-63.
20. Nobile CJ, Mitchell AP. Regulation of cell-surface genes and biofilm formation by the *C. albicans* transcription factor Bcr1p. *Curr Biol* 2005; 15: 1150-55.
21. Richard ML, Nobile CJ, Bruno VM, Mitchell AP. *Candida albicans* biofilm-defection mutants. *Eukaryot Cell* 2005; 4:1493-502.
22. Fichtenbaum CJ, Koletar S, Yiannoutsos C, Holland F, Pottage J, Cohn SE, *et al.* Refractory mucosal candidiasis in advanced human immunodeficiency virus infection. *Clin Infect Dis* 2000; 30: 749-56.