

PENGHAMBATAN CAJUPUTS CANDY TERHADAP VIABILITAS KHAMIR *Candida albicans* SECARA IN VITRO

[Inhibition of Cajuputs Candy Toward the Viability of *Candida albicans* by using In Vitro Assay]

C. Hanny Wijaya^{1)*}, A. Fieki Rachmatillah¹⁾ dan Boy M. Bachtiar²⁾

¹⁾Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor

²⁾Departemen Biologi Oral, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Indonesia, Jakarta

Diterima 27 April 2014 / Disetujui 01 Desember 2014

ABSTRACT

The utilization of cajuput essential oil as a flavor in candy may produce a physiological active added value. Some compounds of cajuput plant (*Melaleuca cajuputi* L) have been reported for their anti-microbial activities. *Candida albicans* is a normal commensal organism in human mouth. However, it may become virulent and responsible for oral diseases known as oral candidiasis. This study aimed to determine the effect of cajuput and peppermint oil in cajuputs candy in inhibiting the *C. albicans* biofilms formation by using in vitro biofilm assay and viability assay. Furthermore, the influence of concentration of cajuput oil on the anti-microbial activities had been analyzed. All the tested concentration of cajuput oil in cajuputs candy was effective to inhibit the viability of *C. albicans*. The provision of flavor components of cajuput and peppermint oil could produce synergistic effects compared to a single flavor component. The addition of cajuput oil at 0.6% was able to inhibit the viability of *C. albicans*. The activities of the cajuput oil showed positive correlation to the concentration. The variable of plus and minus 0.1% addition of the cajuput oil concentration, however, produced no significant difference to inhibit the growth of *C. albicans* in biofilm. Sensory test, hedonic test, was conducted to evaluate the flavor, aroma, and overall attributes, resulting in no significant difference between 0.6 to 0.8% additions of cajuput oil upon the sensory acceptance.

Keywords: biofilm assay, cajuputs candy, cajuput oil, *Candida albicans*, viability assay

ABSTRAK

Penggunaan minyak atsiri kayu putih sebagai perisa dalam permen memungkinkan memberi nilai tambah aktifitas fisiologis aktif bagi produk. Komponen yang terkandung dalam tanaman kayu putih (*Melaleuca cajuputi* L) dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba. *Candida albicans* adalah mikroorganisme flora normal mulut, namun pada kondisi tertentu dapat menjadi virulen dan bertanggungjawab atas terjadinya penyakit pada mulut yang dikenal sebagai kandidiasis mulut. Penelitian ini bertujuan untuk Menetapkan potensi perisa kayu putih dan peppermint yang terkandung di cajuputs candy dalam menghambat pembentukan biofilm *C.albicans* berdasarkan uji biofilm dan viabilitas secara in vitro. Pengaruh konsentrasi perisa kayu putih terhadap kemampuan penghambatan viabilitas *C.albicans* juga dianalisis dalam penelitian ini. Hasil uji menunjukkan bahwa konsentrasi minyak atsiri kayu putih yang ditambahkan pada cajuputs candy efektif untuk menghambat viabilitas *C. albicans*. Proporsi gabungan perisa kayu putih dan peppermint dapat memberikan efek sinergis dibandingkan dengan masing-masing perisa tunggalnya. Penambahan perisa kayu putih pada konsentrasi 0.6% dapat menghambat viabilitas *C. albicans*. Aktivitas perisa kayu putih berkorelasi positif dengan konsentrasinya, namun variasi penambahan dan pengurangan konsentrasi 0.1% belum memberikan hasil berbeda nyata terhadap penghambatan. Pembentukan biofilm *C.albicans* uji penerimaan sensori permen dengan menggunakan uji hedonik terhadap cita-rasa, aroma, dan keseluruhan atribut menunjukkan tidak adanya perbedaan nyata terhadap kesukaan pada penambahan perisa dengan kisaran 0.6 sampai 0.8%.

Kata kunci: cajuputs candy, *Candida albicans*, bioavailabilitas, biofilm

PENDAHULUAN

Sariawan merupakan salah satu infeksi pada jaringan mukosa mulut yang sering terjadi secara berulang. Penyakit ini dikenal dengan nama Stomatitis Aftosa Rekuren (SAR) dikalangan medis (Haikal, 2009). Salah satu pemicu terjadinya SAR adalah keberadaan *Candida albicans*. *C. albicans* merupakan flora normal usus, hidup komensal dalam rongga mulut dan saluran pencernaan (Juanda, 1999). Pada umumnya *C. albicans* berada dalam tubuh manusia sebagai flora normal, dan infeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi pada tubuh inang. Faktor-faktor yang memungkinkan terjadinya

infeksi jamur *Candida* (kandidosis) antara lain kondisi tubuh yang lemah atau keadaan umum seseorang yang buruk, dikarenakan adanya penyakit tertentu, dan kehamilan (Tjampakasari, 2006). *C. albicans* dapat membentuk komunitas dengan membentuk koloni yang disebut biofilm, berfungsi sebagai pelindung sehingga menyebabkan *C. albicans* memiliki resistensi terhadap antimikroba tertentu (Nobile dan Mitchell, 2005).

Tanaman kayu putih (*Melaleuca cajuputi* L dan *Melaleuca leucadendron*) merupakan salah satu tanaman penghasil minyak atsiri (Polontalo, 2009). Minyak atsiri kayu putih diperoleh melalui proses penyulingan daun tanaman kayu putih. Sifat kimia minyak kayu putih ditentukan oleh komponennya, seperti sineol sebagai komponen utama (Ketaren dan Djatmiko,

*Penulis Korespondensi:
E-mail: hazemi@indo.net.id

1978) dan senyawa-senyawa lain seperti Benzaldehid, Valeraldehid, α -Terpineol, l- α -Pinen, l-Limonen, Dipenten, Seskuitrpen, Azulen dan Seskuitrpen alkohol (Guenther, 1990). Kemampuan komponen α -terpineol dan terpien-4-ol yang terkandung dalam minyak atsiri kayu putih dilaporkan mampu menghambat aktivitas mikroba *Streptococcus spp.* dan *C. albicans* (Jedlickova *et al.* 1994). Minyak atsiri *peppermint* yang memiliki menthol sebagai komponen utama juga dilaporkan mampu menekan aktivitas mikroba penyebab kariogenik (Dwivedi *et al.* 2012; Galvao *et al.* 2012). Kariogenik merupakan suatu keadaan dimana terjadi karies gigi (Nishikawara *et al.* 2006).

Asupan pangan dapat mengubah homeostatis mikroba pembentuk biofilm dalam mulut menjadi sesuatu yang menguntungkan atau merugikan bagi inangnya (Kreth *et al.* 2008). Penelitian terkini menunjukkan bahwa asupan pangan dapat memerankan fungsi dalam pencegahan penyakit dan menjaga keseimbangan mikroflora dalam mulut (Kazemi *et al.* 2011). *Cajuputs candy* merupakan produk konfeksioneri yang mengandung komponen *flavor* minyak atsiri kayu putih dan minyak *peppermint* (Wijaya *et al.* 2002). Pemanfaatan minyak atsiri kayu putih sebagai komponen *flavor* pada permen didasarkan pada pertimbangan bahwa minyak atsiri kayu putih dapat juga berfungsi obat internal, antimikroba, dan antimikotik (Agusta, 2000). Minyak atsiri kayu putih dikenal sebagai ingredien perisa alami yang diperbolehkan oleh FDA, JEFCA dan FEMA (Burdock, 2010). Menurut Burdock (2010), asupan harian yang dimungkinkan (*Possible Average Daily Intake* = PADI) dari minyak atsiri ini sesuai dengan ketentuan FEMA (1994) adalah 0.831 mg. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memastikan kemampuan formula dan konsentrasi *ingredient* penyusun *cajuputs candy* untuk menghambat pembentukan biofilm dan viabilitas *Candida albicans* secara *in vitro*. Penelitian ini juga bertujuan untuk mengetahui respon penerimaan sensori produk *cajuputs candy* yang dihasilkan.

BAHAN DAN METODE

Bahan

Minyak atsiri kayu putih diperoleh dari pulau Buru dan minyak *peppermint* diperoleh dari Brataco Chemical Ltd. *Candida albicans* ATCC 10231 diperoleh dari laboratorium biologi oral Fakultas Kedokteran Gigi Univeritas Indonesia. Sirup glukosa dan pereaksi yang digunakan untuk analisis diperoleh dari supplier di Jakarta, sedangkan sukrosa dibeli di supermarket di Bogor.

Pembuatan sampel *cajuputs candy*

Permen dibuat dengan mencampur sukrosa dan air kemudian dipanaskan hingga suhu 110°C, kemudian ditambahkan sirup glukosa. Pemanasan dilanjutkan hingga suhu 138°C. Setelah tercapai suhu 138°C pemanasan dihentikan dan komponen *flavor* minyak kayu putih (MKP) dan minyak *peppermint* (MPP) ditambahkan, kemudian adonan *cajuputs candy* dicetak (Wijaya *et al.* 2002).

Pada penelitian ini dibuat permen dengan berbagai formula. Pada uji pendahuluan dibuat 2 variasi formula MKP, yaitu formula A 0.7% dan formula B 1.4% untuk mengetahui konsentrasi MKP dalam *cajuputs candy* yang efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *C. albicans*. Pada pengujian pengaruh masing-masing *ingredient* penyusun terhadap kemampuan penghambatan dibuat 4 formulasi yaitu formula C kontrol (tanpa penambahan *flavor* Minyak Kayu Putih (MKP) dan Minyak *Peppermint* (MPP)), formula D (MKP 0.7%), formula E (MPP 0.2%) dan formula F (formula standar lengkap MKP 0.7% dan MPP 0.2%). Pada pengujian untuk mengetahui konsentrasi minyak atsiri kayu putih yang paling efektif dalam menghambat viabilitas *C. albicans* uji sensori hedonik, formula yang dibuat adalah variasi MKP dengan penambahan dan pengurangan 0.1% dari konsentrasi standar (formula G MKP 0.6%, formula H MKP 0.7% dan formula I MKP 0.8%).

Pada uji kemampuan penghambatan *cajuputs candy* terhadap pembentukan biofilm dan viabilitas *C. albicans*, terlebih dahulu dilakukan proses pelarutan sampel *cajuputs candy* dengan menggunakan aquades dengan perbandingan sampel dan aquades 1:1 (v/v). Larutan ini yang selanjutnya diujikan.

Persiapan saliva (Ye *et al.* 2004)

Sebelum dilakukan pengambilan saliva, donor terlebih dahulu berkumur-kumur menggunakan air dalam kemasan kemudian saliva ditampung dalam tube 15 mL yang diletakkan di dalam es selama sepuluh menit. Selanjutnya dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 12000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C, ke dalam tabung saliva ditambahkan phenylmethylsulfonyl 1 μ L (E-Merck), supernatan yang dihasilkan kemudian difilter dengan *filter sartorius* yang berdiameter 0.20 μ m dan disterilisasi. Saliva dilapiskan ke dalam sumur @50 μ L, dan diinkubasi selama empat jam pada suhu 37°C. Saliva kemudian dibuang, sehingga dihasilkan endapan protein yang merupakan komponen-komponen saliva seperti enzim, mucins, dan proline (Ye *et al.* 2004). Sumur selanjutnya dicuci dengan 200 μ L Phosphate Buffer Saline (PBS) (E-Merck). Sebanyak 2×10^6 CFU/mL *C. albicans* selanjutnya diinokulasikan ke dalam sumur. Penggunaan saliva bertujuan untuk menciptakan kondisi percobaan seperti keadaan mulut pada umumnya.

Persiapan serum

Pelapisan serum pada dasar sumur bertujuan untuk menginduksi pembentukan hifa *C. albicans*. Serum merupakan campuran kompleks albumin, faktor pertumbuhan, dan penghambat pertumbuhan. FBS diambil dari serum fetus hewan dan tidak ada tambahan campuran kimia lainnya (Hudson and Smith, 1998). Prosedur yang dilakukan sama dengan prosedur persiapan saliva. Serum dengan konsentrasi 50% ditampung pada tube 15 mL dalam es selama sepuluh menit, kemudian dilakukan sentrifuse 12000 rpm selama 15 menit pada suhu 4°C, dan ditambahkan phenylmethylsulfonyl 1 μ L (E-Merck), supernatan yang dihasilkan difilter dan disterilisasi. Selanjutnya serum sebanyak @50 μ L dituangkan ke dalam sumur. Setelah diinkubasi selama empat jam pada suhu 37°C, serum kemudian dibuang dan dibilas menggunakan 200 μ L Phosphate Buffer Saline (PBS). *C. albicans* siap diinokulasikan kedalam sumur.

Pembenihan *Candida albicans*

C. albicans ditumbuhkan pada media Sabourauds Dextrose Agar (SDA) dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil biakan kemudian diambil sebanyak satu ose dan dimasukkan ke dalam media YNB, dan diinkubasi pada *shaker incubator* (Memmert) pada suhu 37°C selama 24 jam. Medium kultur YNB yang telah ditumbuhi oleh mikroba uji, selanjutnya diukur nilai Optical Density (OD)nya menggunakan *microplate ELISA reader* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA). *Microplate ELISA reader* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) adalah alat yang berfungsi mengukur tingkat kemampuan gelombang cahaya untuk menembus suatu larutan atau suspensi. Apabila di dalam medium kultur YNB banyak ditumbuhi mikroba uji maka nilai OD yang dihasilkan akan tinggi. Panjang gelombang yang digunakan pada pengukuran ini adalah 655 nm. Untuk mendapatkan konsentrasi yang sama dalam setiap perlakuan dilakukan pengukuran konsentrasi awal mikroba uji.

Pengukuran konsentrasi mikroba uji

Medium kultur Yeast Nitrogen Base (YNB), yang ditumbuhi oleh mikroba uji diambil sebanyak 200 µL kemudian ditempatkan dalam sumur dan dimasukkan ke dalam *microplate ELISA reader* (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) yang telah diatur pada panjang gelombang 655 nm. Setelah diketahui konsentrasi dari mikroba uji dilakukan pengenceran untuk mendapatkan konsentrasi mikroba uji yang seragam menggunakan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS). Nilai konsentrasi *C. albicans* yang akan diujikan pada setiap perlakuan adalah 10⁶ CFU/mL. Untuk mengetahui besarnya konsentrasi mikroba uji yang harus diinokulasikan ke dalam sumur, dilakukan perhitungan dengan menggunakan persamaan dibawah ini:

$$V_1 M_1 = V_2 M_2$$

Keterangan:

V₁ : Volume awal mikroba uji

M₁ : Konsentrasi awal Optical Density (OD) mikroba uji yang diukur dengan *microplate reader*

V₂ : Volume yang dibutuhkan untuk melakukan perlakuan (96 sumur (NUNC Denmark) x 100 µL = 9.6 mL)

M₂ : Konsentrasi mikroba yang diharapkan (10⁶ CFU/mL)

Penentuan konsentrasi efektif MKP dan pengaruh komponen-komponen penyusun formula *cajuputs candy* (Wijaya et al. 2002)

C. albicans dengan konsentrasi 10⁶ CFU/mL dimasukkan ke dalam *tissue culture plate* 96 sumur sebanyak 100 µL yang telah dilapisi saliva atau serum, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 90 menit dalam *shaker incubator* (Memmert). Selanjutnya *C. albicans* dibuang sehingga meninggalkan biofilm pada permukaan sumur, dan dilakukan pembilasan sebanyak dua kali menggunakan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS). Sumur baris pertama ditambahkan medium YNB sebanyak 200 µL tanpa bahan uji, berfungsi sebagai kontrol positif. Kontrol positif merupakan kelompok perlakuan tanpa penambahan bahan uji. Sumur baris kedua diberi perlakuan penambahan 150 µL media YNB dan 50 µL formula *cajuputs candy* yang mengandung sukrosa, sirup glukosa, minyak kayu putih konsentrasi 0.7%, dan minyak *peppermint* (formula A). Sumur ketiga diberi perlakuan penambahan 150 µL media YNB dan 50

µL formula *cajuputs candy* yang mengandung sukrosa, sirup glukosa, minyak kayu putih dengan konsentrasi 1.4% dan minyak *peppermint* (formula B). Kontrol negatif diperoleh dengan menginjeksikan medium YNB sebanyak 200 µL tanpa bahan uji dan tanpa penambahan *C. albicans* ke dalam sumur ke delapan. Sampel perlakuan selanjutnya digunakan dalam uji biofilm dan uji viabilitas.

Persiapan sampel uji berikutnya bertujuan untuk mengetahui pengaruh formula penyusun *cajuputs candy*. Penempatan kontrol positif ditambahkan pada sumur baris pertama, dan kontrol negatif pada sumur kedelapan. Sumur kedua diberi perlakuan penambahan 150 µL media YNB dan 50 µL formula *cajuputs candy* yang mengandung komponen sukrosa, sirup glukosa, dan air mineral. Formula ini merupakan formula *hard candy* pada umumnya tanpa dilakukan penambahan komponen *flavor* minyak atsiri kayu putih dan minyak *peppermint* (formula C). Sumur ketiga (formula D) diberi 150 µL media YNB dan 50 µL perlakuan penambahan *cajuputs candy* dengan komponen penyusunnya berupa sukrosa, sirup glukosa, air mineral, dan minyak atsiri kayu putih. Sedangkan untuk sumur keempat (formula E) berisi 150 µL media YNB dan 50 µL *cajuputs candy* dengan komposisi sukrosa, sirup glukosa, air mineral, dan minyak atsiri *peppermint*. Sumur kelima diberi perlakuan penambahan 150 µL media YNB dan 50 µL *cajuputs candy* dengan komponen penyusunnya berupa sukrosa, sirup glukosa, air mineral, minyak atsiri kayu putih dan minyak *peppermint* (formula F). Sampel perlakuan selanjutnya digunakan dalam uji biofilm dan uji viabilitas.

Pengaruh variasi konsentrasi komponen MKP terhadap viabilitas *C. albicans*

Persiapan sampel uji yang terakhir ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minyak atsiri kayu putih yang efektif dalam menghambat pembentukan biofilm dan viabilitas khamir *C. albicans*. *C. albicans* dengan konsentrasi 10⁶ CFU/mL dimasukkan ke dalam *tissue culture plate* 96 sumur sebanyak 100 µL yang telah dilapisi saliva atau serum, kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 90 menit dalam *shaker incubator* (Memmert). *C. albicans* selanjutnya dibuang sehingga meninggalkan biofilm pada permukaan sumur, dan dilakukan pembilasan sebanyak dua kali menggunakan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS). Sumur pada baris pertama merupakan kontrol, kemudian sumur pada baris kedua ditambahkan 150 µL media YNB dan 50 µL formula *cajuputs candy* dengan penambahan konsentrasi minyak atsiri kayu putih sebesar (0.7-0.1%) yang kemudian disebut sebagai formula G. Sumur pada baris keempat (formula H) dan kelima (formula I) masing-masing ditambahkan 150 µL media YNB dan 50 µL *cajuputs candy* dengan konsentrasi minyak atsiri kayu putih sebesar (0.7%) dan (0.7+0.1%). Sebagai kontrol negatif ditambahkan medium YNB sebanyak 200 µL pada sumur kedelapan. Sampel perlakuan selanjutnya digunakan dalam uji biofilm dan uji viabilitas.

Uji viabilitas *C. albicans* dilakukan dengan dua kali ulangan perlakuan dan masing-masing perlakuan menggunakan tiga ulangan pengukuran. *Tissue Culture Plate* yang sudah terisi selanjutnya diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah diinkubasi selama 24 jam cairan yang

ada dalam tiap sumur dikeluarkan dengan menggunakan pipet sehingga meninggalkan biofilm yang melekat pada dasar sumur. Masing-masing biofilm yang dihasilkan dicuci menggunakan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS) sebanyak 100 μ L untuk membersihkan sisa setiap perlakuan.

Prosedur uji biofilm (Broschat et al. 2005)

Pemberian larutan Crystal Violet (CV) untuk mengkuantifikasi *C. albicans* yang membentuk biofilm di dasar sumur (Broschat et al. 2005). Ke dalam setiap sumur dimasukan crystal violet (CV) 0.5% sebanyak 200 μ L, dan setelah didiamkan selama 15 menit, cairan CV yang ada pada tiap sumur dibuang. Biofilm yang tampak berwarna ungu kemudian dicuci sebanyak 2 kali, dengan menggunakan larutan Phosphate Buffer Saline (PBS, pH 7.2) diangin-anginkan pada suhu ruang dengan kondisi steril. Setelah kering, ke dalam sumur ditambahkan etanol 95% sebanyak 200 μ L dengan tujuan untuk melepaskan CV dari dinding sel *C. albicans*. Microplate yang telah berisi suspensi campuran biofilm dan etanol selanjutnya dimasukan ke dalam microplate ELISA reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) pada panjang gelombang 655 nm. Pengukuran menggunakan ELISA reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) akan menghasilkan nilai OD.

Prosedur uji viabilitas (Doyle dan Griffith, 2000)

Selain itu dilakukan pengukuran viabilitas *C. albicans* dengan menggunakan metode uji MTT. Metode ini merupakan metode kolorimetrik, dimana pereaksi 3-[4,5-dimethylthiazol-2-yl]-2,5-diphenyl tetrazolium bromide (MTT) (E-Merck) yang merupakan garam tetrazolium dapat dipecah menjadi kristal formazan oleh sistem suksinat tetrazolium reduktase yang terdapat dalam jalur respirasi sel pada mitokondria yang aktif pada sel yang masih hidup. Kristal formazan ini memberi warna ungu yang dapat dibaca absorbansinya dengan menggunakan microplate ELISA reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) (Doyle dan Griffith, 2000). Cairan pada tiap sumur dibuang sebanyak 100 μ L, ditambahkan pereaksi MTT @ 50 μ L dan diinkubasi selama tiga jam pada 37°C, kemudian ditambahkan isopropanol acidified sebanyak 100 μ L untuk menghentikan pereaksi MTT, lalu dibaca pada microplate ELISA reader (Bio-Rad Laboratories, Hercules, CA) pada panjang gelombang 655 nm.

Uji organoleptik (Adawiyah dan Waysima, 2009)

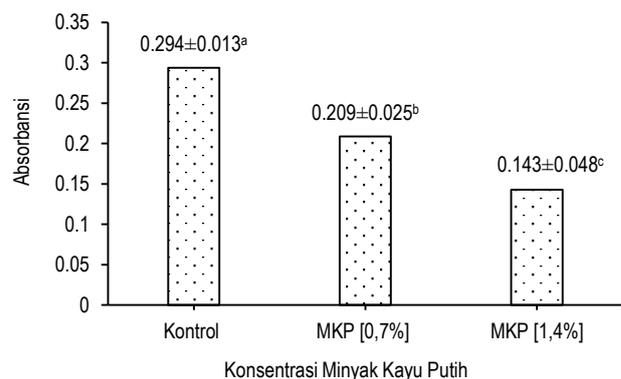
Uji organoleptik yang digunakan dalam pengujian ini adalah uji rating hedonik yang bertujuan untuk mengevaluasi daya terima panelis terhadap produk yang diujikan. Uji ini dilakukan oleh 70 orang panelis tidak terlatih. Panelis diminta untuk mencoba tiga buah sampel *cajuputs candy* yang disajikan dari kiri ke kanan dengan cara mencium dan mengulum sampel tersebut. Setiap pergantian sampel, panelis diminta untuk menetralkan mulut dengan meminum air mineral yang disediakan. Pada setiap sampel diberikan kode acak berupa tiga digit angka yang kemudian disajikan kepada panelis secara bersamaan. Sampel yang diberikan kepada panelis sebelumnya telah dihancurkan dengan tujuan untuk mengurangi bias terhadap bentuk sampel yang berbeda-beda. Atribut sensorial yang diuji meliputi aroma, rasa, dan overall. Analisis data

dilakukan menggunakan *Analysis of Variance* (ANOVA) dengan uji lanjut Duncan. Uji ini menggunakan taraf signifikansi 5%. Skala yang digunakan adalah skala kategori 7 poin dengan deskripsi sebagai berikut: (1) sangat tidak suka, (2) tidak suka, (3) agak tidak suka, (4) netral, (5) agak suka, (6) suka, (7) sangat suka. Uji rating hedonik dilakukan terhadap tiga formula *cajuputs candy* yaitu formula G, H dan I.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Konsentrasi minyak kayu putih dalam formula *cajuputs candy* yang dapat menghambat viabilitas *C. albicans*

Cajuputs candy yang dihasilkan dari proses pemanasan memiliki karakteristik penampakan bening dengan tekstur yang keras. Mengingat uji penghambatan viabilitas khamir *C. albicans* dilakukan dalam bentuk cair, maka diperlukan proses pelarutan permen kembali ke dalam bentuk cair yang dalam penelitian ini dilarutkan dengan aquades 1:1 (v/v), sehingga semua konsentrasi terencerkan satu kali. Nurramdhan (2010) dalam penelitiannya mengenai kemampuan minyak kayu putih dan komponen penyusun *flavor cajuputs candy* terhadap akumulasi biofilm *Streptococcus mutans* dan *Streptococcus sobrinus* tidak melakukan proses pemanasan hingga menjadi permen, formula dalam pengujian yang digunakan adalah formula dalam bentuk cair, dan tidak memerlukan pelarutan *cajuputs candy*. Dalam penelitian ini dilakukan modifikasi terhadap penelitian Nurramdhan (2010) dengan melakukan proses pemanasan formula *cajuputs candy* sehingga menjadi produk permen. Dengan perlakuan ini diharapkan formula penyusun dalam permen lebih mendekati produk yang sebenarnya. Hasil pengujian menunjukkan bahwa konsentrasi minyak kayu putih sebesar 0.7% yang ditambahkan dalam formula *cajuputs candy* mampu menghambat pembentukan biofilm *C. albicans* dibandingkan dengan kontrol berkorelasi positif dengan konsentrasi MKP yang ditambahkan (Gambar 1). Pelczar et al. (1993) menyebutkan semakin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba maka semakin efektif antimikroba tersebut menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroorganisme.



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%

Gambar 1. Penambahan konsentrasi minyak kayu putih dalam *cajuputs candy* terhadap pembentukan biofilm (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) (MKP= minyak kayu putih)

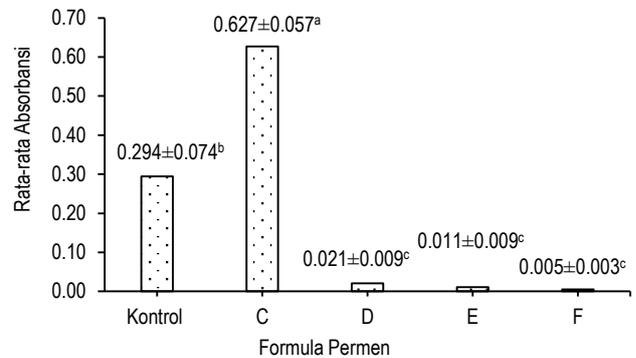
Daya hambat terhadap pembentukan biofilm mengindikasikan potensi minyak kayu putih dalam menghambat aktivitas *C. albicans*. Dutta *et al.* (2007) menyebutkan bahwa minyak atsiri yang dihasilkan dari tanaman *Eucalyptus citriodora* memiliki aktivitas dalam menghambat spesies *Candida*. Daya hambat yang dimiliki *Eucalyptus citriodora* ini disebabkan karena komponen yang terkandung dalam minyak atsiri kayu putih dapat menghambat jalur respirasi kimia dan merusak struktur sel seperti degradasi dinding sel, penghambatan aktivitas enzim protease, dan merusak membran sel (Burt, 2004). Aktivitas serupa yang mungkin dimiliki oleh MKP mengingat MKP mempunyai kandungan komponen aktif yang menyerupai minyak atsiri dari *E. citriodora*. Pada pengujian ini hanya menggunakan dua variasi konsentrasi minyak atsiri kayu putih dan konsentrasi yang diujikan tidak melebihi 1.4%. Hal ini didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya yang menunjukkan bahwa pemberian komponen *flavor* yang berlebihan dapat menyebabkan rasa pahit pada produk akhir sehingga penerimaan konsumen akan rendah. Pemilihan konsentrasi ini didasarkan pada hasil penelitian sebelumnya yang telah diterima secara organoleptik (Wijaya *et al.* 2002).

Data hasil uji MTT juga menunjukkan rata-rata viabilitas sel hidup pada perlakuan yang diberi formula *cajuputs candy* dengan penambahan minyak kayu putih sebesar 1.4% lebih rendah dibandingkan perlakuan penambahan formula *cajuputs candy* dengan minyak kayu putih sebesar 0.7% seperti tampak pada Gambar 1. Persentase rata-rata viabilitas *C. albicans* yang ditemukan pada pemberian formula *cajuputs candy* dengan penambahan minyak kayu putih sebesar 0.7% mencapai lebih dari 100%. Hasil ini dimungkinkan karena pada kondisi normal sukrosa yang berperan sebagai komponen utama dalam *cajuputs candy* dapat meningkatkan viabilitas *C. albicans*. Menurut Kirkpatrick *et al.* (2000), *C. albicans* membutuhkan sukrosa dan glukosa yang terkandung dalam makanan dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans* di dalam mulut seseorang. Dalam penelitian ini, penambahan minyak atsiri kayu putih dalam formula *cajuputs candy* dengan konsentrasi 0.7% dan 1.4% menghasilkan perbedaan yang nyata pada taraf signifikansi 5% terhadap viabilitas khamir *C. albicans*. Berdasarkan data yang didapatkan dari uji biofilm dan uji MTT, diperoleh konsentrasi yang lebih efektif dalam menghambat pembentukan biofilm dan viabilitas *C. albicans* yaitu formula *cajuputs candy* dengan penambahan *flavor* minyak kayu putih konsentrasi 1.4%. Pada penambahan 0.7% MKP nampak belum sempurna menghambat pembentukan biofilm mungkin dikarenakan komponen-komponen penyusun permen seperti sukrosa dan glukosa merupakan sumber senyawa karbon dan sumber energi yang dapat digunakan untuk pertumbuhan dan proses metabolisme *C. albicans* (Tjampakasari, 2006). Menurut Kirkpatrick *et al.* (2000), sukrosa dan glukosa yang terkandung dalam makanan dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans* di dalam mulut seseorang.

Pengaruh formula penyusun *Cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans*

Hasil uji formula penyusun *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* dengan penambahan saliva dan penambahan serum dapat dilihat pada Gambar 2 dan 3. Hasil

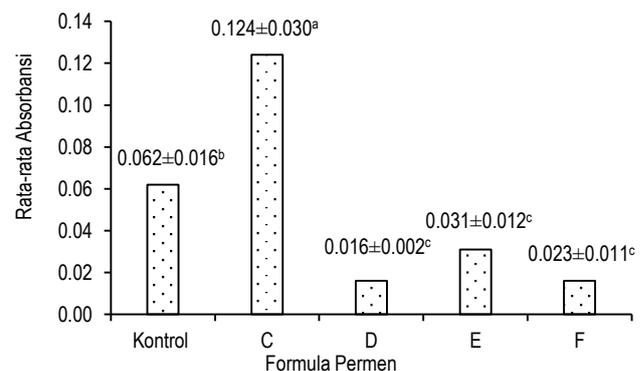
yang diperoleh dari uji biofilm dengan penambahan saliva dan serum menunjukkan *hard candy* tanpa penambahan komponen MKP (formula C) memiliki nilai absorbansi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan kontrol. Hasil ini menunjukkan formula *hard candy* tanpa penambahan komponen *flavor* mampu meningkatkan pembentukan biofilm *C. albicans*. Ye *et al.* (2004) menyebutkan komponen glukosa mampu meningkatkan pertumbuhan *C. albicans*.



Keterangan : *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%

- C : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, dan air
- D : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak kayu putih (MKP) 0.7%, dan air
- E : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak *peppermint* (MPP) 0.2%, dan air
- F : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, MKP 0.7%, MPP 0.2%, dan air

Gambar 2. Pengaruh ingredien penyusun *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* pada uji biofilm (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) dengan penambahan saliva



Keterangan : *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%

- C : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, dan air
- D : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak kayu putih (MKP) 0.7%, dan air
- E : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak *peppermint* (MPP) 0.2%, dan air
- F : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, MKP 0.7%, MPP 0.2%, dan air

Gambar 3. Pengaruh ingredien *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* pada uji biofilm (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) dengan penambahan serum

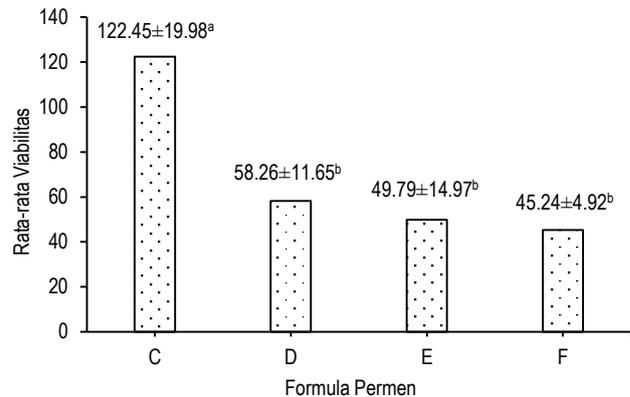
Sukrosa dan sirup glukosa merupakan komponen utama dalam pembuatan permen minyak kayu putih. Cummings (1995) menyebutkan dalam produk *high boiled sweet* umumnya mengandung 95-98% komponen sukrosa dan sirup glukosa. Karbohidrat seperti sukrosa dan glukosa yang tersedia di lingkungan dapat dimanfaatkan oleh *C. albicans* untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubahnya menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob, dan dalam suasana anaerob dihasilkan asam laktat atau etanol dan CO₂ (Tjampakasari, 2006). Menurut Mayo dan Ritchie (2009), sukrosa dan glukosa adalah sumber karbon yang baik bagi pertumbuhan mikroba pembentuk biofilm. Hasil pengujian *hard candy* dengan penambahan minyak atsiri kayu putih (formula D) menunjukkan absorbansi yang jauh lebih rendah bila dibandingkan dengan kontrol dan formula C. Hasil ini menjelaskan bahwa penambahan MKP pada permen mampu menghambat pembentukan biofilm *C. albicans*. Komponen fenolik yang terkandung dalam MKP dapat berperan sebagai antimikotik (Agusta, 2000).

Hasil pengujian kombinasi MKP dengan MPP menunjukkan nilai absorbansi yang paling rendah, baik pada penambahan serum maupun saliva. Hasil uji ini menunjukkan adanya sinergitas aktivitas antara MKP dan MPP. Efek sinergistik didapatkan bila penghambatan yang dihasilkan dari penggabungan komponen menghasilkan efek penghambatan yang lebih besar bila dibandingkan dengan efek penghambatan komponen yang ditambahkan secara tunggal (Burt, 2004).

Hasil uji biofilm dengan komponen saliva terhadap *hard candy* dengan penambahan MPP saja menunjukkan nilai absorbansi yang lebih rendah bila dibandingkan dengan nilai absorbansi formula *hard candy* dengan penambahan MKP saja. Namun hal sebaliknya terjadi pada hasil uji biofilm dengan komponen serum. Formula *hard candy* dengan penambahan MPP memiliki nilai absorbansi yang lebih tinggi bila dibandingkan dengan formula *hard candy* dengan penambahan MKP saja. Penambahan komponen saliva dalam pengujian sangat dipengaruhi oleh kualitas saliva yang digunakan. Kualitas saliva meliputi kualitas kesehatan pendonor, dan waktu pengambilan saliva. Saliva berperan dalam membersihkan mukosa mulut dari mikroorganisme. Saliva mengandung beberapa komponen antimikroba seperti laktoferin, sialoperoxidase, lysozyme, histidine-rich polypeptides, dan antibodi yang spesifik melawan spesies *Candida* (Wyk, 2011). Sebaliknya komponen serum digunakan untuk mengidentifikasi pembentukan germ tube *C. albicans*, yaitu dengan menginkubasikan isolat *C. albicans* dalam serum pada suhu 37°C. Germ tube merupakan bentuk awal transisi hifa dari *C. albicans* yang mengindikasikan viabilitas jamur tersebut.

Pada pengujian menggunakan senyawa MTT juga terlihat bahwa penambahan MKP (formula D) menghasilkan persentase viabilitas yang lebih rendah bila dibandingkan dengan *hard candy* tanpa penambahan MKP (formula C) pada uji dengan penambahan saliva (Gambar 4). Ye *et al.* (2004) menyebutkan bahwa glukosa yang termasuk dalam *dietary sugar* dapat meningkatkan viabilitas *C. albicans*. Glukosa dapat mengubah komponen pada permukaan dinding sel, dan menghasilkan peningkatan sintesis adhesin. Peningkatan adhesin akan merangsang pembentukan biofilm *C. albicans* (Ye *et al.* 2004).

Tanpa MKP viabilitas dan pembentukan biofilm *C. albicans* akan tidak terhambat.



Keterangan : *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%

C : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, dan air

D : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak kayu putih (MKP) 0.7%, dan air

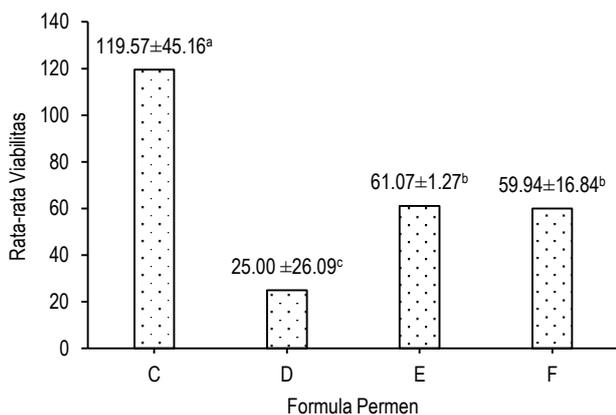
E : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak peppermint (MPP) 0.2%, dan air

F : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, MKP 0.7%, MPP 0.2%, dan air

Gambar 4. Pengaruh ingredien *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) menggunakan uji MTT dengan penambahan saliva

Perlakuan penambahan minyak atsiri *peppermint* (MPP) dan minyak kayu putih (MKP) secara bersamaan menghasilkan viabilitas yang paling rendah bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Efek penghambatan ini diduga karena senyawa yang terkandung dalam komponen MKP bersinergi dengan senyawa yang terdapat pada MPP. Pelczar *et al.* (1993) menyebutkan bahwa pangan dapat mengandung beberapa komponen antioksidan dan antimikroba yang saling berinteraksi dan saling bersinergi yang dalam hal ini disebabkan oleh adanya kandungan senyawa kimia dalam minyak atsiri kayu putih dan minyak *peppermint*. Agarwal *et al.* (2010) menyebutkan bahwa minyak kayu putih yang dihasilkan dari penyulingan tanaman *Eucalyptus globulus* dan minyak *peppermint* yang dihasilkan dari hasil penyulingan daun tanaman *Mentha piperita* memiliki sifat fungistatik, fungisidal dan antibiofilm. Minyak atsiri *peppermint* (MPP) mengandung bermacam-macam senyawa terpenoids terutama senyawa derivat p-menthanes seperti limonene, menthol, menthone, dan pulegone dengan menthol sebagai kandungan terbesar (Dwivedi *et al.* 2012; Galvao *et al.* 2012). Kandungan menthol dalam minyak atsiri *peppermint* sebesar 59% (Bakkali *et al.* 2008). Burt (2004) melaporkan bahwa senyawa menthol dan limonene memiliki aktivitas antimikroba. *Peppermint* (*Mentha piperita*) juga dilaporkan dapat menghambat pertumbuhan mikroba pembentuk biofilm secara *in vitro* (Sandasi *et al.* 2011). Minyak atsiri kayu putih (MKP) mengandung komponen sineol sebagai komponen utamanya. Sineol merupakan komponen tertinggi yang ditemukan pada komposisi minyak asiri kayu putih (Ketaren dan Djatmiko, 1978). Komponen ini berperan melawan patogen seperti *S. aureus*, *F. solani*, *E. coli*, dan *B.*

subtilis. Sineol termasuk dalam golongan terpenoid yang memiliki aktivitas antibakteri (Conner, 1993). Mekanisme antimikroba golongan terpenoid umumnya dengan merusak membran sel mikroba. Komponen membran sel mikroba terdiri dari fosfolipid dan protein. Mekanisme sineol dalam merusak membran sel mikroba dimungkinkan dengan mengganggu lapisan fosfolipid membran sel yang menyebabkan peningkatan permeabilitas dan kehilangan unsur pokok penyusun sel (Hamoud *et al.* 2012). Selain komponen mayor atau komponen dominan yang memiliki aktivitas antimikroba, komponen minor yang terkandung dalam minyak atsiri juga memiliki aktivitas antimikroba (Hamoud *et al.* 2012). Komponen minor dapat menyumbangkan efek sinergistik dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Bakkali *et al.* (2008) menyebutkan bahwa γ -terpinene, p-cymene, α -pinene dan α -terpineol merupakan komponen minor tanaman *E. globules*, dan memiliki aktivitas sebagai antimikroba. Pada studi ini diketahui bahwa *cajuputs candy* dengan komponen *flavor* lengkap memiliki efek penghambatan pembentukan biofilm yang paling baik dibandingkan pemberian komponen *flavor* secara tunggal. Hasil pengujian dengan penambahan komponen serum dapat dilihat pada Gambar 5.



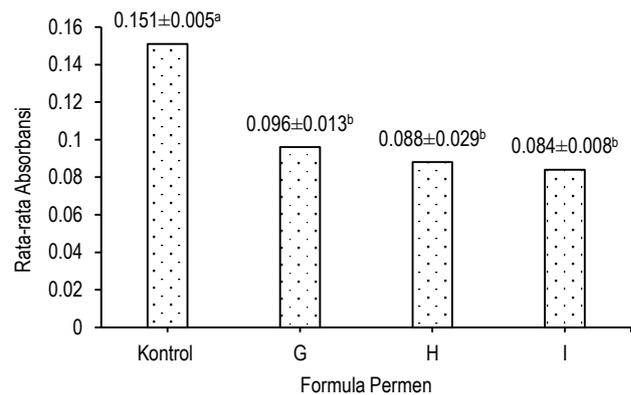
Keterangan : *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%
 C : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, dan air
 D : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak kayu putih (MKP) 0.7%, dan air
 E : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, minyak peppermint (MPP) 0.2%, dan air
 F : Formula perlakuan terdiri dari sukrosa, sirup glukosa, MKP 0.7%, MPP 0.2%, dan air

Gambar 5. Pengaruh *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) menggunakan uji MTT dengan penambahan serum

Hard candy tanpa komponen *flavor* (formula C) menghasilkan viabilitas yang paling tinggi, sedangkan penambahan MKP menghasilkan penghambatan viabilitas yang paling rendah bila dibandingkan dengan perlakuan lainnya. Penambahan MKP dan MPP bersamaan akan memberikan efek sinergisme daripada hanya penambahan MPP saja, namun berbeda dengan hasil pada saliva, aktivitas penambahan MKP dan MPP tidak sekuat penghambatan MKP saja (Gambar 5). Fenomena yang serupa dengan hasil uji uii biofilm (Gambar 3).

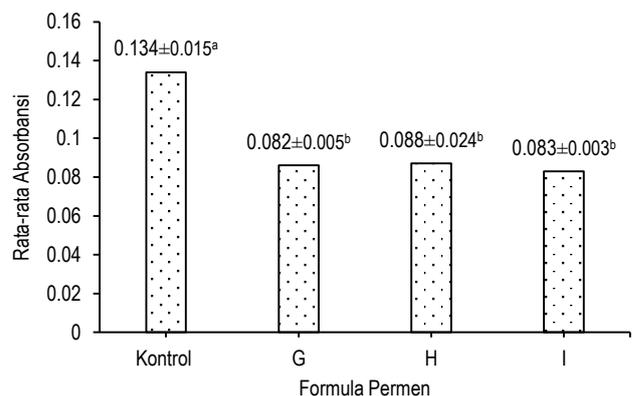
Pengaruh konsentrasi minyak atsiri kayu putih terhadap viabilitas *Candida albicans*

Penelitian selanjutnya dilakukan untuk mengetahui pengaruh perbedaan konsentrasi minyak atsiri kayu putih terhadap pembentukan biofilm dan viabilitas khamir *C. albicans*. Pengujian dilakukan dengan menggunakan tiga konsentrasi minyak atsiri kayu putih berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan (Wijaya *et al.* 2002) yaitu 0.7% yang ditambah dan dikurangi 0.1%. Hasil pengujian, menunjukkan bahwa pemberian formula *cajuputs candy* dengan penambahan MKP pada konsentrasi 0.6% telah mampu menghambat viabilitas *C. albicans* (Gambar 6 dan 7).



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%. Formula Uji :
 G = MKP 0.6% & MPM 0.2% H = MKP 0.7% & MPM 0.2%
 I = MKP 0.8% & MPM 0.2%

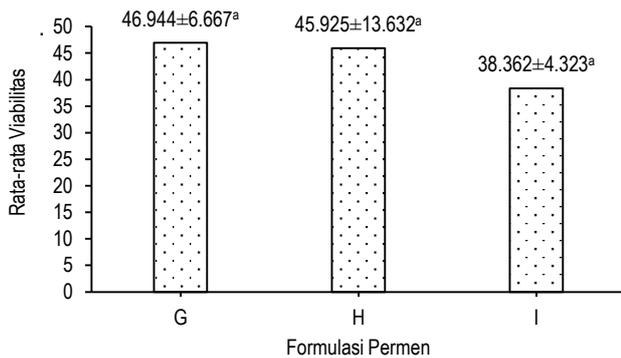
Gambar 6. Pengaruh konsentrasi minyak atsiri kayu putih dalam formula *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* menggunakan uji biofilm (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) dengan penambahan saliva



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%. Formula Uji :
 G = MKP 0.6% & MPM 0.2% H = MKP 0.7% & MPM 0.2%
 I = MKP 0.8% & MPM 0.2%

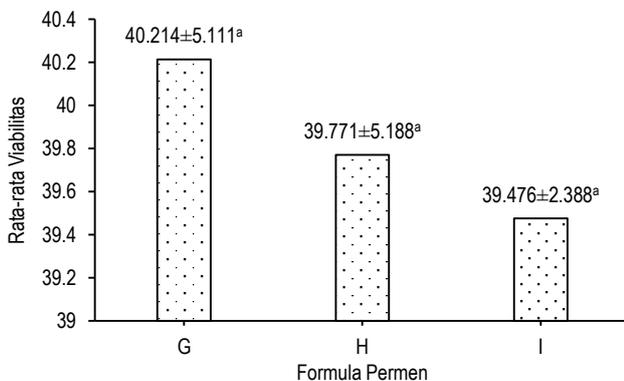
Gambar 7. Pengaruh konsentrasi minyak atsiri kayu putih dalam formula *cajuputs candy*, terhadap viabilitas *C. albicans* menggunakan uji biofilm (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) dengan penambahan serum

Konsentrasi minyak atsiri kayu putih 0.8% menghasilkan kemampuan penghambatan biofilm *C. albicans* paling tinggi. Perbedaan konsentrasi MKP yang ditambahkan dalam formula *cajuputs candy* menghasilkan perbedaan yang nyata dalam penghambatan dibandingkan dengan kontrol pada taraf signifikansi 5% namun uji lanjut DUNCAN menunjukkan bahwa tidak ada perbedaan nyata antar konsentrasi yang diujikan pada taraf signifikansi 5%. Hal ini menunjukkan tidak ada pengaruh nyata dari penambahan MKP pada rentang konsentrasi 0.6 sampai 0.8%



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%. Formula Uji :
 G = MKP 0.6% & MPM 0.2% H = MKP 0.7% & MPM 0.2%
 I = MKP 0.8% & MPM 0.2%

Gambar 8. Pengaruh konsentrasi minyak atsiri kayu putih penyusun *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) menggunakan uji MTT dengan penambahan saliva



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikan 95%. Formula Uji :
 G = MKP 0.6% & MPM 0.2% H = MKP 0.7% & MPM 0.2%
 I = MKP 0.8% & MPM 0.2%

Gambar 9. Pengaruh konsentrasi minyak atsiri kayu putih dalam *cajuputs candy* terhadap viabilitas *C. albicans* (absorbansi menyatakan biofilm yang terbentuk) menggunakan uji MTT dengan penambahan serum

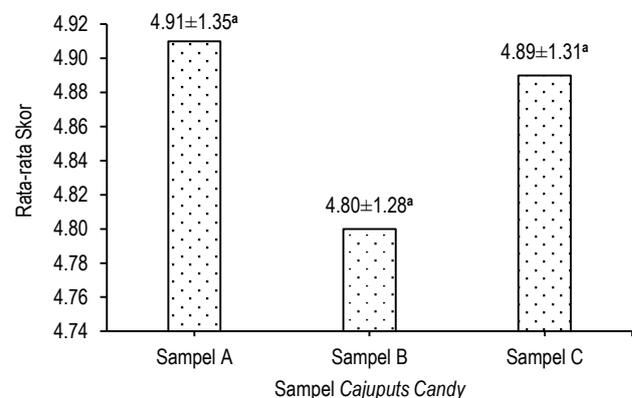
Fenomena yang serupa diperlihatkan oleh data yang diperoleh dari uji MTT dengan penambahan komponen saliva dan serum. Konsentrasi MKP sebesar 0.8% menghasilkan penghambatan viabilitas yang paling tinggi (Gambar 8 dan 9).

Akan tetapi pengujian dengan ANOVA menunjukkan tidak ada perbedaan nyata pada taraf signifikansi 5%. Hal ini menunjukkan perbedaan konsentrasi minyak atsiri kayu putih yang diujikan tidak memberikan pengaruh yang signifikan terhadap penghambatan viabilitas khamir *C. albicans*.

Nilai organoleptik dengan uji rating hedonik

Uji rating hedonik (Adawiyah dan Waysima, 2009) digunakan untuk mengetahui respon penerimaan atau tingkat kesukaan panelis terhadap beberapa formula *cajuputs candy* yang diujikan aktifitas penghambatannya. Pemilihan atribut sensori aroma dan rasa didasarkan pada karakteristik MKP yang memiliki aroma khas sehingga penggunaannya dalam formula *cajuputs candy* akan memberikan cita rasa yang spesifik dan berbeda dengan *flavor* lainnya. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan atribut aroma dan rasa dianggap hal yang paling kritis dalam penerimaan produk oleh konsumen (Nurramdhan, 2010). Pengujian sensori terhadap keseluruhan atribut mutu produk *cajuputs candy* juga diperlukan guna memperoleh mutu sensori dari *cajuputs candy* secara utuh.

Hasil uji rating hedonik dapat dilihat pada Gambar 10-12. Gambar 10 menunjukkan nilai respon kesukaan panelis terhadap atribut aroma. Hasil pengujian mengindikasikan kesukaan panelis terhadap aroma *cajuputs candy* cukup baik (netral sampai dengan agak suka) dan tidak ada perbedaan nyata di antara ketiga konsentrasi (hasil uji ANOVA pada taraf signifikansi 5%).

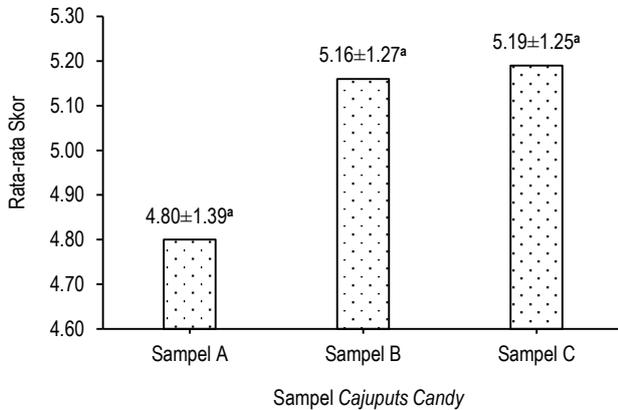


Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%. Skor rata-rata hedonik : (1) Sangat tidak suka, (2) Tidak suka, (3) Agak tidak suka, (4) Netral, (5) Agak suka, (6) Suka, (7) Sangat suka. Formula Uji :
 MKP 0.8% (sampel A), H : MKP 0.7% (sampel B), G : MKP 0.6% (sampel C)

Gambar 10. Tingkat kesukaan panelis terhadap atribut aroma *cajuputs candy*

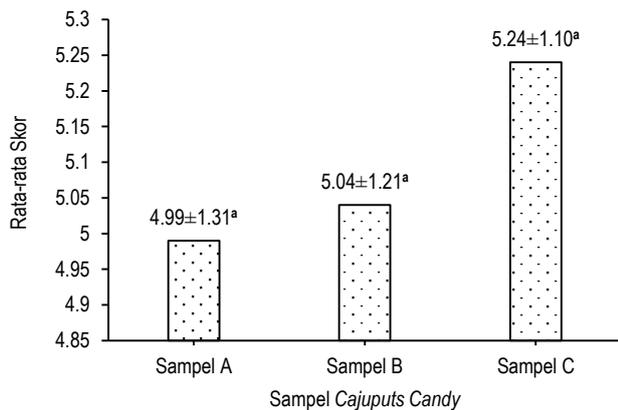
Gambar 11 menunjukkan tingkat penerimaan konsumen terhadap atribut rasa. Rata-rata panelis juga memberikan respon netral (4) hingga agak suka (5). Hasil pengujian menunjukkan sampel C yaitu formula dengan penambahan konsentrasi MKP sebesar 0.8% memiliki skor kesukaan yang paling rendah. Akan tetapi, pengujian menggunakan ANOVA menunjukkan penambahan MKP dengan ketiga konsentrasi yang diujikan tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap

tingkat penerimaan atribut rasa panelis ($p>0.05$). Hal ini menunjukkan tingkat kesukaan panelis tidak terpengaruh oleh perbedaan konsentrasi MKP minyak kayu putih yang ditambahkan dalam pengujian.



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%. Skor rata-rata hedonik: (1) Sangat tidak suka, (2) Tidak suka, (3) Agak tidak suka, (4) Netral, (5) Agak suka, (6) Suka, (7) Sangat suka. Formula Uji: MKP 0.8% (sampel A), H: MKP 0.7% (sampel B), G: MKP 0.6% (sampel C)

Gambar 11. Tingkat kesukaan panelis terhadap atribut rasa *cajuputs candy*



Keterangan: *Huruf yang berbeda di tiap balok data menunjukkan nilai yang berbeda nyata pada taraf signifikansi 5%. Skor rata-rata hedonik: (1) Sangat tidak suka, (2) Tidak suka, (3) Agak tidak suka, (4) Netral, (5) Agak suka, (6) Suka, (7) Sangat suka. Formula Uji: MKP 0.8% (sampel A), H: MKP 0.7% (sampel B), G: MKP 0.6% (sampel C)

Gambar 12. Tingkat kesukaan panelis terhadap keseluruhan atribut *cajuputs candy*

Gambar 12 menunjukkan nilai respon panelis terhadap nilai kesukaan keseluruhan atribut. Seperti yang diprediksi rata-rata panelis juga memberikan respon yang netral (4) hingga agak suka (5). Hasil pengujian menunjukkan sampel C yaitu formula *hard candy* dengan penambahan konsentrasi minyak atsiri kayu putih 0.6% memiliki skor kesukaan terhadap keseluruhan atribut mutu *cajuputs candy* yang paling tinggi, sedangkan penambahan konsentrasi minyak atsiri kayu putih sebesar 0.8% memiliki skor kesukaan yang paling rendah. Akan tetapi setelah hasil ANOVA menunjukkan bahwa penambahan MKP dengan

beberapa konsentrasi yang diujikan tidak memberikan perbedaan yang nyata terhadap tingkat kesukaan panelis pada keseluruhan sensori produk ($p>0.05$). Fenomena ini mungkin disebabkan dengan sebaran nilai ekstrim dari hasil tingkat penerimaan yang diperoleh, mengingat untuk kasus *cajuputs candy* ada kecenderungan panelis terpisah antara yang menyukai dan tidak menyukai.

Berdasarkan uji penghambatan menunjukkan bahwa peningkatan penambahan MKP hingga 0.1% masih belum dapat menunjukkan hasil peningkatan kapasitas penghambatan yang nyata, walau ada tendensi kuat bahwa peningkatan konsentrasi MKP akan memberikan aktivitas yang lebih. Hasil pengujian organoleptik pun menunjukkan bahwa penambahan MKP masih dapat dilakukan tanpa mengubah penerimaan sensori terutama atribut rasa dan aroma. Pada penelitian selanjutnya perlu dilakukan perlakuan penambahan pada kisaran yang lebih lebar. Tingkat penerimaan sensori yang masih berkisar antara netral dan agak suka perlu juga diperbaiki pada tahapan pengembangan selanjutnya. Bagi panelis yang kurang suka cita-rasa yang kuat dari MKP dan MPP maka cita-rasa harus dimodifikasi dengan penambahan *flavor* yang "mild" dan "fruity".

KESIMPULAN

Konsentrasi minyak atsiri kayu putih sebesar 0.7% yang ditambahkan pada formula *cajuputs candy* yang dilarutkan kembali dengan aquades dengan perbandingan 1:1 (v/v) dapat menghambat pembentukan biofilm dan menurunkan viabilitas *C. albicans* secara *in vitro*. Penambahan *flavor* minyak atsiri kayu putih dan minyak *peppermint* secara bersamaan memiliki efek penghambatan pembentukan biofilm yang lebih baik bila dibandingkan dengan penambahan *flavor* secara tunggal. Peningkatan maupun penurunan konsentrasi minyak atsiri kayu putih sebesar 0.1% dari konsentrasi standar *cajuputs candy* tidak memberikan pengaruh yang nyata baik terhadap penghambatan pembentukan biofilm maupun penurunan viabilitas *C. albicans*, maupun tingkat penerimaan sensori terhadap atribut rasa, aroma, dan keseluruhan atribut *cajuputs candy*. Perlu dilakukan penambahan minyak atsiri kayu putih pada konsentrasi yang lebih besar serta perbaikan mutu sensori atribut rasa dan aroma agar penerimaan permen dapat ditingkatkan.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai melalui Hibah Kompetensi (HIKOM) 2010-12, DIKTI-Mendikbud.

DAFTAR PUSTAKA

Adawiyah DR, Waysima. 2009. Buku Ajar Evaluasi Sensori Produk Pangan. Ed ke-1. Departemen Ilmu dan Teknologi Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Institut Pertanian Bogor, Bogor.

- Agarwal V, Lal P, Pruthi V. 2010. Effect of plants oils on *Candida albicans*. *J Microbiol Immunol Infect* 43: 447-451. DOI: 10.1016/S1684-1182(10)60069-2.
- Agusta A. 2000. *Minyak Atsiri Tumbuhan Tropika Indonesia*. Bandung: ITB Press.
- Bakkali F, Averbeck S, Averbeck D, Idaomar M. 2008. Biological effects of essential oils-A review. *Food Chem Toxicol* 46: 446-475. DOI: 10.1016/j.fct.2007.09.106.
- Broschat SL, Call DR, Kuhn EA, Loge FJ. 2005. Comparison of the reflectance and crystal violet assay for measurement of biofilm formation by *Enterococcus*. *Biofilms* 2: 177-181. DOI: 10.1017/S1479050505001948.
- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods. *Int J Food Microbiol* 94: 223-253. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022.
- Burdock GA. 2010. *Fenaroli's Handbook of Flavor Ingredients*. Sixth Ed. Boca Raton: CRC Press Taylor & Francis Group.
- Conner DE. 1993. Naturally Occurring Compounds. In: Davidson P.M., Branen A.L. (Ed.) *Antimicrobials in Foods*. Marcel Dekker. New York.
- Cummings CS. 1995. *Manufacture of High Boiled Sweets*. Didalam: *Sugar Confectionery Manufacture*. Jackson E.B. (Ed). Blackie Academic & Professional, London.
- Dutta BK, Karmakar S, Naglot A, Aich JC, Begam M. 2007. Anticandidal activity of some essential oils of a mega biodiversity hotspot in India. *Mycoses* 50: 121-124.
- Doyle A, Griffiths JB. 2000. *Cell and Tissue Culture for Medical Research*. John Wiley & Sons LTD, England.
- Dwivedi D, Khandelwal G, Patidar RK, Singh V. 2012. Antimicrobial activity of *Mentha arvensis* against clinical isolates of human cariogenic pathogens- an *in vitro* study. *Int J Pham Sci Res* 3: 1355-1360.
- Galvao LCC, Furetti VF, Bersan SMF, Cunha MG, Ruiz ALTG, Carvalho JE, Sartoratto A, Rehder VLG, Figueira GM, Duarte MCT, Ikegaki M, Alencar SM, Rosalen PL. 2012. Antimicrobial activity of essential oils against *Streptococcus mutans* and their antiproliferative effects. *Evidence-Based Comp Alt Med* 1-12. DOI: 10.1155/2012/751435.
- Guenther. 1990. *Minyak Atsiri*. IV B. Terjemahan. UI-Press. Jakarta.
- Haikal M. 2009. *Aspek Imunologi Stomatitis Aftosa Rekuren*. [Skripsi]. Medan: Fakultas Kedokteran Gigi, USU Medan.
- Hamoud R, Sporer F, Reichling J, Wink M. 2012. Antimicrobial activity of a traditionally used complex essential oil distillate (Olbas® Tropfen) in comparison to its individual essential oil ingredients. *Phytomedicine* 19: 969-975. DOI: 10.1016/j.phymed.2012.05.014.
- Hudson S, Smith C. 1998. Polysaccharide : Chitin and Chitosan: Chemistry and Technology of Their Use as Structural Material In : Kaplan DL (Ed). *Biopolymers From Renewable Resources*. New York : Springer-Verlag.
- Jedlickova Z, Ery V, Motto O, Nguyen DC. 1994. Antibacterial Properties of Cajuput Oil. [Proceeding] European Symposium on Ethnopharmacology and the 11th International Conference on Ethnomedicine. Medicaments et Aliments: L'Approche Ethnopharmacologique p.293, Heidelberg.
- Juanda A. 1999. *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*. 3rd ed. Jakarta: FKUI 103-106.
- Kazemi S, Savabi G, Khazei S, Esmailzadeh A, Keshteli AH, Adibi P. 2011. Association between food intake and oral health in elderly: SEPAHAN systematic review no.8. *Dental Res J (Isfahan)*. 8: S15 S20.
- Ketaren S, Djatmiko B. 1978. *Minyak Atsiri Bersumber Dari Daun*. Departemen Teknologi Hasil Pertanian. FATEMETA. IPB. Bogor.
- Kirkpatrick WR, Lopez-Ribot, Mcatee RK, Patterson TF. 2000. Growth competition between *Candida dubliniensis* and *Candida albicans* under broth and biofilm growing conditions. *J Clin Microbiol* 32: 902-904.
- Kreth J, Zhang Y, Herzberg MC. 2008. Streptococcal antagonism in oral biofilms: *Streptococcus sanguinis* and *Streptococcus gordonii* interference with *Streptococcus mutans*. *J Bacteriol* 190: 4632-4640. DOI: 10.1128/JB.00276-08.
- Mayo JA, Ritchie JR. 2009. Acidogenic potential of "sugar-free" cough drops. *Open Dentistry J* 3: 26-30. DOI: 10.2174/1874210600903010026.
- Nishikawara F, Katsumura S, Ando A, Tamaki Y, Nakamura Y, Sato K, Nomura Y, Hanada N. 2006. Correlation of cariogenic bacteria and dental caries in adults. *J Oral Sci* 48: 245-251.
- Nobile CJ, Mitchell AP. 2005. Regulation of cell-surface genes and biofilm formation by the *C. albicans* transcription factor Bcr1p. *Curr Biol* 15: 1150-1155. DOI: 10.1016/j.cub.2005.05.047.
- Nurramdhan IF. 2010. *Daya Hambat Minyak Kayu Putih dan Komponen Penyusun Flavor Cajuputs candy Terhadap Akumulasi Biofilm Streptococcus mutans dan Streptococcus sobrinus secara In Vitro* [Skripsi]. Bogor: Ilmu dan Teknologi Pangan. FATETA. IPB.
- Pelczar MJ, Chan ECS, Krieg NR. 1993. *Microbiology: Concept and Application*. International Edition. USA: McGraw-Hill.
- Polontalo. 2009. *Minyak atsiri Indonesia*. <http://minyakatsiriindonesia.wordpress.com/>. [25 Januari 2011].
- Sandasi MCM, Leonard, Vuuren SFV, Viljoen AM. 2011. Peppermint (*Mentha piperita*) inhibits microbial biofilms *in vitro*. *South Afr J Botany* 77: 80-85. DOI: 10.1016/j.sajb.2010.05.011.
- Tjampakasari CR. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. *Cermin Dunia Kedokteran* 151: 33-36.
- Wijaya CH, Halimah, Kindly, Taqi FM. 2002. *Penemu: Komposisi Permen Cajuput untuk Pelega Tenggorokan*. Institut Pertanian Bogor. Paten Indonesia ID 0000385S.
- Wyk CV, Steenkamp V. 2011. Host factors affecting oral candidiasis. *South Afr J Epidemiol Infect* 26: 18-21.
- Ye J, Laksman P, Samaranayake, Samaranayake Y, Yip HK. 2004. Biofilm formation of *Candida albicans* is variably affected by saliva and dietary sugars. *Arc Oral Biol* 49: 789-798. DOI: 10.1016/j.archoralbio.2004.04.011.