

Efek Antimikotik Minyak Mimba (*Azadirachta indica*) terhadap Dermatofita

Antimycotic Effect of Neem Oil (Azadirachta indica) on Dermatophytes

Siti Aminah Tri Susilo Estri¹, Inayati Habib², Suswardana¹, Agnes Sri Siswati¹
¹Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran
Universitas Gadjah Mada / RS Sardjito Jl. Kesehatan No. 1 Yogyakarta,
²Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Univeritas Muhammadiyah
Yogyakarta

Abstract

Recently, natural substances have been much developed for antimycotic medicine, such as neem tree that can be found in Indonesia. Oil from the neem seed has been proved to have antimycotic effect on non-dermatophytic fungi. The aim of this research was to determine antimycotic effects of neem oil on *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* and *M. gypseum* by means of dilution method.

This research utilized a simple experimental method. One ml of water and 1 ml of casein yeast glucose were placed into 10 tubes. One ml of pure neem oil was introduced into tube I and the liquids were mixed. Afterwards, 1 ml of solution from tube I was added into tube II. One ml of the solution from tube II was then added into tube III, and so forth up to tube X. Subsequently, 1 ml of dermatophytic suspension (10^6 cell/ml) was introduced into each tube. The growth of dermatophyte colony was examined on day 5 to 7, after being incubated at room temperature.

Results of this research showed that on day 5, *T. mentagrophytes* began to appear in tube IV (neem oil concentration of 3,12%), while *E. floccusum* and *M. gypseum* appeared in tube III (6,25%). On day 7, all colonies began to appear in tube II; therefore, the minimal inhibitory concentration was 12,5%. Neem oil started to have antimycotic effect on *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* and *M. gypseum* at a concentration of 6,25%.

Key words: neem oil, antimycotic effect, dermatophytes

Abstrak

Akhir-akhir ini banyak dikembangkan bahan alami sebagai antimikotik, antara lain pohon mimba yang banyak terdapat di Indonesia. Minyak dari biji mimba terbukti mempunyai efek antimikotik terhadap berbagai jamur non dermatofita. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antimikotik minyak mimba terhadap *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* dan *M. gypseum* dengan metode dilusi.

Penelitian menggunakan metode eksperimental sederhana. Pada 10 tabung dimasukkan 1 ml aqua dan 1 ml casein yeast glucose. Pada tabung I ditambahkan 1 ml minyak mimba murni dan dicampur. Pada tabung ke II ditambahkan 1 ml larutan dari tabung I, begitu seterusnya sampai tabung ke X. Selanjutnya pada masing-masing tabung ditambahkan 1 ml suspensi dermatofita 10^6 sel/ml. Pertumbuhan koloni dermatofita dinilai pada hari ke 5-7 setelah diinkubasi pada suhu kamar.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni *T. mentagrophytes* pada hari ke-5 mulai tampak pada tabung ke-4 (konsentrasi 3,12%), koloni *E. floccusum* dan *M. gypseum* pada tabung ke-3 (konsentrasi 6,25%). Pada hari ke-7 semua koloni mulai tampak pada tabung ke-3, sehingga kadar hambat minimal pada konsentrasi 12,5%. Efek antimikotik minyak mimba terhadap *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* dan *M. gypseum* mulai tampak pada konsentrasi 6,25%.

Kata kunci: dermatofita, efek antimikotik, minyak mimba

Pendahuluan

Dermatofitosis adalah infeksi superfisial pada jaringan keratinisasi yang disebabkan oleh 3 macam genus jamur yang disebut sebagai dermatofita.¹ Dermatofita meliputi lebih dari 40 spesies yang dikelompokkan menjadi 3 genus, yaitu *Microsporum*, *Trichophyton* dan *Epidermophyton*. Secara taksonomi dermatofita mampu mengadakan kolonisasi di jaringan keratin, seperti stratum korneum epidermis, kuku, rambut dan jaringan tanduk pada beberapa hewan.¹ Insidensi dan prevalensi dermatofitosis bervariasi, tergantung pada jenis dermatofita, usia, jenis kelamin, kebiasaan sehari-hari dan geografi. Prevalensi dermatofitosis di Amerika Serikat mencapai 10-20% dari seluruh kunjungan ke dokter spesialis kulit.² Prevalensi ini cenderung meningkat pada daerah tropis.³

Akhir-akhir ini banyak dikembangkan bahan alami sebagai antimikotik, antara lain *tea tree oil*, ekstrak bawang putih, pohon mimba dan lain sebagainya. Ekstrak mimba awalnya digunakan di India sejak ribuan tahun yang lalu, untuk mengobati berbagai penyakit kulit, seperti psoriasis, eksem, luka kecil, luka bakar dan penyakit jamur.⁴ Pohon mimba banyak ditemukan di hampir seluruh wilayah Indonesia, terutama di Subang, Indramayu, Malang, Asem Bagus, Yogyakarta, Bali dan Nusatenggara Barat. Penelitian Venogopal dkk. menunjukkan adanya efek antimikotik ekstrak daun mimba terhadap berbagai dermatofita⁵, sedangkan Govindachari dkk. membuktikan adanya efek antimikotik minyak biji mimba terhadap jamur non-dermatofita.⁶ Apakah minyak mimba juga mempunyai efek antimikotik terhadap dermatofita dan berapa besar konsentrasi minyak mimba yang menunjukkan efek antimikotik belum diketahui.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antimikotik minyak mimba terhadap *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* dan *M. gypseum* berdasarkan kadar hambat minimal (KHM) minyak mimba terhadap pertumbuhan ketiga jamur tersebut dengan metode dilusi.

Bahan dan Cara

Penelitian ini merupakan uji eksperimental sederhana dengan kontrol preparat ketokonazol 2% yang dilarutkan dalam suspensi.

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah tabung reaksi, pipet volume 5ml, 1ml, martil, lampu spiritus, mikropipet-tip 100ml, 10ml., *Laminary Flow*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak Mimba yang berasal dari ekstrak biji yang diperoleh dari Institut Pertanian Bogor dengan konsentrasi awal 99% (+ tween 1%), media *Casein Yeast Glukose* (CYG), isolat *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* dan *M. gypseum*, diperoleh dari penderita tinea korporis di Laboratorium Mikologi Bagian Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran UGM, NaCl fisiologis, aqua steril.

Kelompok perlakuan terdiri dari 4 kelompok yaitu 3 kelompok uji daya antimikotik minyak mimba terhadap 3 spesies jamur, *T. mentagrophytes*, *E. floccusum* dan *M. gypseum* dan satu kelompok kontrol. Pada 3 kelompok uji, tiap kelompok terdiri dari 10 tabung reaksi, diberi no 1- 10. Kelompok kontrol terdiri atas kontrol media berisi media CYG, kontrol positif berisi CYG dan suspensi jamur, dan kontrol negatif berisi CYG, ketokonazol 2% terhadap 3 spesies jamur (*T. mentagrophytes*, *E. floccusum* dan *M. gypseum*) dan suspensi jamur.

Pada 10 tabung kelompok uji dimasukkan 1 ml aqua. Setelah ditambahkan lagi 1 ml CYG pada 10 tabung, ditambahkan antimikotik dengan konsentrasi awal 100% minyak mimba pada tabung ke-1, kemudian diencerkan secara seri dengan cara mengambil 1 ml isi pada tabung ke-1 kemudian dimasukkan tabung ke-2 begitu seterusnya hingga tabung ke-10. Selanjutnya pada masing-masing tabung ditambahkan 1 ml suspensi dermatofita 10^9 sel/ml.

Pertumbuhan koloni dermatofita dinilai pada hari ke 5-7 setelah diinkubasi pada suhu kamar. Perlakuan pada setiap koloni dilakukan sejumlah 3 kali. Efek

antimikotik ditetapkan berdasar kadar hambat minimal, yaitu konsentrasi obat/ antimikotik terendah yang mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur yang terlihat, dengan mengabaikan kekeruhan yang ringan atau tidak jelas.⁷ Pada penelitian ini kadar hambat minimal ditentukan berdasar suspensi dengan konsentrasi terendah yang tidak memperlihatkan pertumbuhan koloni. Pertumbuhan koloni selanjutnya diperiksa secara mikroskopik dengan larutan KOH 10%-Parker dan kultur pada media sabaroud untuk memastikan koloni dermatofita yang terbentuk.

Hasil

Tabel 1. Pertumbuhan koloni dan kadar hambat minimal minyak mimba terhadap dermatofita hari ke-5.

Jenis dermatofita	Pertumbuhan koloni pada tabung ke-				Kadar hambat minimal pada tabung ke-			
	n1	n2	n3	Modus	n1	n2	n3	Modus
<i>T. mentagrophytes</i> ,	4	3	3	3	3	2	2	2
<i>E. floccusum</i>	3	3	3	3	2	2	2	2
<i>M. gypseum</i>	3	3	3	3	2	2	2	2

Pertumbuhan koloni rata-rata *T. mentagrophytes* pada hari ke-5 mulai tampak pada tabung ke-3 (konsentrasi 6,25%), koloni *E.*

floccusum dan *M. gypseum* pada tabung ke-3 (konsentrasi 6,25%) seperti terlihat pada tabel 1.

Tabel 2. Pertumbuhan koloni dan kadar hambat minimal minyak mimba terhadap dermatofita hari ke-7.

Jenis dermatofita	Pertumbuhan koloni pada tabung ke-				Kadar hambat minimal pada tabung ke-			
	n1	n2	n3	Modus	n1	n2	n3	Modus
<i>T. mentagrophytes</i> ,	3	3	3	3	2	2	2	2
<i>E. floccusum</i>	3	3	3	3	2	2	2	2
<i>M. gypseum</i>	3	3	3	3	2	2	2	2

Pada hari ke-7 semua koloni mulai tampak pada tabung ke-3 seperti terlihat pada gambar A, sehingga kadar hambat minimal

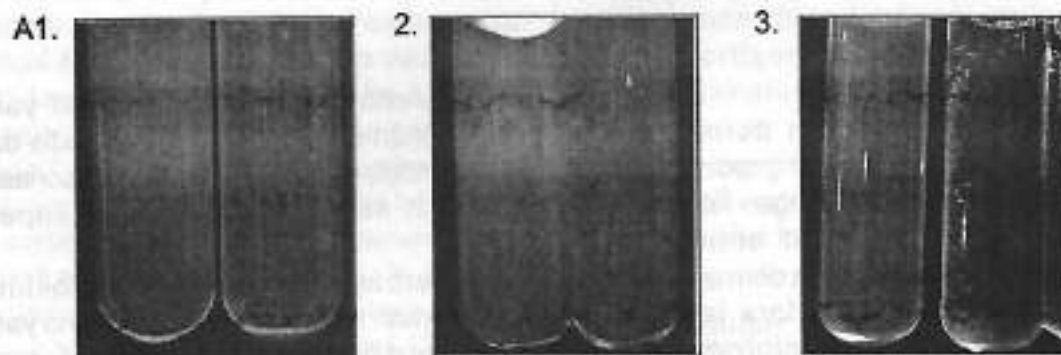
pada konsentrasi 12,5% seperti terlihat pada tabel 2 dan tabel 3.

Tabel 3. Konsentrasi minyak mimba pada tabung dilusi serial

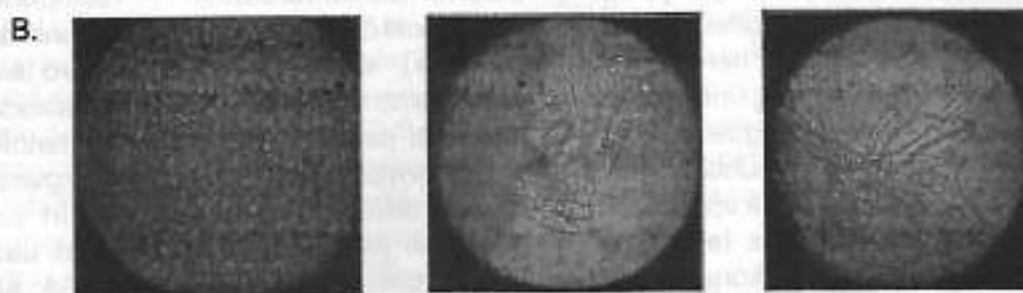
Tabung ke- :	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Konsentrasi (%)	25	12,5	6,25	3,12	1,56	0,75	0,37	0,19	0,09	0,04

Pada kelompok kontrol, terlihat pertumbuhan jamur pada kontrol positif, sedangkan pada kontrol negatif tidak tampak pertumbuhan koloni dermatofita. Pada pemeriksaan mikroskopik dengan larutan

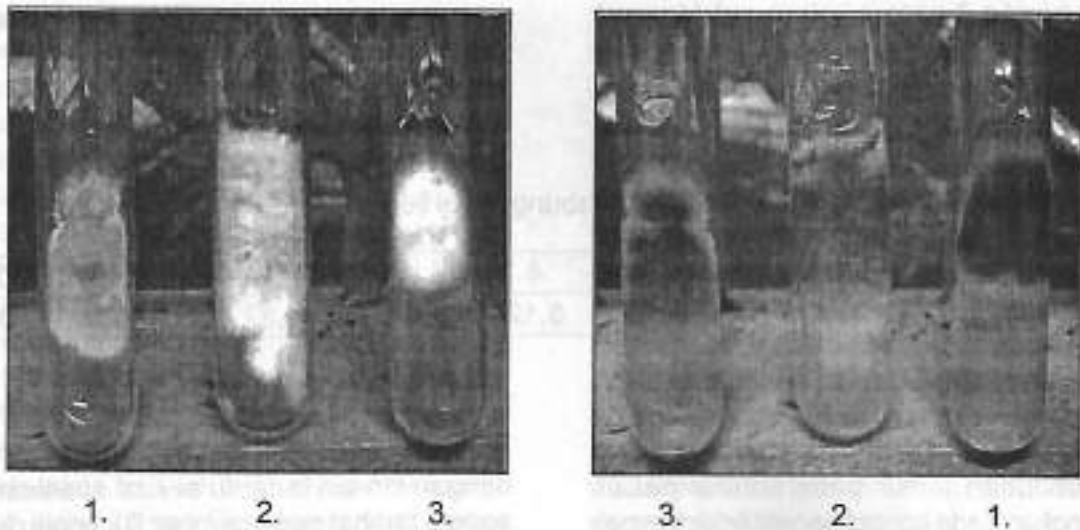
KOH 10%-Parker tampak adanya hifa dengan ciri-ciri tertentu sesuai spesiesnya seperti terlihat pada gambar B), begitu juga uji pertumbuhan koloni pada media sabaroud seperti terlihat pada gambar C.



Gambar A. Hasil uji dilusi *T. Mentagrophytes* (1), *E. floccusum* (2), *M. gypseum* (3)



Gambar B. Pemeriksaan KOH dari hasil uji dilusi *T. Mentagrophytes* (1), *E. floccusum* (2), *M. gypseum* (3)



Gambar C. Hasil kultur dari uji dilusi *T. Mentagrophytes* (1), *E. floccusum* (2),
M. gypseum (3)

Pembahasan

Prinsip penanganan dermatofita adalah menghindari faktor predisposisi, mencegah keratinisasi dengan keratolitik dan pemberian preparat antifungal. Antifungal topikal efektif pada dermatofitosis kulit. Preparat topikal antara lain dari golongan azol seperti *clotrimazole*, *miconazole*, *ketoconazole*; golongan *allylamines* misalnya *naftifine* dan *terbinafin*; atau siklopiroksolamin. Preparat antifungal sistemik lebih banyak jenisnya yaitu golongan azole, *allylamin* dan *griseofulvin*. Pemberian antifungal sistemik harus lebih hati-hati, mengingat kemungkinan efek sampingnya berupa gangguan hati, gastrointestinal seperti mual, muntah, nyeri perut, sampai terjadinya anemia aplastik.¹² Berdasar penelitian uji klinis terhadap berbagai obat antifungal, ketokonazol 2% masih digunakan sebagai obat standar dengan efikasi sebanding atau lebih rendah dengan obat antifungal lainnya yang baru seperti *terbenafin* dan *itraconazol*.¹⁰

Mimba atau *Azadirachta indica* dikenal dengan berbagai nama, antara lain *neem*, *nimba*, *intaran*, *nimbo*, atau *mindî cina*. Di India, pohon mimba sudah digunakan sejak ribuan tahun yang lalu sebagai obat penyakit

kulit karena jamur, penyakit kulit yang disebabkan oleh parasit seperti kudis dan kutu rambut, eksim dan gatal kulit, psoriasis, penyakit akibat infeksi bakteri seperti borok.^{4,11}

Berbagai penelitian fitokimia melaporkan bahwa komponen utama yang terkandung dalam mimba (daun, biji, batang, kulit pohon) adalah triterpenoid. Komponen triterpenoid yang diduga bersifat anti mikotik adalah nimbin, nimbidin, nimbidol, gedunin, salanin dan quarcetin.¹¹⁻¹³ Komponen triterpenoid dalam daun mimba (gedunin dan nimbidol), secara *in vitro* dan *in vivo* telah terbukti memiliki efek anti mikotik terhadap berbagai jamur patogen dan dermatofita yang menyebabkan *athlete's foot*, *ringworm* dan *candida*.¹¹ Nimbin, nimbidin dan quercetin yang didapat dari ekstrak daun mimba dilaporkan mempunyai efek anti histamin dan efek anti inflamasi.^{12,13} Dengan adanya ketiga efek yaitu anti mikotik, anti inflamasi dan anti histamin ini diharapkan mimba mempunyai efek terapeutik yang efektif pada berbagai penyakit yang disebabkan atau berhubungan dengan jamur pada manusia, seperti *tinea corporis*, *tinea kruris*, *tinea pedis*, *tinea kapitis*, kandidiasis dan pitiriasis sika.

Venugopal dan Venugopal membuktikan secara *in vitro* ekstrak daun mimba memiliki efek anti dermatofit yang adekuat dengan menggunakan ekstrak *aqueous* dan *ethanolic* daun mimba terhadap spesimen *M. canis*, *M. audouinii*, *T. mentagrophytes*, *T. rubrum*, *T. violaceum*, *T. simil*, *T. verrucosum*, *T. soudanense* dan *T. erinacei*.⁵ Sedangkan Govindachari dkk. membuktikan adanya efek antimikotik minyak biji mimba terhadap jamur non-dermatofita (*Drechslera oryzae*, *Fusarium oxysporum* dan *Alternaria tenuis*).⁶

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa pembentukan koloni *T. mentagrophytes* pada hari ke-5 terjadi pada tabung ke-4 dengan konsentrasi 3,25% pada perlakuan pertama, sedangkan perlakuan ke-2 dan 3 tampak pada tabung ke-3 dengan konsentrasi 6,25%. Pembentukan koloni *M. gypseum* dan *E. floccosum* pada hari ke-5 terlihat pada tabung ke-3 dengan konsentrasi 6,25% pada ketiga perlakuan. Pada hari ke-7 pembentukan koloni ketiga macam dermatofita terlihat mulai tabung ke-3, sehingga kadar hambat minimal minyak mimba pada *T. mentagrophytes*, *M. gypseum* dan *E. floccosum* terjadi pada tabung ke-2 dengan konsentrasi 12,5%.

Penelitian Venugopal dan Venugopal menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mimba memiliki efek anti mikotik terhadap *T. mentagrophytes* yang signifikan pada kadar 25-100 µg/ml, sedangkan ekstrak *aqueous* daun mimba pada kadar 250-500 µg/ml, sementara ketokonazol menunjukkan efek serupa pada kadar 1-2,5 µg/ml.⁴ Penelitian Siswati, dkk. tentang daya hambat minyak mimba terhadap *Malassezia sp.* menunjukkan bahwa daya hambat mulai tampak pada konsentrasi 5% dengan pertumbuhan koloni mulai berkurang secara bermakna, dan kadar fungisid minimal tampak pada konsentrasi 7,5%.¹⁴

Sebagai obat topikal tradisional belum pernah dilaporkan adanya efek samping mimba yang berbahaya, toksisitas akut dan kronis yang berbahaya ditemukan pada pemberian intravena dan intraperitoneal. *Nimbolide* dan *nimbic acid* pada dosis letal menyebabkan disfungsi ginjal, usus dan hati

serta penurunan tekanan darah.¹⁶ Minyak dari biji mimba yang memiliki kandungan semua triterpenoid dalam daun mimba bahkan dalam jumlah yang lebih besar, pada uji keamanan di Amerika oleh *Environmental Protection Agency* (EPA) dilaporkan tidak menyebabkan sensitisasi pada kulit guinea pigs, tidak bersifat mutagenik dan hanya bersifat iritan ringan pada area kulit yang dicukur.¹⁶ Aplikasi *azadirachtin* selama 4 jam pada area kulit punggung kelinci yang dicukur tidak menimbulkan iritasi. Namun efek iritasi kulit timbul setelah aplikasi *azadirachtin* sebesar 2 gr/kgBB selama 24 jam. Efek iritasi ini akan menghilang pada hari ke-9.¹⁶ Efek iritan ringan sampai sedang secara umum dapat diredakan dengan obat antiinflamasi topikal, seperti kortikosteroid dengan potensi rendah sampai kuat (desonide, hidrokortison, fluisonolon, hidrokortison butirat, mometason, desoksimeason).¹⁷ Dengan demikian diharapkan minyak mimba dapat dikembangkan menjadi obat topikal pada dermatofita pada konsentrasi minimal 6,25% dengan efek toksisitas yang ringan.

Kesimpulan

Minyak mimba mempunyai efek antimikotik terhadap *T. mentagrophytes*, *E. floccosum* dan *M. gypseum* dan mulai tampak pada konsentrasi 6,25%, sedangkan kadar hambat minimal minyak mimba terhadap ketiga dermatofita ini pada konsentrasi 12,5%. Berdasar penelitian ini diharapkan dapat dilakukan uji klinis (*in vivo*) minyak mimba sebagai terapi dermatofita dengan konsentrasi 6,25% atau lebih.

Daftar Pustaka

1. Martin AG, Kobayashi GS, Superficial Fungal Infection : Dermatophytosis, dalam: Fredberg IM, Eisen AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, Fitzpatrick TB (Edt.), *Dermatology in General medicine*, 5.th ed. New York, Mc Graw-Hill Inc, 1999, 2337-2353.

2. Fitzpatrick TB et al., Superficial Fungal Infection, dalam: *Color Atlas & Synopsis of Clinical Dermatology Common and Serious Disease*, 4th ed. New York, McGraw-Hill Inc, 2001, 684-706.
3. Wiederkehr M & Schwartz RA, Tinea Cruris, *eMedicine Journal*, 2003, diakses 09/05/04.
4. Anonim, Medical Use of Neem, *Archer Landscape and Botanicals-Neem.htm*, diakses 7 Juni 2004.
5. Venugopal, P.V., Venugopal, T.V. Antidermatophytic Activities of Neem (*Azadirachta indica*) Leaves In Vitro. *Indian Journal of Pharmacology*. 1994. 26. 141-3.
6. Govindachari TR, Suresh G, Gopalakrishnan G, Identification of Antifungal Compounds from The Seed Oil of *Azadirachta indica*, *Phytoparasitica*, 1998, 26 (2):1-8.
7. Rippon JW, Laboratory mycology, dalam *Medical mycology, The Pathogenic Fungi and The Pathogenic Actinomycetes*, 2nd ed. 1982, WB Saunders Company, 772-90.
8. Rinaldi MG, Dermatophytosis: Epidemiological and Microbiological Update, *J Am Acad Dermatol*, 2000, 43: S120-4.
9. Rebell G, Taplin D, Description of Species, dalam *Dermatophytes, Their Recognition and Identification*, 1974, University of Miami Press, 23, 40-43, 62.
10. Rand S, Overview: The Treatment of Dermatophytosis, *J Am Acad Dermatol*, 2000, 43: S104-12.
11. Anonim, Fungi and Neem, *Neem and Antifungal.htm*, diakses 7 Juni 2004.
12. Anonim, Active Constituents of Neems.htm, diakses 7 Juni 2004.
13. Anonim, Pure Compound Available, *Kandungan Neem Science.htm*. Diakses 7 Juni 2004.
14. Siswati AS, Estri SATS, Suswardana, In Vitro Effect of Azadirachta Indica Oil Against *Mallasezia* Species, dalam Suharti C, Subakir, Gasem MH, *Kongres dan Temu Ilmiah Nasional Perhimpunan Mikologi Kedokteran Indonesia*, 2004, badan Penerbit Universitas Diponegoro, 153, Abstrak.
15. Agrawal DP, Medicinal Properties of Neem: New Findings, *Medicinal Properties of Neem New Findings.htm*, diakses 7 Juni 2004.
16. Anonim, Toxicological Effects, *Neem Tree Articles.htm*, diakses 7 Juni 2004.
17. Warner M, dan Camisa C., 2001. Topical Corticosteroid. dalam Wolverson SE, *Comprehensive Dermatologic Drug Therapy (Ed. Wolverson, SE.)*, WB Saunders Company, 548-75.