

**UJI EFEKTIFITAS ANTIFUNGAL EKSTRAK KULIT PISANG KEPOK
(*Musa acuminata* X *balbisiana*) MENTAH TERHADAP PERTUMBUHAN
Candida albicans SECARA IN VITRO**

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

Rina Dinastutie

115070601111006

**PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2015

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

UJI EFEKTIFITAS ANTIFUNGAL EKSTRAK KULIT PISANG KEPOK (*Musa acuminata X balbisiana*) MENTAH TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA IN VITRO

Oleh :

Rina Dinastutie

NIM: 115070601111006

Telah diuji pada :

Hari : Selasa

Tanggal : 23 Desember 2014

Dan dinyatakan lulus oleh:

Penguji I

Husnul Khotimah, S.Si, M.Kes

NIP. 197511252005012001

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Dr. dr. Sri Poeranto YS, M.Kes, Sp.Park
NIP.195205061980021002

Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes
NIP. 196603231997032001

Mengetahui
Ketua Program Studi Kebidanan

Dr. Mukhamad Nooryanto, Sp. OG(K)
NIP. 196711032000011001

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa karena berkat-Nya penulis dapat menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Uji Efektifitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) Mentah Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *In Vitro*”.

Penulis tertarik mengangkat topik ini sebab *Candida sp* adalah jamur golongan *yeast* (ragi) yang merupakan flora normal pada berbagai organ pada manusia. Akan tetapi, terganggunya keseimbangan flora normal karena berbagai faktor predisposisi, dapat menyebabkan meningkatnya jumlah populasi *Candida sp*. Meningkatnya jumlah populasi tersebut dapat menimbulkan penyakit yang disebut kandidiasis. Adapun spesies *Candida* yang dikenal banyak menimbulkan penyakit baik pada manusia maupun hewan adalah *Candida albicans*. Salah satu tanaman yang ditanam dan dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia adalah pisang. Beberapa penelitian menunjukkan manfaat pisang sebagai obat tradisional untuk antibakteri, penyembuh luka dan diare. Untuk itu penulis tertarik mengangkat mengenai kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) mentah.

Dengan selesainya Tugas Akhir ini, penulis mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Dr. dr. Karyono Mintaroem, Sp.PA(K) selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
2. Ibu Husnul khotimah, S.Si., M.Kes, selaku dosen penguji pertama yang telah memberi banyak masukan terhadap Tugas Akhir ini sehingga dapat terselesaikan dengan baik.

3. Dr. dr. Sri Poeranto YS, M.Kes. Sp.Park, selaku dosen pembimbing pertama atas bimbingan, saran, serta masukan secara menyeluruh terhadap penelitian ini sehingga Tugas Akhir ini dapat terselesaikan dengan baik.
4. Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes, selaku dosen pembimbing kedua yang telah memberikan masukan terutama berkaitan dengan teknis penelitian serta membimbing penulisan Tugas Akhir ini.
5. Bu Diadjeng Setya Wardani, M.Kes, selaku Koordinator TA dan Pembimbing Akademik yang telah memberikan banyak saran dan dukungan sehingga Tugas Akhir ini dapat diselesaikan tepat waktu
6. Pak Slamet, Bu Uci, Pak Budi, Bu Icha yang telah memberikan waktu, saran dan kritik sehingga Tugas Akhir ini dapat selesai dengan baik.
7. Keluarga penulis, Papi Medat Sutikno, Mami Aniek Puji Lestari dan Kakak Inggrid Wuri Wulan yang selalu mengingatkan penulis dan mendukung hingga selesainya Tugas Akhir ini.
8. Teman-teman Kebidanan 2011, DPM 2012, BEM 2013 dan BEM 2014 yang telah menginspirasi, memotivasi, membantu dan menemani dalam penyelesaian Tugas Akhir ini.
9. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk menerima berbagai saran dan kritik yang membangun demi kesempurnaan penelitian dan Tugas Akhir ini.

Malang, Desember 2014

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
Judul.....	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak.....	v
Abstract.....	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar.....	ix
Daftar Tabel.....	x
Daftar Singkatan.....	xi
Daftar Lampiran.....	xii
 BAB 1 PENDAHULUAN	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.3.1 Tujuan Umum	5
1.3.2 Tujuan Khusus.....	5
1.4 Manfaat Penelitian.....	5
1.4.1 Manfaat Akademik	5
1.4.2 Manfaat Klinis	5
 BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	 6
2.1 Infeksi Saluran Reproduksi.....	6
2.1.1 Gambaran Umum	6
2.1.2 Komplikasi Infeksi Saluran Reproduksi	8
2.2 Kandidiasis Vulvovaginal.....	9
2.2.1 Definisi.....	9
2.2.1.1 Taksonomi <i>Candida albicans</i>	9
2.2.1.2 Morfologi <i>Candida albicans</i>	10
2.2.2 Faktor Predisposisi	12
2.2.3 Patogenesis.....	13
2.2.4 Manifestasi Klinik.....	14
2.2.5 Pemeriksaan.....	15
2.2.6 Terapi.....	18
2.3 Pisang Kepok (<i>Musa acuminata</i> x <i>balbisiana</i>)	21
2.3.1 Taksonomi.....	21
2.3.2 Karakteristik.....	21
2.3.3 Manfaat	23
2.3.4 Kandungan	23
2.4 Metode Ekstraksi.....	27
2.4.1 Metode Maserasi	27
2.4.2 Metode Soxhlet.....	27
2.5 Metode Uji Kepekaan terhadap Antifungal <i>In Vitro</i>	28
2.5.1 Metode Dilusi.....	28
2.5.1.2 Metode Dilusi Broth.....	29
2.5.1.2 Metode Dilusi Agar.....	29

2.5.2 Metode Difusi Cakram.....	29
BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	31
3.1 Kerangka Konsep.....	31
3.2 Keterangan Kerangka Konsep.....	32
3.3 Hipotesis Penelitian.....	32
BAB 4 METODE PENELITIAN	33
4.1 Rancangan Penelitian	33
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	33
4.3 Populasi dan Sampel Penelitian	33
4.4 Variabel Penelitian.....	34
4.5 Definisi Operasional	34
4.6 Estimasi Jumlah Pengulangan.....	35
4.7 Alat dan Bahan Penelitian	36
4.7.1 Pembuatan Ekstrak.....	36
4.7.2 Identifikasi Jamur.....	36
4.7.3 Uji Kepekaan Ekstrak.....	36
4.8 Prosedur Penelitian	36
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok Mentah 100%	36
4.8.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i> pada SDA	37
4.8.3 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Pewarnaan Gram	38
4.8.4 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Germinating Tube.....	38
4.8.5 Pembuatan Suspensi Jamur <i>Candida albicans</i>	39
4.8.6 Eksplorasi Awal Kemampuan Ekstrak.....	40
4.8.7 Uji Kepekaan Ekstrak Terhadap <i>Candida albicans</i>	42
4.9 Analisis Data	43
4.10 Rancangan Penelitian	44
BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	45
5.1 Data Hasil Penelitian	45
5.1.1 Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Mentah.....	45
5.1.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	46
5.1.3 Hasil Penentuan KHM.....	47
5.2 Analisis Data	50
5.2.1 Uji Kruskal Wallis.....	51
5.2.2 Uji Mann Whitney.....	52
5.2.3 Uji Korelasi Spearman.....	53
BAB 6 PEMBAHASAN.....	56
BAB 7 PENUTUP	61
7.1 Kesimpulan.....	61
7.2 Saran.....	61
Daftar Pustaka.....	63
Lampiran.....	69

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 <i>Candida albicans</i> Perbesaran 200x.....	9
Gambar 2.2 <i>Candida albicans</i> dalam Pengecatan Gram	15
Gambar 2.3 <i>Candida albicans</i> dalam Biakan SDA.....	16
Gambar 2.4 <i>Candida albicans</i> dalam <i>Germinating Tube</i>	17
Gambar 2.5 Pisang Kepok Mentah	21
Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian	31
Gambar 4.1 Skema Uji Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok Mentah.....	45
Gambar 5.1 Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok Mentah	46
Gambar 5.2 Koloni <i>Candida albicans</i> pada SDA Inkubasi 18-24 jam.....	47
Gambar 5.3 Identifikasai <i>Candida albicans</i>	48
Gambar 5.4 Koloni <i>Candida albicans</i> pada Dilusi Agar.....	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Mekanisme Kerja Antifungal.....	18
Tabel 2.2 Tarapi Kandidiasis Vaginalis	20
Tabel 2.3 Perbandingan Komposisi Fitokimia	24
Tabel 5.1 Klasifikasi Pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	50
Tabel 5.2 Hasil Analisis Uji Kruskal Wallis	52
Tabel 5.3 Hasil Uji Mann Whitney	53
Tabel 5.4 Hasil Uji Korelasi Spearman.....	54



DAFTAR SINGKATAN

C	: Celcius
CFU	: <i>Colony-forming unit</i>
cm	: Centimeter
Depkes	: Departemen Kesehatan
DNA	: <i>Deoxyribonucleic acid</i>
FWCW	: <i>Fourth World Conference on Women</i>
HIV	: <i>Human Immunodeficiency Virus</i>
ICPD	: <i>International Conference on Population and Development</i>
ISR	: Infeksi Saluran Reproduksi
KBM	: Kadar Bunuh Minimal
KHM	: Kadar Hambat Minimal
KJ	: Kontrol Jamur
MIC	: <i>Minimum Inhibitory Concentration</i>
ml	: Mililiter
mm	: Milimeter
NCCLS	: <i>'National Commite for Clinical Laboratory Standards'</i>
nm	: Nanometer
OD	: <i>Optical density</i>
ROS	: <i>Reactive Oxygen Species</i>
SDA	: Sabouraud dextrose agar\
SOD	: <i>Superoxid Dismutase</i>
UU	: Undang-undang
WHO	: <i>World Health Organization</i>
μl	: Microliter

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov

Lampiran 2 Uji Kruskal Wallis

Lampiran 3 Uji Mann Whitney

Lampiran 4 Uji Korelasi Spearman



ABSTRAK

Rina, Dinastutie. 2014. *Uji Efektifitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa acuminata x balbisiana) Mentah Terhadap Pertumbuhan Candida albicans secara In Vitro*. Tugas Akhir, Program Studi Kebidanan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing : (1) Dr. dr. Sri Poeranto YS, M.Kes., Sp.Park. (2) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes.

Kandidiasis vaginalis merupakan infeksi daerah vagina yang terjadi karena pertumbuhan *Candida albicans* secara berlebihan. Saat ini obat golongan azol sebagai antifungal yang digunakan memiliki beberapa efek samping. Kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah memiliki zat antifungal antara lain, saponin, tannin, alkaloid dan flavonoid. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak kulit pisang kepok mentah mempunyai efek antifungal terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Desain penelitian menggunakan *true experiment-post test only control group design* dengan metode dilusi agar. Konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok mentah yang digunakan adalah 0% (kontrol), 15%, 17.5%, 20%, 22.5% dan 25%. Kadar Hambat Minimal (KHM) diperoleh dengan membandingkan tingkat pertumbuhan jamur pada masing-masing kelompok. Hasil penelitian menunjukkan bahwa KHM ekstrak kulit pisang kepok mentah berada pada konsentrasi 22.5%. Dari uji Spearman didapatkan hubungan yang signifikan ($p < 0.05$) dengan korelasi yang sangat kuat. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

Kata kunci : *Candida albicans*, *Musa acuminata x balbisiana*, kandidiasis vaginalis, uji dilusi agar.

ABSTRACT

Rina, Dinastutie. 2014. *Antifungal Effectivness Test of Unripe Kepok Banana Peel (Musa acuminata x balbisiana) towards Candida albicans in vitro*. Final Assignment. Midwifery Program, Faculty of Medicine Brawijaya University. Supervisors: (1) Dr. dr. Sri Poeranto YS, M.Kes., Sp.Park. (2) Dr. dr. Dwi Yuni Nur Hidayati, M.Kes.

Candidiasis Vaginalis is a vaginal infection because of *Candida albicans*'s overgrowing. Azol as an antifungal has some side effect. Unripe kepok banana peel (*Musa acuminata x balbisiana*) contains antifungal substance such as saponin, tannin, alkaloid and flavonoid. This reasearch is intended to know antifungal effect of unripe kepok banana peel towards *Candida albicans* in vitro. This study is using true experimental-post test only control group design by using tube dillution test. Extract concentrationof unripe kepok banana peel that is used in this study are 0% (control), 15%, 17.5%, 20%, 22.5% and 25%. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was obtained by comparing the growth of fungi in each group. The result show that the MIC found at the 22.5%. The Spearman test show a significant relationship ($p < 0.05$) with high corelation. It can be conclude that the unripe kepok banana peel (*Musa acuminata x balbisiana*) extract can inhibit *Candida albicans* in vitro.

Key words : *Candida albicans*, *Musa acuminata x balbisiana*, candidiasis vaginalis, agar dilution test.

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kejadian Infeksi Saluran Reproduksi (ISR) semakin meningkat di masyarakat. Sebagian diantaranya tidak tertangani. Kejadian ISR yang tidak tertangani akan menjadi keadaan yang berat pada wanita karena infeksi ini seringkali tidak menunjukkan gejala. Tingkat morbiditas dan mortalitas berhubungan dengan keadaan sosial yang dikaitkan dengan ekonomi, sosial, dan budaya yang berkembang. Perubahan demografi pada negara berkembang menunjukkan peningkatan dramatis pada jumlah remaja dan perempuan dewasa muda sebagai pelaku seksual aktif yang merupakan populasi terbesar yang berisiko mengalami ISR (WHO, 2003).

Secara umum Infeksi Saluran Reproduksi (ISR) dapat dibedakan menjadi tiga jenis infeksi. Klasifikasi pertama adalah penyakit yang ditularkan secara seksual (klamidia, gonore, trikomoniasis, sifilis, herpes genital, *genital warts* dan HIV). Klasifikasi kedua adalah infeksi endogenus yang disebabkan oleh pertumbuhan organisme berlebihan yang berada dalam saluran genital wanita sehat, misal bakteri vaginosis dan kandidiasis vulvovaginal/vaginitis. Dan klasifikasi ketiga adalah infeksi iatrogenik yaitu infeksi yang dapat terjadi karena prosedur medis (Winarsi, 2007; Depkes, 2008). Insidensi terjadinya kandidiasis vaginalis di India mengalami peningkatan yang signifikan dari tahun 2005 hingga 2011, dengan persentase penyebab terbesar dari kandidiasis vaginalis adalah *Candida albicans* yaitu sebesar 83.02% (Hamad, 2013).

Saat ini penanganan kandidiasis vaginalis yang umum dipakai adalah obat golongan azol. Golongan azol yang digunakan seperti klotrimazol, mikonazol, fentikonazol, ekonazol, flukonazol dan itrakonazol (Newson, 2013). Namun, belakangan dilaporkan terjadinya resistensi pada antifungal golongan azol khususnya flukonazol. Semua obat golongan azol dihubungkan dengan terjadinya intoleransi gastrointestinal, *transien transaminitis*, toksisitas hepar, *rash* dan pusing. Azol merupakan agen teratogenik, maka penggunaannya pada kehamilan harus dihindari (Gubbins and Anaissie, 2007).

Obat herbal menarik perhatian serius pemerintah guna menjadikan obat herbal sebagai obat tradisional Indonesia yang dapat digunakan sebagai pilihan terapi penyakit bagi pasien. Program unggulan Departemen Kesehatan tahun 2011 menetapkan obat herbal atau jamu masuk pelayanan kesehatan primer. Pengembangan obat herbal telah diakui dan telah diatur dalam UU No.36 tahun 2009 tentang Kesehatan (Sudoyo, 2011).

Salah satu tanaman yang telah digunakan sebagai tanaman obat tradisional adalah famili pisang (*Musa sp.*) yang memiliki berbagai jenis dan spesies. Beberapa manfaat pisang yang telah diketahui diantaranya antibakteria, antioksidan, menyembuhkan luka, antihiperglikemi, serta mengatasi disentri dan diare (Kumar *et al.*, 2012). Salah satu jenis pisang yang memiliki banyak khasiatnya adalah pisang kepok dengan nama ilmiah *Musa acuminata x balbisiana* dapat digunakan sebagai obat perdarahan usus, obat kumur sakit amandel, serta dapat memperbaiki pertumbuhan dan menghitamkan rambut (Rukmana, 2001).

Pada kulit pisang kepok ditemukan adanya kandungan saponin, alkaloid, tannin, dan flavonoid (Banerjee *et al.*, 2011). Kandungan saponin yang terdapat pada buah *Sapindus saponaria* L. terbukti memiliki efek antifungal pada *Candida albicans* dengan membran sterol jamur sebagai target kerja (Tsuzuki *et al.*, 2007; Gang, 2011). Kandungan alkaloid yang diekstrak dari tiga tanaman yaitu *Galium fissurens* (tanaman asal negara Turki), *Viscum album* (tanaman merambat yang dikenal dengan nama *European mistletoe*) dan tanaman *Black thistle* (Inggris) (*Cirsium hypoleucum*) menekan pertumbuhan *Candida albicans* dengan merusak membran sterol jamur (Orhan *et al.*, 2010; Farsworth, 1996 dalam Windarini, 2013). Ekstrak kulit pohon *Rhizophora apiculata*, yang mengandung tannin, memiliki kadar hambat minimal sebesar 6.25 mg/ml terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dimana tannin bekerja menghambat sintesis kitin (Watson dan Preedy, 2008; Sheh-Hong *et al.*, 2011). Sedangkan flavonoid yang diekstrak dari *Aegel marmelos* menunjukkan aktifitas supresif terhadap proses adhesi *Candida albicans* (Yordanov *et al.*, 2008; Balankumar *et al.*, 2011 dalam Sewanmanee *et al.*, 2014).

Komponen fitokimia tersebut banyak terdapat pada pisang kepok yang merupakan jenis pisang olahan dari pada jenis pisang *dessert* (Akpabio *et al.*, 2012). Secara umum, kandungan tannin lebih banyak terdapat pada kulit buah pisang yang belum matang dari pada kulit buah yang telah matang, karena terjadinya peningkatan etanol, hingga 70 kali lipat, pada proses pematangan pisang menyebabkan turunya kandungan tannin (Ress *et al.*, 2012). Pada daging buah pisang mengandung rata-rata 11.21% flavonoid dan 24.6% pada kulit pisang (Fatemeh *et al.*, 2012).

Kulit pisang kepok mentah, yang merupakan pisang olahan, memiliki kandungan fitokimia yang lebih tinggi dibanding pisang yang telah matang. Dan adanya kandungan tannin, alkaloid, flavonoid dan saponin dikulit pisang kepok yang bekerja menekan pertumbuhan *Candida albicans*. Melihat potensi yang dimiliki kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah sebagai obat tradisional, maka perlu untuk dilakukan penelitian untuk mengetahui efek lebih lanjut. Hal ini yang mendasari penulis dalam pemilihan judul “Uji Efektifitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) Mentah Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *In Vitro*”

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah mempunyai efek antifungal terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahui apakah ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah mempunyai efek antifungal terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui pengaruh ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

2. Mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) larutan ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1. Memberikan tambahan informasi ilmiah mengenai efek antifungal ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.
2. Merupakan dasar untuk melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah pada *Candida albicans*.

1.4.2 Manfaat Klinis

1. Menambah wawasan masyarakat dalam pemanfaatan bahan alami sebagai pengobatan terhadap infeksi *Candida albicans*.
2. Memberikan tambahan pilihan obat alternatif untuk mengatasi infeksi *Candida albicans* yang mudah didapat dan murah.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Infeksi Saluran Reproduksi

2.1.1 Gambaran Umum

Hak dan Kesehatan Reproduksi baru mendapat perhatian khusus setelah dilaksanakannya Konferensi Internasional tentang Kependudukan dan Pembangunan (*International Conference on Population and Development* atau ICPD) di Kairo pada tahun 1994 yang kemudian dilanjutkan dalam Konferensi Perempuan Dunia IV (*Fourth World Conference on Women* atau FWCW IV) di Beijing tahun 1995. Hal penting dalam konferensi tersebut adalah disepakatinya perubahan paradigma dalam pengelolaan masalah kependudukan dan pembangunan dari pendekatan pengendalian populasi dan penurunan fertilitas menjadi pendekatan yang terfokus pada kesehatan reproduksi serta pemenuhan hak-hak reproduksi, yang meliputi pemenuhan kebutuhan reproduksi bagi laki-laki dan perempuan sepanjang siklus hidup (Depkes RI, 2007).

Sebagai tindak lanjut dari komitmen Indonesia dalam ICPD, Kairo (1994) telah diselenggarakan Lokakarya Nasional Kesehatan Reproduksi pada bulan Mei 1996 di Jakarta. Dalam lokakarya tersebut disepakati ruang lingkup kesehatan reproduksi secara luas. Beberapa rekomendasi tersebut adalah tentang pencegahan dan penanggulangan Infeksi Saluran Reproduksi (ISR), kesehatan reproduksi remaja, serta pencegahan dan penanganan infertilitas. Hasil Lokakarya Nasional Kesehatan Reproduksi ke-2, 20 Oktober 2013, di Jakarta yang diharapkan dapat menyelaraskan tujuan dengan *Millennium*

Development Goals, pada poin ke-5 bertujuan meningkatkan kesehatan ibu (Depkes RI, 2007).

Hasil penelitian Rabiou *et al.* pada tahun 2008 dengan responden wanita usia reproduksi yang merupakan pasien ginekologi dan pengguna kontrasepsi mengungkapkan bahwa 77.2% pernah mengalami infeksi saluran reproduksi (ISR). Kebanyakan responden (62.6%) tidak mengetahui adanya gejala ISR, 37.4% mengatakan mengalami gejala ISR dalam enam bulan terakhir. Sebanyak 21.8% mengakui mengalami gejala pengeluaran *discard* vagina (Rabiou, 2010).

Saluran reproduksi yang terinfeksi memberikan konsekuensi pada kasus kesehatan wanita serta anak, bahkan sering mengakibatkan kematian. Semua jenis infeksi saluran reproduksi dapat menyebabkan infertilitas, kehamilan ektopik, kanker serviks, retardasi mental dan memfasilitasi kejadian HIV. Ada tiga jenis infeksi saluran reproduksi, salah satunya adalah infeksi endogenus yang disebabkan oleh pertumbuhan organisme berlebihan yang berada dalam saluran genital wanita sehat, misal bakteri vaginosis dan kandidiasis vaginalis/vulvovaginal (Winarsi, 2007).

Diperkirakan 75% wanita usia reproduktif pernah mengalami kandidiasis vaginalis setidaknya sekali seumur hidup dan 5% kasus terjadi berulang (Rodriguez *et al.*, 2012). Penelitian Hamad (2013) mengungkapkan bahwa insidensi terjadinya kandidiasis vaginalis di Dubai mengalami peningkatan yang signifikan dari 10.76% pada tahun 2005 menjadi 17.61% pada 2011, dengan rata-rata prevalensi sebanyak 13.88%. Pada penelitian ini, dapat diketahui juga bahwa *Candida albicans* terjadi pada kebanyakan kasus dengan persentase sebesar 83.02% dan persentase kejadian *Candida albicans* menurun menjadi sebesar 60.8% pada subjek berumur 45 tahun ($P < 0.01$).

2.1.2 Komplikasi Infeksi Saluran Reproduksi

Semua jenis infeksi saluran reproduksi dapat menyebabkan infertilitas, kehamilan ektopik, kanker serviks, retardasi mental janin dan memfasilitasi kejadian HIV. Secara teori, kerusakan sel yang disebabkan oleh saluran reproduksi yang terinfeksi berkaitan dengan meningkatnya pembentukan senyawa oksigen reaktif (ROS) dalam sirkulasi darah. Hal ini menyebabkan ketidakseimbangan antara banyaknya senyawa oksigen reaktif yang terbentuk dan aktivitas peredamnya. Potensi penangkapan senyawa oksigen reaktif dalam saluran reproduksi secara normal ditunjukkan oleh cukupnya kadar antioksidan SOD, katalase, glutathione, vitamin E dan C serta β -karoten. Bila terjadi ketidakseimbangan antara kadar antioksidan dan banyaknya senyawa oksigen reaktif, terjadilah kondisi yang disebut stres oksidatif dan regresi korpus luteum serta menurunnya fertilitas seseorang (Winarsi, 2007).

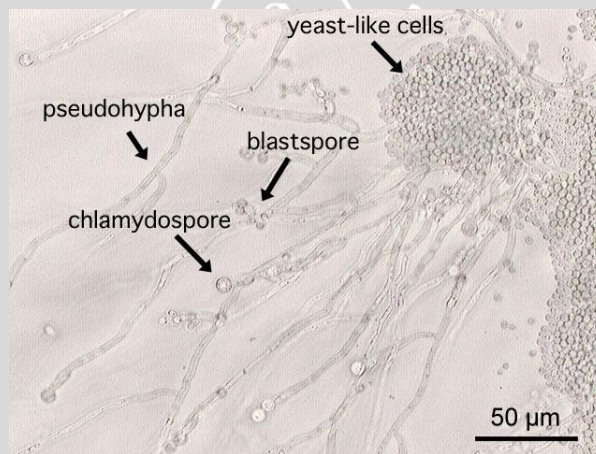
Radikal bebas yang bereaksi dengan komponen biologis dalam tubuh akan menghasilkan senyawa teroksidasi. Banyaknya senyawa teroksidasi dapat digunakan sebagai indeks karakteristik stres oksidatif. Ketika molekul DNA teroksidasi, akan menyebabkan *aging* dan kanker. Jika yang teroksidasi molekul protein, baik berupa enzim yang terinaktivasi ataupun protein yang terdepolarisasi, akan terjadi reaksi inflamasi. Depolarisasi proteoglikan juga akan mengakibatkan terjadinya poliartritis rematoid, sedangkan oksidasi asam lemak dan kolesterol akan mengakibatkan aterosklerosis dan penyakit jantung (Winarsi, 2007).

2.2 Kandidiasis Vulvovaginal

2.2.1 Definisi

Kandidiasis vulvovaginal merupakan infeksi jamur pada vulva dan/atau intravagina dengan penyebab paling sering adalah oleh *Candida albicans*. Jamur ini bertanggung jawab pada 76-89% kandidiasis vulvovaginal (Achkar and Bettina, 2010). Kandidiasis vulvovaginal karena *Candida* selalu disertai dengan vulvovaginitis. Hal ini disebabkan terjadi kontak langsung dengan sekret yang infeksius (Siregar, 2004).

2.2.1.1 Taksonomi *Candida Albicans*



Gambar 2.1 *Candida albicans* perbesaran 200x (Tambe, 2005)

Kingdom	:	Fungi
Filum	:	Ascomycota
Upafilum	:	Saccharomycotina
Kelas	:	Saccharomycetes
Ordo	:	Saccharomycetales
Famili	:	Saccharomycetaceae
Genus	:	Candida
Spesies	:	<i>Candida albicans</i>

2.2.1.2 Morfologi *Candida Albicans*

Jamur *Candida* dapat hidup di dalam tubuh manusia, hidup sebagai parasit atau saprofit, yaitu di dalam pencernaan, alat pernapasan, atau vagina orang sehat. Pada keadaan tertentu, sifat *Candida* ini dapat berubah menjadi patogen dan dapat menyebabkan penyakit yang disebut kandidiasis atau kandidosis (Siregar, 2004).

Sel-sel jamur *Candida* berbentuk bulat, lonjong, atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5 \mu \times 3-6 \mu$ sampai $2-5.5 \mu \times 5-28.5 \mu$ (Siregar, 2004). *Candida* merupakan bagian kelompok besar Jamur Tidak Sempurna (*Imperfectii*) atau *Deutomycetes*. Dan juga dikenal sebagai jamur dimorfik karena dapat berkembang biak dalam bentuk ragi (*yeast*) dan bentuk hifa (Whiteway and Bachewich, 2007). Hifa berkembang dari bentuk ragi (*yeast*) yang tidak berkuncup, sering disebut dengan blastospora. Sebenarnya terdapat pula bentuk morfologi lain pada *Candida albicans*, yaitu bentuk pseudohifa, yang merupakan bentuk pertengahan antara ragi (*yeast*) dengan bentuk hifa. Hifa dan pseudohifa merupakan bentuk invasif yang bertanggung jawab untuk melakukan penetrasi jaringan pada awal infeksi, sedangkan bentuk ragi (*yeast*) yang nantinya akan menyebar pada aliran darah (Sudbery *et al.*, 2004).

Pergantian dari bentuk ragi (*yeast*) ke bentuk hifa dipengaruhi oleh berbagai faktor internal dan eksternal yang merupakan bagian dari regulasi protein yang dilakukan oleh sel eukariotik (Whiteway and Bachewich, 2007). Diketahui bahwa hifa dapat tumbuh dari sel ragi (*yeast*) yang dibiakan pada suhu 37°C dengan penambahan serum. Kultur pada suhu diatas 35°C dan pH netral dapat memicu pertumbuhan hifa dan pseudohifa, sedikit perubahan pada kondisi tersebut akan mempengaruhi hasil perkembangan (Sudbery *et al.*, 2004).

Candida dapat tumbuh mudah di media Sabauroud dengan membentuk koloni ragi dengan sifat yang khas, yakni menonjol dari permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, berwarna putih kekuning-kuningan, dan berbau ragi (Siregar, 2004). Untuk mengidentifikasi *Candida albicans* dapat pula dilakukan dengan melakukan pembiakan klamidospora menggunakan agar tepung jagung. Klamidospora merupakan spora khusus yang berdinding tebal dan dibentuk secara aseksual. Klamidospora adalah sel membesar yang terdapat diantara atau diujung pseudohifa. Bentuk ini hidup pada keadaan lingkungan yang rendah oksigen, cahaya, temperatur dan nutrisi. Kemampuan *Candida albicans* untuk membentuk klamidospora telah digunakan sebagai alat diagnosa klinis untuk mendeteksi adanya jamur patogen tersebut (Whiteway and Bachewich, 2007).

Sterol merupakan komposisi utama pembentuk membran plasma *Candida albicans*. Sterol merupakan struktur yang penting dan merupakan komponen pengatur dari membran sel eukariotik (Iwaki *et al.*, 2008). Sterol utama yang ditemukan pada golongan jamur adalah ergosterol (Alvarez *et al.*, 2007).

Ergosterol merupakan produk akhir dari biosintesis sterol yang memiliki fungsi sama dengan kolesterol pada sel mamalia, dimana bertanggung jawab atas kestabilan dan permeabilitas membran (Iwaki *et al.*, 2007). Membran utama sterol inilah yang merupakan target utama dari azol, hilangnya sterol umumnya akan menimbulkan ketidakstabilan membran, yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas membran (Mukhopadhyay *et al.*, 2004).

Pada jamur, dinding sel merupakan lapisan terluar, yang berada diluar membran plasma. Dinding sel jamur terdiri dari matrik dengan tiga komponen yaitu kitin, glukukan dan protein (Webster *et al.*, 2007). Bagian ini berfungsi melindungi sel ragi dari lingkungannya dan memberi bentuk pada sel-sel ragi. Dinding sel ikut berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi *Candida albicans* (Seydel and Wiese, 2009). Kitin merupakan bagian yang penting sebagai penyokong dinding sel jamur dimana molekul ini tidak terdapat pada manusia dan vertebrata lainnya (Lenardon *et al.*, 2010).

2.2.2 Faktor Predisposisi

Faktor yang mempermudah terjadinya infeksi *Candida* pada seseorang pada dasarnya digolongkan ke dalam dua kelompok yaitu faktor endogen dan faktor eksogen. Faktor endogen dapat berupa kehamilan, obesitas, pegaruh pemberian obat, gangguan imunologis, penyakit menahun seperti tuberkulosis, lupus eritematosus, dan leukemia. Sedangkan faktor eksogen dapat berupa iklim panas dan kelembaban yang menimbulkan banyak keringat sehingga menyebabkan kulit maserasi dan mempermudah invasi *Candida*, kebiasaan dan pekerjaan yang banyak berhubungan dengan air serta kebersihan dan adanya kontak dengan penderita mempermudah invasi *Candida* (Siregar, 2004). *Candida* yang normalnya tidak berbahaya dapat menjadi patogen pada seseorang dengan *Human Immunodeficiency Virus* (HIV), kemoterapi kanker, pasien dengan terapi immunosupresif atau pasien transplantasi organ (Sudbery *et al.*, 2004).

Pola hidup berisiko yang diketahui berhubungan dengan peningkatan insiden kandidiasis vulvovaginal termasuk hubungan seksual dan pelaku oral seks, pengguna kontrasepsi oral estrogen, pengguna kondom dan spermisida. Pada penderita kandidiasis vulvovaginal berulang, penggunaan *panty liners*

secara positif berhubungan dengan kejadian kandidiasis. Seperti halnya penyakit genital lainnya yang menyebabkan rusaknya mukosa, kandidiasis vulvovaginal berhubungan dengan peningkatan penyebaran HIV transvaginal dan meningkatkan risiko HIV sebesar dua kali lipat (Achkar *et al.*, 2010).

2.2.3 Patogenesis

Candida albicans umumnya membentuk koloni pada permukaan epitel dan menyebabkan infeksi superfisial, namun saat kondisi *host* memburuk, jamur mengadakan invasi yang lebih dalam dengan melakukan penetrasi jaringan di bawah epitel. Adakalanya, *Candida albicans* menyebabkan infeksi menyeluruh, dimana jamur mengadakan kolonisasi dan mempengaruhi jaringan *host* yang lainnya sehingga dapat berakibat fatal. Proses ini melibatkan banyak agen virulensi seperti adhesi, enzim hidrolitik dan bentuk hifa (Naglik *et al.*, 2003).

Candida albicans akan menyekresi enzim *Secreted Aspartyl Proteinase* (SAP) sebelum melakukan adhesi pada permukaan kulit atau mukosa, enzim ini berfungsi untuk mempermudah akses langsung *Candida albicans* pada permukaan kulit atau mukosa (Tyasrini, 2006). Selanjutnya, jamur ini akan melakukan adhesi. Prosesnya diperantarai oleh glikoprotein dan adhesin yang terdapat di permukaan dinding sel *Candida albicans*. Sel ragi *Candida albicans* kemudian membentuk kolonisasi kemudian mikroorganisme ini menginvasi ke dalam jaringan tubuh sel hospes dengan mengubah morfologinya dari bentuk ragi ke bentuk pseudohifa atau hifa. Dengan bentuk pseudohifa maka makrofag akan kesulitan dalam memfagositosis karena pseudohifa mensekresikan proteinase yang dapat membunuh makrofag (Ahmad *et al.*, 2010).

Candida albicans dapat melakukan adhesi pada endotel pembuluh darah kemudian membentuk hifa dan menginvasi ke dalam jaringan tubuh hospes maka menyebabkan abses parenkim organ yang dapat mengakibatkan kerusakan pada organ. Proses tersebut dapat menimbulkan terjadinya kandidiasis sistemik (Kauffman, 2011).

2.2.4 Manifestasi Klinik

Kandidiasis vulvovaginal ditandai terlihatnya bercak putih kekuningan, meninggi dari permukaan. Bercak-bercak ini terdiri dari gumpalan jamur *Candida*, jaringan nekrotik dan sel-sel epitel. Dari liang vagina keluar sekret vagina yang mula-mula tampak seperti butir-butir tepung halus. Di dalam gumpalan secret ini terdapat elemen-elemen *Candida* dan epitel serta secara perkontinuitatum menyebabkan infeksi di daerah vulva sehingga terjadi vulvovaginitis. Labia mayora dan minora membengkak dengan ulkus-ulkus kecil berwarna merah dan disertai dengan erosi. Sering dijumpai pada wanita hamil, dan pada wanita tidak hamil biasanya keluhan dimulai seminggu sebelum menstruasi sering lebih berat bila tidur atau sesudah mandi air hangat. Umumnya didapati disuria dan dispareunia superfisial. Vulvovaginitis menimbulkan iritasi berupa sariawan dengan gatal yang hebat dan mengeluarkan sekret (Simatupang, 2008; Suyoso, 2013).

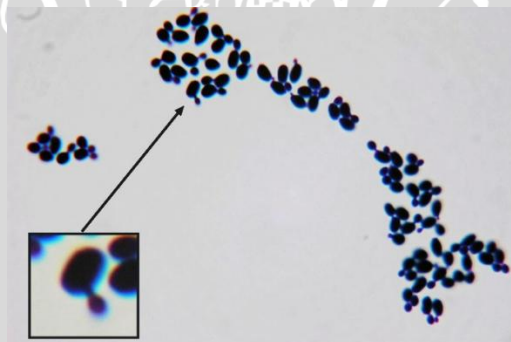
Menurut Suyoso (2013), berdasarkan manifestasi klinis dapat dibagi menjadi dua klasifikasi, yaitu:

1. Kandidiasis vulvovaginal tanpa penyulit (*uncomplicated*)
 - a. Terjadinya tidak sering atau sporadik, atau
 - b. Terjadinya ringan sampai sedang, atau
 - c. Terjadi pada wanita nonimunokompromis

2. Kandidiasis vulvovaginal dengan penyulit (*complicated*)
 - a. Terjadi berulang, pasien yang terkena gejala simptomatik kandidiasis vulvovaginal empat kali atau lebih dalam satu tahun oleh karena berbagai faktor predisposisi, atau
 - b. Terjadinya berat (vulva eritema luas, edema, dan terbentuk fisura), atau
 - c. Terjadi pada wanita dengan diabetes tidak terkontrol, immunosupresif (mendapat kortikosteroid jangka lama dan pasien HIV/AIDS) atau hamil.

2.2.5 Pemeriksaan

1. Pengecatan Gram



Gambar 2.2 Pengecatan Gram perbesaran 1000x, hasil biakan *Candida albicans* pada SDA (Yuri, 2007)

Jamur tampak positif gram dan sporanya lebih besar dari bakteri. Pemeriksaan langsung KOH atau gram harus dilakukan pada kandidiasis mukosa dan apabila hasilnya positif, sudah dapat menyokong diagnosis. Bahan yang digunakan dalam pembiakan adalah 40 gr dekstrosa (glukosa), 10 gr pepton, 20 gr agar dan 1000 ml akuadestilata. Dengan pH akhir adalah 5,6. Medium di atas ditambah dengan antibiotik untuk

mencegah pertumbuhan bakteri yang terdapat di dalam bahan klinis bersama dengan jamur *Candida* (Suyoso, 2013). Pada pemeriksaan mikroskopis dengan pengecatan Gram, *Candida albicans* menunjukkan Gram-positif dan ditemukan *Candida albicans* dalam bentuk yeast, berbentuk oval dengan diameter lebih kurang 5 μm serta membentuk *budding* (Kayser et al., 2005).

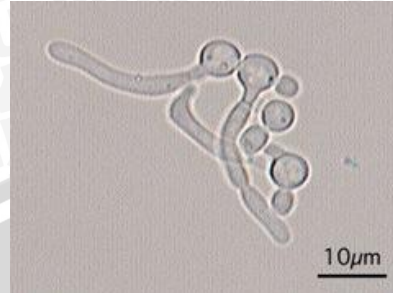
2. Kultur



Gambar 2.3 *Candida albicans* dalam Biakan SDA (Oxoid, 2013)

Sabouraud Dextrose Agar (SDA) dengan antibiotik, yang mana kultur akan tumbuh dalam 24-72 jam. *Candida* dapat mudah tumbuh di dalam media Sabouraud dengan membentuk koloni ragi dengan sifat yang khas, yakni menonjol dari permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, berwarna putih kekuning-kuningan, dan berbau ragi (Suyoso, 2013).

3. Germinating Tube



Gambar 2.4 Gambaran mikroskopik *Candida albicans*. Melalui *Germinating Tube* inkubasi selama 3 jam pada 37°C perbesaran 600x (Tambe, 2006)

Identifikasi *Candida albicans* menggunakan teknik *germinating tube* bertujuan untuk menginisiasi pertumbuhan hifa secara langsung dari sel yeast. Pembentukan *germ tube* dipengaruhi oleh medium, ukuran inokulum dan temperatur inkubasi. Inokulasi yang berlebihan akan menghambat perkembangan *germ tube*. Inkubasi dilakukan pada suhu 35°-37° C selama 2.5-3 jam (Sheppard et al., 2008).

2.2.6 Terapi

Mekanisme kerja antifungal dan golongannya dapat dijelaskan sebagai berikut.

Tabel 2.1 Mekanisme Kerja Antifungal (Gubbins and Anaissie., 2007; Sardi et al., 2013)

Golongan	Mekanisme Kerja	Agen
Polienes	Merusak kestabilan membran sel jamur. Mengikat ergosterol yang berada di membran sel jamur, yang mana membentuk pori pada membran dan menyebabkan depolarisasi dari membran menimbulkan kebocoran sel.	Amphoterin B Nistatin
Pirimidin	Menghambat sintesis DNA	Flusitosin
Azol	Mempengaruhi sintesis sterol dengan menghambat enzim yang berperan penting untuk mengubah lanosterol menjadi ergosterol	Miconazol Ketokonazol Flukonazol Itraconazol Terconazol Voriconazol Posaconazol
Echinocandins	Menghambat pembentukan glukan. Dimana dinding sel jamur utama mengandung polisakarida dan glukan merupakan komponen terbanyak. Penghambatan ini menyebabkan peningkatan permeabilitas dinding sel dan menyebabkan sel menjadi lisis	Caspofungin Micafungin Anidulafungin

Pengobatan yang direkomendasikan pada kandidiasis vulvovaginal dibedakan menurut gejala klinis. Pada pengobatan kandidiasis tanpa penyulit (*uncomplicated*) 90% kasus yang berhasil, digunakan penggunaan dosis tunggal atau terapi singkat. Dimana pada terapi topikal, obal golongan azol lebih efektif dari pada nistatin. Jika obat oral yang digunakan, flukonazol merupakan

rekomendasi menangani kandidiasis vulvovaginal *uncomplicated* (Achkar *et al.*, 2010).

Pengobatan kandidiasis vulvovaginal dengan penyulit (*complicated*) dan kandidiasis vulvovaginal berulang dilakukan dengan terapi azol secara topikal intravaginal harian setidaknya selama tujuh hari atau menggunakan flukonazol oral (150 mg tiap 72 jam untuk tiga dosis). Terapi jangka panjang flukonazol oral menunjukkan efek positif pada 90% pasien dengan kandidiasis vulvovaginal berulang. Pengobatan oral lain yang menunjukkan hasil positif adalah dengan ketokonazol (100 mg per hari) dan dengan itraconazole (200 mg, dua kali sehari selama 1-2 minggu) (Achkar *et al.*, 2010).

Penggunaan obat golongan azol dalam terapi kandidiasis vaginalis berhubungan dengan terjadinya intoleransi gastrointestinal, transaminitis transien, toksisitas hepar, *rash*, pusing dan psikosis. Gejala gastrointestinal (mual, muntah, dan diare) merupakan efek samping yang paling banyak terjadi. Efek ini biasanya terjadi karena penggunaan dosis tinggi, namun gejala yang gawat jarang terjadi hingga dibutuhkannya penghentian terapi. Golongan azol juga menyebabkan terjadinya alergi bintik kemerahan dan hilang dengan penghentian terapi. Azol merupakan agen teratogenik, maka penggunaannya pada kehamilan harus dihindari (Gubbins *et al.*, 2007).

Tabel 2.2 Terapi kandidiasis vaginalis (Newson, 2013)

Jenis Terapi	Agen Terapi	Sediaan dan dosis
Topikal	Klotrimazol	1. Krim (1%, 2%) digunakan 2-3 kali sehari 2. Pessary (100 mg, 200 mg, 500 mg) digunakan malam hari 3. Krim intravagina (10%) digunakan pada malam hari
	Mikonazol	1. Krim intravaginal (2%) digunakan satu kali sehari selama 10-14 hari atau dua kali sehari selama 7 hari 2. Kapsul vagina (1.2 g) digunakan malam hari
	Fentikonazol	1. Krim intravaginal (2%) digunakan 2 kali sehari selama tiga hari 2. Kapsul vagina (200 mg) digunakan pada malam hari selama tiga malam 3. Kasul vagina (600 mg) digunakan sepkali pada malam hari
	Ekonazol	1. Krim intravaginal (1%) digunakan pada malm hari untuk sekurangnya 14 hari 2. Pessary (150%) digunakan pada malam hari selama 3 hari.
Oral	Flukonazol (150 mg)	Dosis tunggal
	Itrakonazol (200 mg)	Dua kali sehari selama satu hari

2.3 Pisang Kepok (*Musa acuminata x balbisiana*)

2.3.1 Taksonomi



Gambar 2.5 Pisang Kepok Mentah (Soul, 2011)

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Magnoliophyta
Kelas	: Liliopsida
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Musaceae
Genus	: Musa
Species	: <i>Musa acuminata x balbisiana</i>

2.3.2 Karakteristik

Secara umum pisang dibagi menjadi dua jenis yaitu pisang yang langsung dapat dikonsumsi (*Musa sapientum*) dan pisang yang harus diolah sebelum dikonsumsi (*Musa paradisiaca*). Pisang kepok dengan nama ilmiah *Musa acuminata x balbisiana*, masuk dalam kategori pisang yang harus diolah sebelum dikonsumsi walaupun sebenarnya dapat langsung dikonsumsi jika buah sudah matang. Merupakan jenis pisang triploid hasil persilangan antara *Musa acuminata* dengan *Musa balbisiana*. Pisang ini memiliki sebutan yang berbeda di beberapa negara seperti pisang *abu keeling* (Malaysia), *apple plantain*

(Inggris), *banana cochon* (Prancis), *nalla bontha* (Hindi) dan *bankel* (India) (Banerjee, 2011).

Pisang membutuhkan iklim tropis untuk tumbuh. Temperatur yang sesuai untuk mengoptimalkan pertumbuhannya berkisar 27° C. Membutuhkan wilayah dengan curah hujan pertahun berkisar 2.000-2.500 mm, biasanya tumbuh pada wilayah tropis dataran rendah. Pisang berasal dari daerah tropis Asia Tenggara dan wilayah Pasifik Barat. Penelitian membuktikan bahwa tanaman ini merupakan tanaman domestik Papua New Guinea, namun kini menyebar pada seluruh daerah tropis. Pisang kepok memiliki batang *pseudoterm* yang besar dan kuat yang dapat mencapai tinggi 6.1-9.1 m. Pelepahnya dapat mencapai 0.91 meter. Pelepah dan daunnya berwarna biru tua hingga kehijauan. Buah siap dipanen setelah berbunga selama 150-180 hari (lebih lama dari varietas pisang yang lainnya). Pada satu tandan pisang dapat dipanen 26-38 kg, umumnya terdapat 16 sisir dalam satu tandan, yang tiap sisirnya memiliki 12-20 biji pisang. Panjang tiap biji pisang 8-13 cm dengan diameter 2.5-5.5 cm. Buah ini berbentuk menyerupai kotak dan bersudut. Daging buah berwarna putih dan mengandung banyak zat tepung (Temanel, 2007).

Pisang kepok paling baik tumbuh pada tanah subur yang kering dengan banyak sinar matahari. Pisang kepok mewarisi banyak karakteristik dari *Musa balbisiana* yang membuatnya toleran terhadap tanah kering dan kondisi dingin dari daerah beriklim sedang. Pisang jenis ini membutuhkan curah hujan minimum dan dapat bertahan musim kemarau panjang selama disediakan irigasi yang memadai (Temanel, 2007).

2.3.3 Manfaat

Pisang kepok umum dikonsumsi setelah diolah terlebih dahulu. Misalnya digoreng, direbus, maupun dikolak. Daunnya dapat digunakan sebagai bungkus makanan maupun pakan ternak. Bonggol atau batang bagian bawah pisang kepok dapat digunakan sebagai obat disentri, perdarahan usus, obat kumur sakit amandel, serta dapat memperbaiki pertumbuhan, menghitamkan rambut, mengatasi ulkus gastrik, efek antibakteri, antioksidan, penyembuhan luka, dapat menyembuhkan luka (Rukmana, 2001; Banerjee *et al.*, 2011).

Produk utama tanaman pisang adalah buah pisang, adapun batang (setelah pisang dipanen) merupakan limbah. Pada fase pembungaan dan pembuahan, setelah pembentukan sisir yang terakhir, biasanya dilakukan pemotongan bunga. Dan kemudian bunga pisang (jantung atau oer) tersebut dikategorikan sebagai limbah. Limbah tanaman berupa bonggol dan bunga memiliki potensi diolah menjadi makanan, selama ini bunga hanya dijadikan lalap. Adapun limbah kulit buah pisang masih belum dimanfaatkan (Rukmana, 2001).

2.3.4 Kandungan

Hasil skrining fitokimia dengan menggunakan pelarut metanol dan etanol pada kulit pisang mengandung senyawa tannin, alkaloid, saponin dan flavonoid, keseluruhan unsur tersebut larut dalam pelarut etanol maupun metanol (Okorundu *et al.*, 2012). Metanol dan etanol merupakan jenis pelarut yang dapat digunakan namun metanol lebih beracun pada tubuh manusia dibandingkan dengan pelarut etanol (Chang, 2003).

Tabel 2.3 Perbandingan komposisi fitokimia dengan pelarut metanol (Akpabio et al., 2012)

Komposisi Fitokimia	<i>Musa acuminata x balibisiana</i> (mg/100 g)	<i>Musa sapientum</i> (mg/100 g)
Tannin	7.99 ± 0.26	6.55 ± 0.33
Flavonoid	+	+
Saponin	++	+
Alkaloid	+++	++

Keterangan :

- + : Ada dalam jumlah sedikit
- ++ : Ada dalam jumlah sedang
- +++ : Ada dalam jumlah tinggi

2.3.4.1 Saponin

Saponin merupakan kelompok glikosida alami yang berasal dari tanaman, memiliki karakteristik dengan membentuk busa pada air. Adanya saponin telah dilaporkan terdapat pada lebih dari 100 famili tanaman dan lebih dari 150 jenis saponin alami dilaporkan sebagai agen anti kanker. Saponin dibagi menjadi subdivisi yaitu triterpenoid dan steroid glikosida (Vincken et al., 2007). Terdapat lebih dari 11 pembagian kelas saponin termasuk diantaranya dammaranes, tirucallanes, lupanes, hopanes, oleananes, taraxasteranes, ursanes, cycloartanes, lanostanes, cucurbitanes dan steroid (Man et al., 2010).

Hasil penelitian Tsuzuki et al. (2007) membuktikan bahwa saponin yang berasal dari ekstrak *Sapindus saponaria* L. memiliki efek antifungal pada isolat *Candida albicans* dan *C. non-albicans* yang berasal dari sekresi vagina pada pasien kandidiasis vulvovaginalis. Sebagai antifungal, saponin mengikat ergosterol yang merupakan membran sterol utama dari jamur (Gang, 2011). Kemudian menyebabkan turunnya tegangan membran *Candida albicans* dan

disusul dengan meningkatnya permeabilitas membran (Naidu, 2000; Pranoto et al., 2012).

2.3.4.2 Tannin

Tannin dinamakan juga asam tannin, dengan nama kimia penta-m-digallolil glukosa. Memiliki efek antioksidan karena dapat memediasi pembelahan DNA plasmid (Wu et al., 2010). Penelitian Sheh-Hong et al. (2011) menunjukkan bahwa ekstrak tannin yang diambil dari kulit pohon *Rhizophora apiculata* dapat mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans* dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) sebesar 6.25 mg/ml. Tannin memiliki efek antifungal karena bersifat menghambat sintesis kitin yang merupakan komponen yang penting pada dinding sel jamur (Watson and Preedy, 2008). Terjadinya kerusakan pada dinding sel fungi menyebabkan kerusakan membran sel yaitu hilangnya sifat permeabilitas membran sel sehingga keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim tidak terseleksi. Apabila enzim keluar dari dalam sel, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangbiakan sel. Bila hal ini terjadi maka akan terjadi kematian fungi (Hayati et al., 2009).

Kandungan tannin pada kulit pisang berkurang bersamaan dengan matangnya pisang hal ini terjadi karena peningkatan kadar etanol saat pisang matang. Pada kulit pisang mentah mengandung 10 ml etanol dimana meningkat 70 kali lipat pada pisang yang telah kuning secara keseluruhan. Semakin tinggi etanol maka akan semakin menurun banyaknya kandungan tannin pada pisang (Ress et al., 2012).

2.3.4.3 Alkaloid

Penelitian terdahulu menunjukkan bahwa alkaloid memiliki efek antimikroba, antibakteri dan antifungal yang kuat. Hasil penelitian Caron *et al.* yang dikutip dalam Aniszewski (2007) menunjukkan setidaknya 31 alkaloid memiliki aktifitas biologi melawan mikroorganisme dimana mikroorganisme yang diuji oleh Caron adalah *B. subtilis*, *S. aureus*, *Mycobacterium smagmatits*, *E. Coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* dan *Aspergillus niger*. Alkaloid memiliki kerja yang hampir sama dengan saponin, dimana bekerja melubangi membran sel jamur sehingga sel menjadi lemah (Arif *et al.*, 2009).

2.3.4.4 Flavonoid

Flavonoid memiliki banyak efek farmakologi seperti antifungal, antioksidan, antialergi, antiinflamasi dan antikasinogenik (Sumanthy *et al.*, 2011). Flavonoid menunjukkan aktifitas supresif terhadap proses adhesi *Candida albicans* pada sel epitel manusia (Yordanov *et al.*, 2008). Dimana proses adhesi *Candida albicans* merupakan salah satu faktor yang mempengaruhi tingkat virulensi jamur tersebut (Achkar *et al.*, 2010). Selain itu, flavonoid sebagai antifungal membentuk kompleks dengan protein dan merusak membran sel dengan mendenaturasi ikatan protein pada sel membran sehingga sel menjadi lisis (Sulistyawati and Mulyani, 2009). Pada pisang kepok terdapat flavonoid jenis Leukosianidin (Banerjee, 2011). Leukosianidin atau disebut juga leukosianidol merupakan komponen aktif dari leukoantosianin. Hasil penelitian Balakumar *et al.* (2011) dalam Sewanmanee *et al.* (2014) membuktikan bahwa leukoantosianin dalam *Aegle marmelos* memiliki aktifitas antifungal.

2.4 Metode Ekstraksi

2.4.1 Metode Maserasi

Metode maserasi merupakan cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan jamu yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau diserbukkasarkan) disatukan dengan bahan ekstraksi. Rendaman tersebut disimpan terlindungi dari cahaya langsung (mencegah reaksi yang dikatalisis cahaya atau perubahan warna) dan dikocok kembali. Waktu maserasi adalah berbeda-beda. Namun pada umumnya 3-5 hari, setelah waktu tersebut keseimbangan antara bahan yang diekstraksi pada bagian dalam sel dengan luar sel telah tercapai. Pengocokan dilakukan agar cepat mendapatkan kesetimbangan antara bahan yang diekstraksi dalam bagian sebelah dalam sel dengan yang masuk kecairan. Kekurangan dari metode ekstraksi maserasi adalah dibutuhkannya waktu yang cukup lama untuk menyelesaikan proses ekstraksi (Satyajit *et al.*, 2006).

2.4.2 Metode Soxhlet

Ekstraksi soxhlet digunakan secara luas dalam ekstraksi bahan metabolit tanaman (Satyajit *et al.*, 2006). Material tanaman ditempatkan pada *thimble*, dimana terdapat lubang pada sisi samping dan bawah sehingga cairan dapat turun. Dibagian bawah *thimble* terdapat labu pengumpul sedangkan dibagian atasnya terdapat refluks kondenser. Pada labu yang didalamnya terdapat pelarut dilakukan pemanasan, sehingga pelarut menguap hingga mencapai kondenser. Pelarut terkondensasi kemudian masuk ke dalam *thimble* dimana di dalamnya terdapat material tanaman, ketika mencapai level yang sesuai unsur tersebut akan dialirkan kembali ke dalam labu pelarut. Zat terlarut dipisahkan dari pelarut melalui proses destilasi yang pada akhirnya hanya akan tersisa zat terlarut di

dalam labu. Prosedur ini dilakukan berulang hingga ekstrak tanaman didapatkan (Brijesh *et al.*, 2013). Waktu yang dibutuhkan untuk melakukan ekstraksi relatif singkat serta pelarut yang dibutuhkan relatif sedikit dibandingkan dengan metode maserasi maupun infusi merupakan keuntungan dari soxhlet. Namun karena proses membutuhkan pemanasan secara terus-menerus maka dapat mempengaruhi komponen termolabil yang terdapat pada ekstrak (Satyajit, 2006).

2.5 Metode Uji Kepekaan Terhadap Antifungal *In Vitro*

2.5.1 Metode Dilusi

Metode tes dilusi dilakukan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) pada agen antimikroba. Kadar Hambat Minimal ditetapkan sebagai konsentrasi terendah agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan organisme. Perkiraan KHM dapat berguna untuk menentukan dosis terapeutik agen antimikroba (Parija, 2009).

2.5.1.1 Metode Dilusi Broth

Metode dilusi broth merupakan metode kuantitatif untuk menentukan KHM pada agen antimikroba secara *in vitro*. Dilakukan dengan tabung reaksi berseri yang diisi media cair dan mikroba dalam jumlah tertentu. Ditambahkan dengan suspensi yang telah diencerkan secara serial (Parija, 2009). Kemudian di inkubasikan pada suhu 37° C selama 18-24 jam. KHM ditentukan oleh konsentrasi terendah dimana tidak terlihat kekeruhan pada tabung. Dengan menggunakan metode ini dapat pula ditentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM) dengan melakukan subkultur dari masing-masing tabung. Dimana tidak terlihat pertumbuhan organisme pada agar nutrisi setelah dilakukan inkubasi selama semalam pada suhu 37° C (Dzen *et al.*, 2003). Konsentrasi jamur pada uji ini

adalah 10^4 CFU/ml (Therese *et al.*, 2006). Kadar Bunuh Minimal (KBM) yaitu kadar terendah dari antifungi yang dapat membunuh jamur (ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan jamur pada medium SDA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum*/OI) pada medium SDA yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Fungus, 2007).

2.5.1.2 Metode Dilusi Agar

Pada dasarnya metode dilusi agar serupa dengan metode dilusi *broth*, namun pada metode ini obat dicampurkan ke dalam medium agar dan organisme (10^4 CFU/ml) diinokulasi dibagian atas agar (Nightingale *et al.*, 2001). Obat yang diencerkan secara serial dicampurkan pada agar dan dituangkan pada cawan petri. Satu kontrol diinokulasi tanpa tambahan obat. Organisme yang diuji diinokulasikan dan diinkubasi selama semalam pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Parija, 2009). Setelah selesai diinkubasi, yang perlu dilakukan adalah mengamati pertumbuhan jamur yang terdapat pada cawan. Cawan yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan jamur menunjukkan konsentrasi KHM obat (Kumar *et al.*, 2010).

2.5.2 Metode Difusi Cakram

Metode tes difusi cakram merupakan metode yang umum dilakukan pada laboratorium untuk menentukan kepekaan isolat mikroorganisme pada suatu antibiotik. Cakram yang diisi dengan obat yang telah diketahui konsentrasinya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam (Parija, 2009).

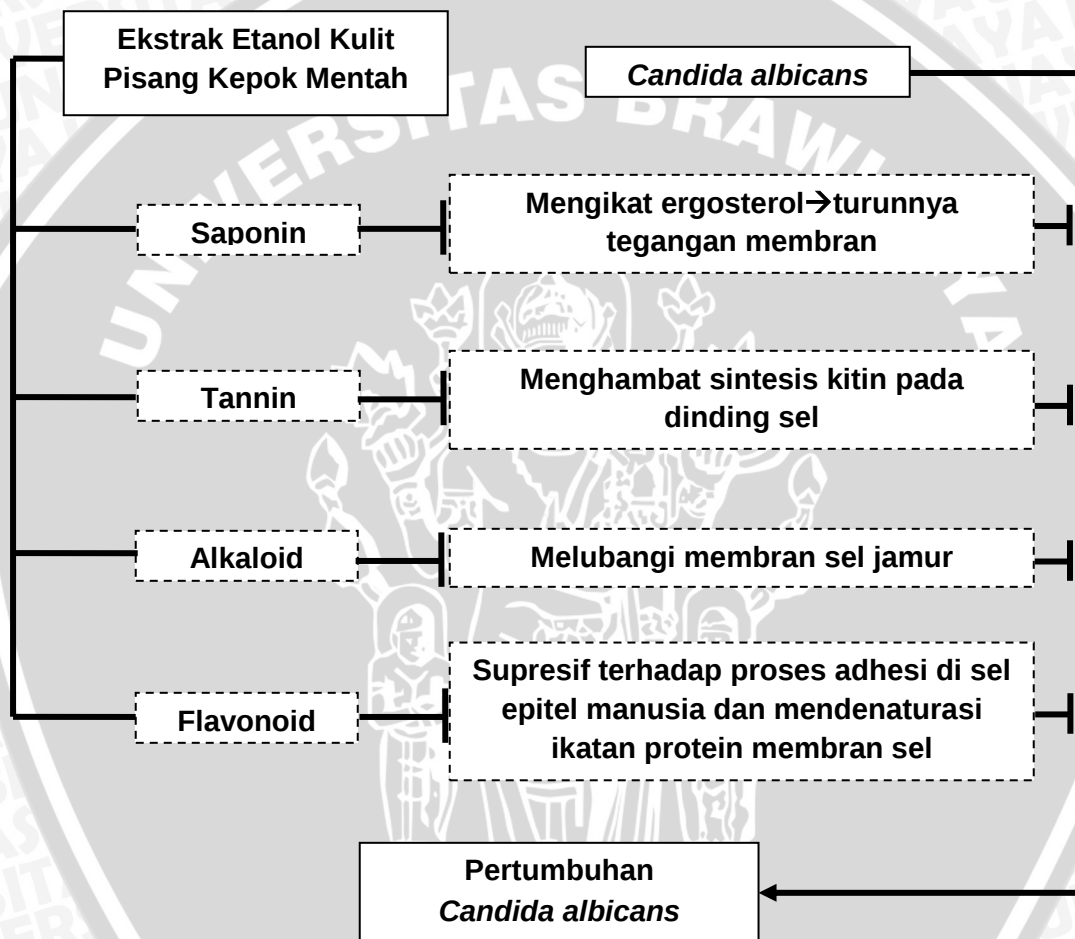
Menurut Dzen *et al.* (2003) untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat jamur sensitif atau resisten terhadap obat), dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini:

1. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan cara membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) disekitar cakram dengan tabel standar yang disebut NCCLS (*'National Comittee for Clinical Laboratory Standard'*). Dengan tabel NCCLS dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten.
 - a. Sensitif jika radius zona inhibisi kuman tes
 - 1) Lebih lebar dari zona inhibisi kontrol atau
 - 2) Sama dengan lebar dari zona inhibisi kontrol atau
 - 3) Lebih kecil tetapi tidak lebih dari 3 mm dari lebar zona inhibisi kontrol
 - b. Intermediet jika radius zona inhibisi kuman tes lebih besar dari 3 mm, tetapi lebarnya lebih kecil 3 mm dibanding kontrol
 - c. Resisten bila radius zona inhibisi kurang atau sama dengan 3 mm
2. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan cara membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara jamur kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat jamur yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk jamur kontrol dan jamur uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Skema kerangka konsep penelitian

Keterangan :



: Subjek yang diteliti



: Subjek yang tidak diteliti



: Berpengaruh menghambat



: Proses perkembangan/pertumbuhan

3.2 Keterangan Kerangka Konsep

Menurut hasil skrining fitokimia yang dilakukan Okorundu dkk. (2012), pada kulit pisang mengandung senyawa tannin, alkaloid, saponin dan flavonoid. Sebagai antifungal, saponin mengikat ergosterol yang merupakan membran sterol utama dari jamur (Gang, 2011). Kemudian menyebabkan turunnya tegangan membran *Candida albicans* (Naidu, 2000), dan disusul dengan meningkatnya permeabilitas membran (Pranoto *et al.*, 2012). Alkaloid memiliki kerja yang hampir sama dengan saponin, dimana bekerja melubangi membran sel jamur sehingga sel menjadi lemah. Tannin memiliki efek antifungal karena bersifat menghambat sintesis kitin yang merupakan komponen yang penting pada dinding sel jamur (Watson dan Preedy, 2008). Flavonoid menunjukkan aktifitas supresif terhadap proses adesi *Candida albicans* pada sel epitel manusia (Yordanov *et al.*, 2008). Selain itu flavonoid membentuk kompleks dengan protein dan merusak membran sel dengan mendenaturasi ikatan protein pada sel membran sehingga sel menjadi lisis (Sulistyawati and Mulyani, 2009). Faktor-faktor ini yang dirasa dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata X balbisiana*) mentah dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan desain penelitian eksperimental laboratorik *post test only control group design* dengan metode tes dilusi agar untuk mengetahui efek antifungal ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) mentah terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. Tes dilusi agar dilakukan untuk menentukan KHM. Prosedur ini dikerjakan dengan melakukan penanaman jamur pada *plate* agar SDA yang telah dicampur dengan berbagai konsentrasi ekstrak.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Pembuatan ekstrak kulit pisang kepok mentah dilakukan di Materia Medica Kota Batu. Sedangkan penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan Agustus hingga Desember 2014.

4.3 Populasi dan Sampel Penelitian

Bahan sampel yang digunakan adalah pisang kepok mentah yaitu pisang kepok yang memiliki kulit keseluruhan berwarna hijau tua yang didapat dari kebun Pisang Kepok di Desa Mojorejo, Kota Batu. Sedangkan jamur *Candida albicans* yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.4 Variabel Penelitian

1. Variabel bebas penelitian ini adalah ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) mentah dengan konsentrasi 25%, 22.5%, 20%, 17.5%, dan 15%. Rentang konsentrasi 2.5% digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) yang lebih tepat.
2. Variabel terikat penelitian ini adalah jumlah pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
3. Variabel kontrol penelitian ini adalah media pertumbuhan jamur, cara pengekstraksian bahan, jenis pisang kepok mentah, bahan dan peralatan yang dipakai serta suhu inkubasi.

4.5 Definisi Operasional

1. Kulit pisang kepok mentah
Kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) mentah adalah kulit pisang yaitu kulit pisang yang berwarna hijau keseluruhannya.
2. Ekstrak kulit pisang kepok mentah konsentrasi 100%
Cairan hasil maserasi kulit pisang kepok mentah dengan menggunakan pelarut etanol 96% dan telah dilakukan proses pemisahan antara ekstrak dengan pelarut.
3. *Candida albicans*
Jamur *Candida albicans* dengan nomor isolat 1093 SV, 1027 SV, 1148 SV dan 1135 SV yang telah diidentifikasi dengan membiakan pada SDA, pewarnaan Gram dan *Germinating Tube*. Kemudian dibuat suspensi jamur dengan konsentrasi 10^4 CFU/ml. *Candida albicans* diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya

Malang yang berasal dari swab vagina empat pasien penderita kandidiasis vaginalis di Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.

4. Kadar Hambat Minimal (KHM)

Konsentrasi terendah dari antifungal dimana tidak adanya pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada keseluruhan isolat.

5. Kontrol Jamur/ Kontrol Positif adalah *plate* dengan konsentrasi 0% larutan ekstrak kulit pisang kepok mentah.

6. Penilaian pertumbuhan koloni menggunakan skoring:

0: tidak ada pertumbuhan koloni

1: jamur tumbuh tipis dan dapat dihitung

2: jamur tumbuh tipis dan tidak dapat dihitung

3: jamur tumbuh tebal dan tidak dapat dihitung

4.6 Estimasi Jumlah Pengulangan

Pada penelitian ini digunakan lima macam dosis perlakuan yang berbeda, serta satu kontrol jamur. Maka memiliki total enam dosis perlakuan. Koefisien n adalah jumlah pengulangan dan p adalah jumlah perlakuan (Solimun, 2001). Jumlah pengulangan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus:

$$p(n - 1) \geq 15$$

. Sehingga jumlah pengulangan dapat dihitung sebagai berikut:

$$p(n - 1) \geq 15$$

$$6(n - 1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3.5$$

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Pembuatan Ekstrak

Alat yang dibutuhkan untuk pembuatan ekstrak adalah blender, tabung erlenmeyer, timbangan ukur, gelas ukur, kertas aluminium dan pengaduk. Bahan yang digunakan adalah kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah yang telah dikeringkan, etanol 96%, akuades dan botol hasil ekstrak.

4.7.2 Identifikasi Jamur

Alat yang digunakan mikroskop, *object glass*, kaca penutup, ose, bunsen, tabung reaksi dan inkubator. Sedangkan bahan yang dibutuhkan isolat jamur *Candida albicans*, SDA, pewarna *crystal violet* dan safranin, akuades serta serum mamalia.

4.7.3 Uji Kepekaan Ekstrak

Alat dan bahan yang digunakan adalah tabung reaksi steril, ose lengkung, mikropipet 1 ml, inkubator, bunsen, ekstrak kulit pisang mentah, medium SDA, cawan dan akuades.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Kulit Pisang Kepok Mentah 100%

4.8.1.1 Proses Pengupasan

1. Buah pisang kepok dipilih dan diambil yang masih mentah
2. Kulit buah pisang dikupas dan dicuci bersih dengan menggunakan air

4.8.1.2 Proses Ekstraksi (Metode Maserasi)

Proses ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan di Materia Medica Kota Batu selama 1 minggu.

1. Kulit pisang kepok yang telah dicuci bersih kemudian dipotong dengan lebar sekitar 2 mm. Lalu dikeringkan selama semalam dalam oven dengan suhu 38° C.
2. Kulit pisang yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan mesin penghalus.
3. Kulit pisang yang telah dihaluskan, sebanyak 500 gr dimasukkan ke dalam wadah, kemudian ditambahkan 1.5 liter etanol 96%.
4. Tabung erlenmeyer ditutup lalu dilapisi dengan menggunakan kertas aluminium kemudian dikocok perlahan. Pengocokan dilakukan 1-2 kali dalam sehari.
5. Tabung erlenmeyer disimpan dalam suhu ruang selama tiga hari.
6. Setelah tiga hari, campuran disaring dengan menggunakan kertas filter hingga bebas dari partikel kasar.
7. Hasil selanjutnya di evaporasi dengan menggunakan bantuan alat *rotavapor* untuk memisahkan etanol dari ekstrak kulit pisang kepok mentah.

4.8.2 Identifikasi Jamur *Candida Albicans* pada *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Isolat jamur dari laboratorium mikrobiologi diambil satu koloni dengan menggunakan ose. Kemudian dibiakkan pada media SDA dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam. Setelah itu diamati karakteristik jamur tersebut.

4.8.3 Identifikasi Jamur *Candida Albicans* dengan Pewarnaan Gram (Kumari, 2000)

1. *Object glass* dibersihkan dengan kapas dan dilewatkan diatas api.
2. Tetesi *object glass* dengan akuades, ambil sedikit biakan jamur dengan menggunakan ose, aduk pelan sampai tercampur dengan akuades.
3. Sediaan dikeringkan di udara dan dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan pada api.
4. Sediaan dituangi Kristal violet selama 1 menit, sisa bahan warna dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan dituangi lugol selama 1 menit, sisa bahan warna dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan dituangi alkohol 96% selama 10-15 detik, sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan dituangi safranin selama 30 detik, sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap.
9. Diamati pada mikroskop dengan perbesaran 1000x.
10. Diamati hasilnya, jamur *Candida albicans* akan tercat ungu (Gram positif) berbentuk *budding*.

4.8.4 Identifikasi Jamur *Candida albicans* dengan *Germinating Tube*

1. Sebanyak 0.5 ml serum mamalia dimasukan ke dalam tabung reaksi.
2. Isolat jamur diambil dengan ose yang telah disterilisasi dengan menggunakan bunsen.
3. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 4-6 jam.

4. Jamur dikultur dalam serum diambil menggunakan ose yang telah disterilisasi dan diletakkan di atas *object glass*.
5. Pertumbuhan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 400x terdapat pseudohifa memanjang khas *Candida albicans*.

4.8.5 Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans*

Dzen *et al.* (2003) menjelaskan cara persiapan suspensi uji jamur dengan perhitungan jumlah koloni menggunakan spektrofotometer. *Optical Density* (OD) = 0.1 disebut setara dengan standar Mc Farland 0.5. Standar Mc Farland 0.5 setara dengan uji konsentrasi jamur sebesar 10^6 CFU/ml. Dengan demikian, persiapan suspensi uji *Candida albicans* dapat dilakukan sebagai berikut:

1. Disediakan jamur *Candida albicans* dari SDA yang telah diuji konfirmasi
2. Diambil 5 koloni (diameter ≥ 1 mm) dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0.85% steril. Kemudian diukur OD (*Optical Density*) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda = 530$ nm. Dari hasil diperoleh dibuat suspensi yang mengandung 10^6 CFU/ml. Dilakukan perhitungan dengan rumus berikut :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

N_1 : Hasil spektrofotometer

V_1 : Volume jamur yang akan ditambah pengencer

N_2 : OD (0.1 setara dengan 10^6 CFU/ml)

V_2 : Volume suspensi jamur uji (10 ml)

Dari hasil perhitungan tersebut diperoleh volume jamur (ml) yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan 10 ml konsentrasi 10^4 CFU/ml. Jamur dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml dibuat dengan mengambil 1 ml jamur yang telah

diuji spektrofotometri dan ditambahkan dengan 9 ml NaCl 0.85% steril. Dari 10 ml jamur dengan konsentrasi 10^6 CFU/ml diambil 1 ml larutan kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml NaCl 0.85% steril sehingga konsentrasi jamur menjadi 10^5 CFU/ml. Diambil 1 ml larutan dengan konsentrasi jamur 10^5 CFU/ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang telah diisi 9 ml SDB sehingga konsentrasi jamur menjadi 10^4 CFU/ml.

4.8.6 Eksplorasi Awal Kemampuan Ekstrak

Sebelum dilakukan penelitian, perlu dilakukan eksplorasi awal untuk menguji kemampuan antifungal bahan dengan menggunakan metode dilusi tabung. Berikut alur eksplorasi awal :

1. Disiap tabung reaksi dan beri label untuk konsentrasi ekstrak 50% (tabung I), 25% (tabung II), 12.5% (tabung III), 6.25% (tabung IV), 3.125% (tabung V) dan 0% (tabung VI).
2. Kontrol Jamur (0%) dibuat dengan cara memasukkan 2 ml SDB yang telah dicampur dengan jamur *Candida albicans* ke dalam tabung reaksi VI.
3. Dimasukkan masing-masing 1 ml akuades pada tabung I, II, III, IV, dan V.
4. Ekstrak 50% dibuat dengan cara menambahkan 1 ml ekstrak 100% kedalam tabung I lalu di vortex.
5. Ekstrak 25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml ekstrak di tabung I dan memasukkannya pada tabung II lalu di vortex.
6. Ekstrak 12.5% dibuat dengan cara mengambil 1 ml ekstrak di tabung II dan memasukkannya pada tabung III lalu di vortex.
7. Ekstrak 6.25% dibuat dengan cara mengambil 1 ml ekstrak di tabung III dan memasukkannya pada tabung IV lalu di vortex.

8. Ekstrak 3.125% dibuat dengan cara mengambil 1 ml ekstrak di tabung IV dan memasukkannya pada tabung V lalu di vortex.
9. Ditambah masing-masing 1 ml suspensi *Candida albicans* yang telah dicampur dengan SDB ke dalam tabung I, II, III, IV dan V.
10. Masing-masing tabung dikocok dengan menggunakan vortex.
11. Tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam.
12. Setelah 18-24 jam dinilai tingkat kekeruhan.
13. Disiapkan 2 *plate* SDA, gambar garis ditengah *plate* sehingga membentuk 4 bagian dalam satu *plate*, kemudian beri keterangan sesuai konsentrasi pada tiap bagian tersebut
14. Diambil 1 ose dari tiap tabung untuk kemudian dilakukan penggoresan pada masing-masing *plate* SDA yang telah disiapkan.
15. Seluruh *plate* SDA diinkubasi pada suhu 37° C selama 18-24 jam.

4.8.7 Uji Kepekaan Ekstrak terhadap *Candida albicans*

1. Media SDA dibuat dengan mencampurkan 65 gr agar dengan 1 liter akuades, kemudian dipanaskan di dalam autoklaf selama 15 menit.
2. *Plate* yang telah disterilkan disiapkan untuk konsentrasi ekstrak 0% (*plate* I), 15% (*plate* II), 17.5% (*plate* III), 20% (*plate* IV), 22.5% (*plate* V) dan 25% (*plate* VI) kemudian beri label.
3. Kontrol jamur (ekstrak 0%) dibuat dengan memasukkan 10 ml agar.
4. Ekstrak 15% dibuat dengan cara mencampurkan 1.5 ml ekstrak 100% dengan 8.5 ml agar lalu putar searah untuk mencampurkan ekstrak dengan agar.

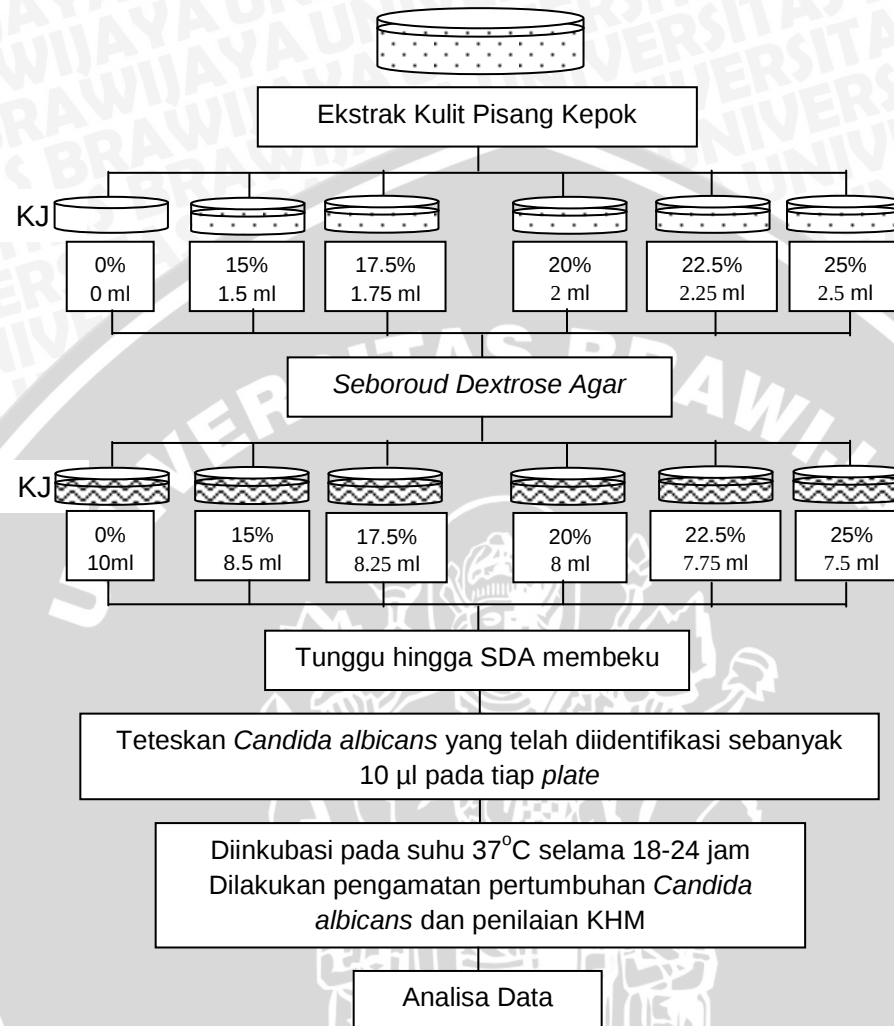
5. Ekstrak 17.5% dibuat dengan cara mencampurkan 1.75 ml ekstrak 100% dengan 8.25 ml agar lalu putar searah untuk mencampurkan ekstrak dengan agar.
6. Ekstrak 20% dibuat dengan cara mencampurkan 2 ml ekstrak 100% dengan 8 ml agar lalu putar searah untuk mencampurkan ekstrak dengan agar.
7. Ekstrak 22.5% dibuat dengan cara mencampurkan 2.25 ml ekstrak 100% dengan 7.75 ml agar lalu putar searah untuk mencampurkan ekstrak dengan agar.
8. Ekstrak 25% dibuat dengan cara mencampurkan 2.5 ml ekstrak 100% dengan 7.5 ml agar lalu putar searah untuk mencampurkan ekstrak dengan agar.
9. Setelah SDA membeku, garis digambar pada tiap plate sehingga terdapat 4 ruang dalam 1 plate.
10. Sediaan jamur *Candida albicans* ditetaskan menggunakan mikropipet sebanyak 10 μ l pada tiap konsentrasi ekstrak.
11. Ditunggu hingga *Candida albicans* hingga cukup meresap ke dalam SDA $\pm$ 15 menit.
12. Seluruh plate diinkubasi selama 18-24 jam.
13. Setelah 18-24 jam dinilai tingkat pertumbuhan dan dibandingkan dengan kontrol. Kemudian ditentukan KHM dari ekstrak tersebut.

4.9 Analisis Data

Berdasarkan faktor pemberian perlakuan ditentukan secara kualitatif maka uji statistik yang digunakan adalah Kruskal Wallis. Uji ini dilakukan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak terhadap jumlah koloni, dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0.05$). Sebelum dilakukan uji Kruskal Wallis dilakukan uji distribusi dengan menggunakan uji Kolmogorof smirnof, data dikatakan berdistribusi normal jika dihasilkan $p > 0.05$. Setelah dilakukan uji Kruskal Wallis dilanjutkan dengan analisis uji Mann-Whitney uji ini dilakukan untuk mengetahui kelompok pasangan sampel mana yang memberikan perbedaan signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan signifikan..

Selanjutnya dilakukan uji korelasi guna menguji hipotesis asosiatif. Uji ini dilakukan untuk mengetahui kekuatan dan keeratan hubungan antara perlakuan pemberian konsentrasi ekstrak terhadap jumlah *Candida albicans*. Jika distribusi data normal ($p > 0.05$) maka analisis dilakukan dengan uji korelasi Pearson. Jika distribusi data tidak normal ($p < 0.05$) maka digunakan uji korelasi Spearman.

4.10 Rancangan Penelitian



Gambar 4.1 Skema uji antifungal ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) mentah

BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstrak Etanol Kulit Pisang Kepok (*Musa acuminata x balbisiana*)

Mentah

Percobaan pendahuluan pembuatan serbuk kering kulit pisang kepok digunakan 4.5 kg kulit pisang kepok mentah basah yang telah dicuci bersih kemudian dikeringkan dengan oven pada suhu 37⁰ C, hasil kering yang didapatkan dilakukan penghalusan menghasilkan sebanyak 800 gr serbuk halus. Dalam penelitian digunakan sebanyak 500 gr serbuk kulit kering dan dilakukan pengestrakan menggunakan teknik maserasi dengan pelarut etanol 96%. Pengestrakan menghabiskan 1.5 liter etanol 96% dengan dilakukan satu kali maserasi. Dari prosedur tersebut didapatkan 86 ml ekstrak kulit pisang kepok. Ekstrak berwarna coklat gelap, konsistensi encer dengan sedikit endapan (gambar 5.1).



Gambar 5.1 Hasil ekstrak etanol kulit pisang kepok mentah

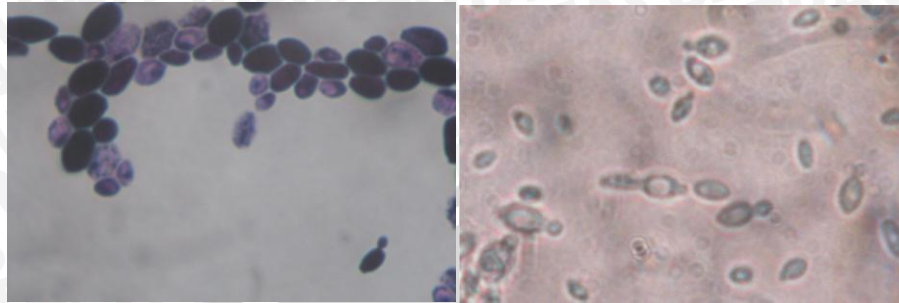
5.1.2 Identifikasi *Candida albicans*

Sampel dalam penelitian ini menggunakan empat isolat *Candida albicans* hasil swab vagina penderita kandidiasis vaginalis, yaitu isolat dengan nomor 1093 SV, 1027 SV, 1148 SV dan 1135 SV yang terdapat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Selanjutnya dilakukan identifikasi pada keempat isolat tersebut. Bentuk koloni yang tumbuh pada biakan SDA berwarna putih kekuningan (krem), licin, agak mengkilat dan berbau ragi (Gambar 5.2).



Gambar 5.2 Hasil pertumbuhan koloni *Candida albicans* isolat 1093 SV pada SDA

Uji selanjutnya yang dilakukan adalah identifikasi menggunakan pewarnaan Gram dan *germtube*. Setelah dilakukan pewarnaan Gram didapatkan jamur tercat berwarna ungu yang menunjukkan bahwa merupakan gram positif. Jamur dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x menunjukkan adanya sel *budding* yang merupakan bentukan blastospora (Gambar 5.3). Pada keempat isolat juga telah dilakukan identifikasi dengan menggunakan *germtube*. Isolat *Candida albicans* dibiakan pada serum mamalia dan diinkubasi selama 4-6 jam. Kemudian dilihat dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x menunjukkan tumbuhnya pseudohifa dimana jamur mengalami pemanjangan sel (Gambar 5.3).



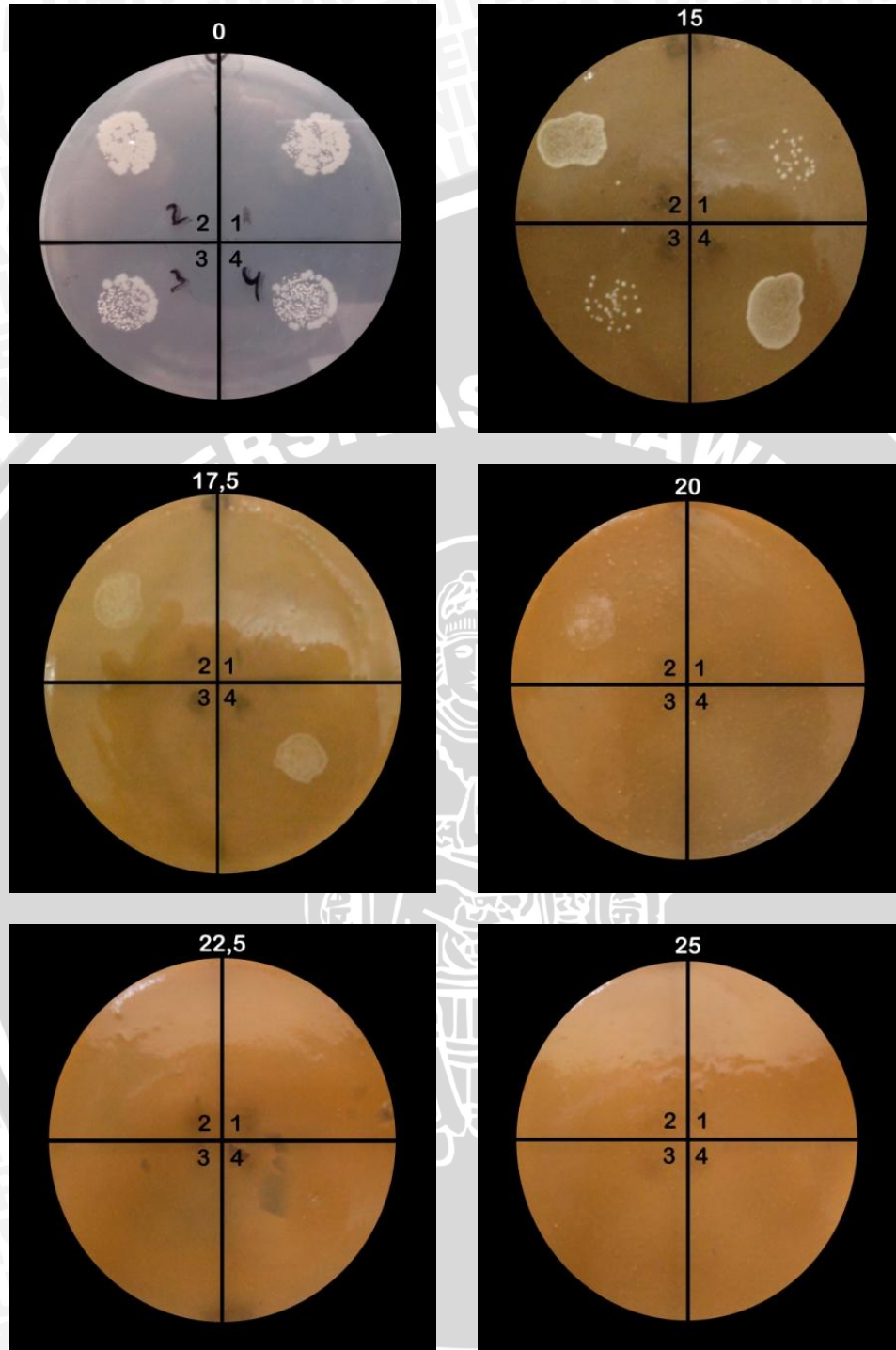
(a)

(b)

Gambar 5.3 Identifikasi *Candida albicans* (a) Pewarnaan Gram perbesaran 100x (b) Germtube perbesaran 40x

5.1.3 Hasil Penentuan KHM

Pada penelitian ini menggunakan ekstrak etanol kulit pisang kepok (*Musa acuminata X balbisiana*) mentah dengan 6 macam konsentrasi yaitu 15%, 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 0% sebagai kontrol jamur. Hasil pengamatan jumlah jamur ditentukan dengan mata telanjang untuk melihat jumlah koloni yang tumbuh pada sediaan agar tiap *plate*. *Plate* dimana tidak ditumbuhi *Candida albicans* sama sekali dalam pengamatan setelah 18-24 jam merupakan Kadar Hambat Minimal (KHM). Hasil penentuan KHM dapat dilihat pada gambar 5.4



Gambar 5.4 Koloni *Candida albicans* setelah perlakuan dengan ekstrak kulit pisang mentah konsentrasi 0%, 15%, 17.5%, 20% 22.5% dan 25% pada inkubasi 18-24 jam

Gambar di atas menunjukkan terjadinya perubahan pertumbuhan *Candida albicans* sebelum dilakukan uji (larutan ekstrak 0%) dan setelah diberikan berbagai konsentrasi ekstrak pada media dilusi agar. Terjadi hubungan yang berlawanan antara pertumbuhan jamur dengan konsentrasi ekstrak, dimana semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka koloni jamur yang terlihat akan semakin tipis. Hasil interpretasi pertumbuhan *Candida albicans* pada berbagai konsentrasi dapat dilihat pada tabel 5.1.

Tabel 5.1 Klasifikasi pertumbuhan koloni *Candida albicans* dalam beberapa konsentrasi kulit pisang kepok muda

Pengulangan	Konsentrasi Ekstrak Kulit Pisang Kepok Mentah					
	0%	15%	17.5%	20%	22.5%	25%
I	3	1	0	0	0	0
II	3	3	2	2	0	0
III	3	1	0	0	0	0
IV	3	3	2	0	0	0

Keterangan:

0: tidak ada pertumbuhan koloni jamur

1: jamur tumbuh tipis dan dapat dihitung

2: jamur tumbuh tipis dan tidak dapat dihitung

3: jamur tumbuh tebal dan tidak dapat dihitung

Uji identifikasi *Candida albicans* dilakukan kembali setelah dilakukan pengamatan pertumbuhan jamur. Dari hasil uji pewarnaan gram didapatkan jamur yang tercatat berwarna ungu serta pada pengamatan dibawah mikroskop terdapat pertumbuhan sel *budding*. Sedangkan dari hasil uji *germtube* ditemukan adanya pertumbuhan pseudohifa.

Pada konsentrasi 15% menunjukkan terjadinya penurunan jumlah koloni dibandingkan dengan konsentrasi 0%, dimana pada konsentrasi 15% terjadi penurunan jumlah koloni pada pengulangan I dan III yang ditunjukkan oleh keadaan tipis berbintik pada *plate* jumlah pertumbuhan koloni dapat dihitung. Sementara pada konsentrasi 20% menunjukkan masih terdapatnya koloni jamur yang hidup pada pengulangan II. Konsentrasi terendah dengan tidak adanya pertumbuhan koloni jamur didefinisikan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak pisang kepok mentah sebagai antifungal. Pada konsentrasi 22.5% dan 25% tidak ditemukan adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada keempat pengulangan. Sehingga dapat disimpulkan bahwa KHM dari ekstrak kulit pisang kepok mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah 22.5%. Dengan demikian menurut penelitian kualitatif pada pertumbuhan koloni *Candida albicans* menunjukkan bahwa pemberian perlakuan berupa berbagai konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok mentah (*Musa acuminata x balbisiana*) memberikan efek antifungal. Hasil penelitian ini kemudian dianalisis menggunakan uji statistik Kruskal Wallis, uji Mann Whitney dan uji korelasi Spearman.

5.2 Analisa Data

Analisis data yang digunakan adalah uji hipotesis komparatif dan uji hipotesis korelatif. Uji hipotesis komparatif berfungsi untuk mengetahui perbedaan pertumbuhan koloni *Candida albicans* dengan ekstrak kulit pisang dibandingkan dengan dilusi agar tanpa ekstrak (0%). Tingkat pertumbuhan koloni jamur merupakan variabel ordinal dan berdasarkan analisa uji normalitas Kormogorov-Smirnov menunjukkan bahwa distribusi data pada penelitian ini tidak normal ($p < 0.05$) dimana $p = 0.009$. Sehingga uji hipotesis komparatif yang

digunakan ada uji nonparametrik Kruskal Wallis dan Mann Whitney. Dan uji asosiatif yang digunakan dalam uji Spearman, dengan menggunakan program SPSS 16.

5.2.1 Uji Kruskal Wallis

Tujuan dilakukan uji Kruskal Wallis adalah untuk mengetahui adanya perbedaan pengaruh dari beberapa konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada media biakan dilusi SDA secara kualitatif. Hipotesis ditekankan dengan H_0 dan H_1 . Makna H_0 dalam uji statistik ini adalah tidak ada perbedaan efek antifungal pada pemberian konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Sedangkan H_1 adalah ada perbedaan efek antifungal pada pemberian konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. H_0 diterima jika nilai signifikansi (α) adalah 0.05, artinya H_0 diterima jika nilai signifikansi yang didapat > 0.05 dan ditolak jika nilai signifikansi (α) < 0.05 . Hasil analisis uji Kruskal Wallis dapat dilihat pada tabel 5.2.

Tabel 5.2 Hasil analisis Uji Kruskal Wallis

Test Statistics ^{a,b}	
	J Koloni
Chi-Square	17.565
df	5
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test
b. Grouping Variable: Kelompok

Berdasarkan hasil analisis Kruskal Wallis menunjukkan bahwa nilai signifikansi adalah 0.004 ($p < 0.05$). Sehingga H_0 ditolak dan H_1 diterima, dengan demikian dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan efek antifungal pada pemberian ekstrak terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

5.2.2 Uji Mann Whitney

Bentuk data yang digunakan dalam penelitian adalah data kualitatif dengan skala ordinal yaitu pertumbuhan koloni *Candida albicans* yang dihasilkan pada dilusi agar plate. Uji Mann Whitney sebagai uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) digunakan untuk mengetahui konsentrasi mana yang memiliki efek antifungal dengan perbedaan signifikan terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Uji Mann Whitney membandingkan pertumbuhan koloni *Candida albicans* antar dua konsentrasi ekstrak yang berbeda pada semua perlakuan, sehingga dapat diketahui signifikansi perbedaan pertumbuhan antara keduanya. Perbedaan pertumbuhan *Candida albicans* antara dua konsentrasi yang berbeda diartikan signifikan jika nilai signifikansi (p) < 0.05, sedangkan apabila nilai signifikansi (p) > 0.05 maka diartikan tidak berbeda secara signifikan. Hasil uji Mann Whitney pada penelitian ini tersaji pada tabel 5.3.

Tabel 5.3 Hasil uji signifikansi Mann Whitney

	0%	15%	17.5%	20%	22.5%	25%
0%	-					
15%	0.343	-				
17.5%	0.029*	0.343	-			
20%	0.029*	0.114	0.686	-		
22.5%	0.029*	0.029*	0.343	0.686	-	
25%	0.029*	0.029*	0.343	0.686	1.000	-

Keterangan: Tanda (*) = berbeda signifikan

Berdasarkan tabel di atas diketahui bahwa pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada konsentrasi 0% berbeda secara signifikan terhadap konsentrasi 17.5%, 20%, 22.5% dan 25%. Pertumbuhan koloni pada konsentrasi 15% berbeda secara signifikan dengan konsentrasi 22.5% dan 25%. Pada pasangan konsentrasi 0% dengan 15%, konsentrasi 15% dengan 17.5% dan 20%,

konsentrasi 17.5% dengan 20%, 22.5% dan 25%, konsentrasi 20% dengan 22.5% dan 25%, dan yang terakhir konsentrasi 22.5% dengan 25% tidak berbeda secara signifikan sehingga secara pengujian statistik masih dianggap sama.

5.2.3 Uji Korelasi Spearman

Uji korelasi dilakukan untuk mengetahui kekuatan dan keamatan hubungan antara perlakuan pemberian ekstrak terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Uji korelasi Spearman digunakan karena sebaran data pada penelitian tidak normal. Hasil uji korelasi Spearman dapat dilihat pada tabel 5.4.

Tabel 5.4 Hasil uji korelasi Spearman

Correlations				
			DK	J Koloni
Spearman's rho	DK	Correlation Coefficient	1.000	-.838**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
	J_Koloni	Correlation Coefficient	-.838**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

Berdasarkan hasil uji korelasi Spearman menunjukkan bahwa nilai signifikan adalah 0.000 ($p < 0.05$) sehingga dapat disimpulkan terdapat hubungan yang signifikan antara besarnya konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Sedangkan koefisien korelasi yang terbentuk adalah -0.838. Tanda negatif menunjukkan bahwa terjadi hubungan berkebalikan antara besarnya konsentrasi dengan pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Sehingga dapat diartikan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok yang diberikan maka pertumbuhan koloni *Candida albicans* akan semakin menurun. Terdapat hubungan yang sangat kuat antara

konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni yang tumbuh. Berdasarkan kriteria

(Sarwono, 2006) :

Nilai korelasi 0 : tidak ada korelasi antara dua variabel

Nilai korelasi $> 0-0.25$: korelasi sangat lemah

Nilai korelasi $> 0.25-0.5$: korelasi cukup

Nilai korelasi $> 0.5-0.75$: korelasi kuat

Nilai korelasi $> 0.75-0.99$: korelasi sangat kuat

Nilai korelasi 1 : korelasi sempurna



BAB 6

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektifitas ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode ekstraksi zat aktif yang digunakan dalam penelitian ini adalah maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Kemudian dilakukan prosedur pemisahan antara etanol dan ekstrak, sehingga hanya tersisa komponen zat aktif yang dapat membunuh *Candida albicans*. Bentuk ekstrak kulit pisang kepok adalah keruh, berwarna coklat, sedikit encer serta terdapat endapan. Setelah dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan dilusi tabung diketahui larutan menghasilkan endapan serta terjadi kekeruhan maka KHM tidak dapat ditentukan. Berdasarkan hasil tersebut metode yang kemudian digunakan untuk menentukan pengaruh ekstrak terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah dengan menggunakan dilusi agar. Pada metode ini, ekstrak dicampur dengan menggunakan *Soburoud Dextrose Agar* (SDA) sehingga terbentuk campuran ekstrak kulit pisang dengan agar dalam bentuk padat.

Dengan menggunakan metode dilusi agar, pencampuran antara agar dan ekstrak dilakukan ketika keduanya dalam bentuk cair yang kemudian akan memadat, sehingga kehomogenitasan di media pembiakan dapat dijaga dan dapat diketahui efek antifungal ekstrak pada *Candida albicans*. Melalui uji dilusi agar akan diketahui Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak kulit pisang kepok tersebut.

Sebelum dilakukan prosedur uji antifungal, peneliti melakukan identifikasi jamur *Candida albicans* dengan tiga cara. Pertama dilakukan pembiakan pada SDA karena media tersebut mengandung nutrisi yang sesuai untuk pembiakan *Candida albicans*. Kedua dilakukan identifikasi pengecatan Gram berguna untuk mengetahui ada tidaknya *budding cell* dan tercatat berwarna ungu. Uji ketiga adalah uji *germinating tube*, dimana *Candida albicans* menunjukkan adanya pseudohifa tanpa adanya konstiksi dibagian leher.

Percobaan ini dilakukan pada lima konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok mentah antara lain 15%, 17.5%, 20%, 22.5% dan 25% serta satu kelompok kontrol jamur/kontrol positif yaitu konsentrasi 0%. Pada tiap konsentrasinya diujikan pada jamur *Candida albicans* dari empat macam isolat yang berbeda berasal dari empat orang penderita kandidiasis vaginalis di Rumah Sakit Umum Saiful Anwar. Pada konsentrasi 17.5% terdapat jamur yang masih tumbuh pada isolat nomor 2 dan 4 dengan ketebalan pertumbuhan jamur yang lebih tipis dari pada konsentrasi 15%, sedangkan isolat 1 dan 3 tidak terlihat adanya pertumbuhan. Pada ekstrak dengan konsentrasi 20% terlihat masih terdapat pertumbuhan pada isolat nomor 2, sedangkan isolat 1, 3 dan 4 tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur. Diketahui bahwa terhambatnya pertumbuhan koloni *Candida albicans* dengan keseluruhan isolat menunjukkan nilai 0 adalah pada konsentrasi 22.5% dan 25%. Sehingga ditentukan KHM pada penelitian ini adalah konsentrasi 22.5%. Untuk memastikan tidak ada kontaminasi pada biakan *Candida albicans* maka dilakukan identifikasi pasca perlakuan. Hasil yang didapatkan tidak terbukti adanya kontaminasi *Candida albicans* pada penelitian.

Berdasarkan hasil uji analisis Kruskal Wallis dari hasil pengamatan peneliti diperoleh kesimpulan H_0 ditolak ($p < 0.05$) berarti terdapat perbedaan efek antifungal pada setiap pemberian konsentrasi ekstrak terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Pada uji Mann Withney, dari 15 pasang yang diujikan 6 pasang diantaranya menunjukkan perbedaan yang signifikan. Dari uji korelasi Spearman diketahui nilai signifikan adalah 0.000 ($p < 0.05$) dengan koefisien korelasi -0.838, menunjukkan adanya perubahan pertumbuhan *Candida albicans*, semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan maka semakin menurun pertumbuhan koloninya. Dan terdapat hubungan yang sangat kuat antara konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni yang tumbuh.

Berdasarkan pemaparan diatas, dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak kulit pisang kepok mentah dapat berfungsi sebagai antifungal khususnya pada *Candida albicans*. Pada penelitian yang dilakukan oleh Eveline *et al.* (2011) juga terbukti bahwa ekstrak kulit pisang kepok dapat menghambat pertumbuhan *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Eschericia coli*, dan *Listeria monocytogenes* pada konsentrasi 10%, 20%, 30% dan 40%.

Efek antifungal yang terkandung di dalam kulit pisang kepok mentah kemungkinan didapat dari beberapa senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Senyawa aktif tersebut memengaruhi baik struktur dan fungsi dari bagian sel *Candida albicans* seperti pada dinding sel dan membran sel. Dinding sel berfungsi sebagai pelindung sel ragi dari lingkungan dan memberi bentuk pada sel-sel ragi. Selain itu, dinding sel ikut berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi *Candida albicans* (Seydel and Wiese, 2009). Sedangkan membran sel dengan struktur utama ergosterol memiliki fungsi menjaga kestabilan dan permeabilitas membran (Iwaki *et al.*, 2007).

Unsur pertama yang terdapat pada kulit pisang kepok mentah adalah saponin. Saponin bekerja mengikat ergosterol (Gang, 2011). Dampaknya, terjadi peningkatan permeabilitas membran sel yang memicu terjadinya kebocoran sel, dengan keluarnya komponen penting jamur ke luar sel mengakibatkan sel jamur lebih mudah mati (Gubbins *et al.*, 2007). Unsur kedua adalah alkaloid. Kerja alkaloid hampir sama dengan saponin, dimana bekerja melubangi membran sel jamur sehingga sel menjadi lemah (Arif *et al.*, 2009). Unsur ketiga yang terdapat dalam ekstrak kulit pisang kepok mentah adalah tannin. Tannin bersifat menghambat sintesis komponen penting dinding sel yaitu kitin (Watson and Preedy, 2008). Kitin merupakan penyokong dinding sel jamur dan tidak terdapat pada manusia maupun vertebrata lainnya (Leonardo *et al.*, 2010). Gangguan sintesis kitin menyebabkan ikut rusaknya sifat permeabilitas membran sel karena dinding sel sebagai pelindung telah rusak, sehingga terjadi masuknya air, nutrisi, dan enzim yang tidak terseleksi. (Hayati *et al.*, 2009). Unsur keempat adalah flavonoid. Leukosianidin merupakan jenis flavonoid yang terdapat dalam kulit pisang kepok (Banerjee, 2011). Flavonoid bersifat supresi adhesi *Candida albicans* pada sel host (Yordanov *et al.*, 2008), serta flavonoid berikatan dengan protein dan merusak membran sel dengan mendenaturasi ikatan protein pada sel membran sehingga sel menjadi lisis (Sulistyawati and Mulyani, 2009).

Keterbatasan dari penelitian ini adalah tidak diketahui jenis zat aktif yang terdapat dalam ekstrak kulit pisang kepok, berapa jumlah masing-masing zat aktif tersebut serta apakah zat aktif tersebut bekerja secara bersama-sama atau tidak bersama-sama untuk mempengaruhi pertumbuhan *Candida albicans*. Hal ini dibutuhkan untuk menentukan dosis efektif dalam penggunaannya. Selain itu, dalam pemilihan bahan ekstrak, peneliti hanya dapat memastikan bahwa kulit

pisang kepok yang digunakan adalah pisang yang mentah dan tidak diketahui umur buahnya secara pasti, apakah kulit yang digunakan adalah kulit pisang kepok mentah yang tua atau kulit pisang kepok mentah yang muda. Keterbatasan yang ketiga adalah *Candida albicans* yang digunakan berasal dari perempuan yang berbeda-beda, sehingga ada kemungkinan berbeda pula resistensinya, baik karena pengaruh lingkungan ataupun riwayat pengobatan sebelumnya pada masing-masing perempuan tersebut.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah memiliki efek antifungal dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah maka semakin rendah tingkat pertumbuhan jamur *Candida albicans*
3. Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata x balbisiana*) mentah terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro* adalah konsentrasi 22.5%

7.2 Saran

Adapun saran yang dapat peneliti berikan pada penelitian ini adalah:

1. Perlu dilakukan penelitian yang lebih spesifik mengenai ekstrak kulit pisang kepok mentah tua atau ekstrak kulit pisang kepok mentah muda yang memiliki pengaruh lebih besar terhadap sebagai antifungal pada *Candida albicans*.

2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vivo* dan uji toksisitas sebelum dijadikan alternatif pengobatan di masyarakat
3. Perlu penelitian lebih lanjut untuk mengetahui zat aktif antifungal yang terkandung dalam ekstrak kulit pisang kepok (*Musa acuminata* x *balbisiana*) yang memiliki efek dominan sebagai antifungal pada *Candida albicans*
4. Perlu dilakukan penelitian dengan menggunakan *Candida albicans* yang berasal dari satu penderita agar validitas internal penelitian lebih terjaga



DAFTAR PUSTAKA

- Achkar JM, Fries BC. 2010. *Candida Infection of The Genitourinary Tract*. Clinical Microbiology Review, p.253-273.
- Ahmad I, Mohammad S, Mohammad O, Farrukh A. 2010. *Combating Fungal Infections: Problems and Remedy*. Germany: Springer. p. 21, 449.
- Akpabio UD, Udiong DS, Akpakpane. 2012. The Physicochemical Characterizticz of Plantain (*Musa Paradisiaca*) and Banana (*Musa sapientum*). *Advance in Natural and Applied Sciences*, 6(2): 167-172.
- Alvarez FJ, Douglas LM, Konopka JB. 2007. Sterol-Rich Plasma Membrane Domain in Fungi. *Eukaryotic Cell*, p:755-763.
- Anhwange BA, Ugye TJ, Nyiaatagher TD. 2009. Chemical Composition of *Musa Sapientum* (Banana) Peels. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 8 (6): 437-442.
- Aniszewski T. 2007. *Alkaloids – Secrets of Live: Alkaloid Chemistry, Biological, Significance, Applications and Ecological Role*. Netherland: Elsevier.
- Arif T, Bhosale JD, Kumar, Naresh, Mandala TK, Bendre RS, Lavekar GS and Rajesh Dabur. Natural Products – Antifungal Agents Derived From Plants. *Journal of Asian Natural Products Research*, 2009 ; 7(7) : 621–638.
- Banerjee S, Halder B, Barman NR, Ghosh AK. 2011. An Overview on Different Variety of *Musa* Species: Importance and Its Enormous Pharmacological Action. *IJPI's Journal of Pharmacognosy and Herbal Formulations Vol 1;2*.
- Chang R. 2003. *General Chemistry: The Essential Concepts, Third Edition*. Jakarta: Erlangga.
- Depkes. 2007. *Kebijakan dan Strategi Nasional Kesehatan Reproduksi di Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes. 2008. *Infeksi Menular Seksual dan Infeksi Saluran Reproduksi pada Pelayanan Kesehatan Reproduksi Terpadu*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dzen SM, Roekistiningsih S, Santoso S, Winarsih S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang : Bayumedia Publishing.
- Eveline, Parhusip AJN, Aditya R. 2011. *Pemanfaatan Ekstrak Kulit Pisang (Musa ABB cv kepok) Sebagai Senyawa Antibakteri*. Dalam Seminar Nasional Perhimpunan Ahli Teknologi Pangan Indonesia: Peran Teknologi dalam Pengembangan Pangan Tercangkau bagi Masyarakat, 296-401. Manado: PATPI.

- Fatemeh SR, Saifullah R, Abbas FM, Azhar ME. 2012. Total Phenolics, Flavonoids and Antioxidant Activity of Banan Pulp and Peel Flours: Influence of Variety and Stage of Ripeness. *International Food Research Journal*, 19 (3); 1041-1046.
- Firmansyah A. 2013. *Uji Ekstrak Ethanol Tanaman Tapak Liman (Alephantophusscaberlinn) Terhadap pertumbuhan Candida albicans Secara In Vitro*. Tugas Akhir. Tidak diterbitkan, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang.
- Gang DR. 2011. *The Biological Activity of Phytochemicals*. Washington: Springer.
- Ginting SP, Prawiradiputra BR, Purwantari ND. 2012. *Indigofera Sebagai Pakan Ternak*. Jakarta: IAARD Press.
- Gubbins PO, Anaissie EJ. 2007. *Antifungal Therapy*. Section One: General Principles, Including Diagnosis.
- Hamad M, Kazandji N, Awadallah S, Allam H. 2013. Pevalence and Epidemiology Characteristic of Vaginal Candidiasis in The UEA. *Mycoses Volume 57, Issue 3*, p. 184-190.
- Hayati EK, Jannah, Fasya AG. 2009. *Aktifitas Anti Bakteri Komponen Tanin Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L) Sebagai Pengawet Alami*. Laporan Penelitian Kuantitatif Depag. Jakarta: Departemen Agama.
- Issa SY, Badran EF, Akl KF, Shehabi AA. 2011. Epidemiological Characteristics of Candida Species Colonizing Oral and Rectal Site of Jordanian Infant. *BMC Pediatrics*, 11;79, doi:10.1186/1471-2431-11-79.
- Iwaki T, Lefuji H, Hiraga Y, Hosomi A, Morita T, Giga-Hama Y, Takegawa K. 2008. Multiple Function of Ergosterol in The Fussion Yeast Schizosaccharomyces Pombe. *Mycrobiology*, 154: 830-841.
- Kauffman CA. 2011. *Essentials of Clinical Mycology*. USA: Springer, p.176-179.
- Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernage RM. 2005. *Medical Microbiology 10th Edition*. Stuttgart: Thieme. p. 362-364.
- Koneman E, Winn W, Allen S, Janda W. 1997. *Koneman's color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology, Sixth Edition*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Kumar KP, Bhowmik D, Duraivel S, Umadevi M. 2012. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry: Traditional and Medicinal Uses of Banana. *IC Journal Vol 1, Issue 3*; ISSN 2278-4136.

- Kumar R, Shivastava SK, Chakraborti A. 2010. Comparasion of Broth Dilution and Diffusion Method for the Antifungal Suseptibility Testing of *Aspergillus flavus*. *American Journal of Biomedical Sciences*, 2(3):202-208.
- Kumari S, Ichhpujani. 2000. *Guideline On Standard Operating Prosedures for Microbiology*. New Delhi: World Health Organization.
- Lenardon MD, Munro CA, Gow NAR. 2010. Chitin Synthesis and Fungal Pathogenesis. *Current Opinion in Microbiology*, 13 (4): 416-423.
- Man S, Gao W, Zhang Y, Huang L, Liu C. 2010. Chemical Study and Medical Application of Saponins as Anti-cancer Agent.(Abstrak).*Fitoterapia*. 81 (7): 703-14.
- Moreno E, Roubik D. *Musa Paradisiaca L.* (Online). http://biogeodb.stri.si.edu/bocas_database/search/species/1792. Diakses 16 Maret 2014.
- Mukhopadhyay k, Prasad T, Saini P, Pucadyil TJ, Chattopadhyay A, Prasad R. 2004. Membrane Sphingolipid-Ergosterol Interactions Are Importance Determinants of Multidrug Resistance in *Candida Albicans*. *Antymicrobial Agent and Chemotherapy*, p: 1778-1787.
- Naglik JR, Challacombe SJ, Hube B. 2003. *Candida Albicans* Secreted Aspartyl Proteinases in Virulence and Pathogenesis. *Microbiol. Mol. Biol*, 67 (3): 400. DOI:10.1128/MMBR.67.3.400-428.2003.
- Naidu AS. 2000. *Natural Food Antimicrobial System*. Florida: CRC Press.
- Newson LR. 2013. Management of Vulvovaginal Infections in Primary Care Part 1: Candidiasis. *British Journal Family Medication*.
- Nightingale CH, Furukawa T, Ambrose PG. 2001. *Antimicrobial Pharmacodynamics in Theory and Clinical Practice*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Okorundu SI, Akujobi CO, Nwachukwu NI. 2012. *Musa paradisiaca* Peel and Stalk Extract. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*. 6 (4): 1527-1534.
- Orhan DD, Ozcelik B, Ozgen S, Ergun F. 2010. Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activities of Some Flavonoids. *Microbiological Reseach* 165, 496-504.
- Oxoid. 2013. *Saboiraud Dextrose Agar*. (Online). <Http://www.oxoid.com>. Diakses pada 4 April 2014.
- Parija C. 2009. *Textbook of Microbiology and Immunology*. India: Elsavier.

- Pierce CG. 2012. *High Content Screening For The Identification of Novel Antifungal Agent Targeting Candida Albicans*. Disertasi. Doctor Of Philosophy in Biology. Texas: Collage of Sciences Department of Biology.
- Prannoto EN, Ma'ruf WF, Pringgenies D. 2012. Kajian Aktivitas Bioaktif Ekstrak Teripang Pasir (*Holothuriscabra*) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Perikanan* vol.1, no.2 hal.1.
- Rabiu KA, Adewunmi AA, Akinlusi FM, Akinola OI. 2010. Famale Reproductive Tract Infection Understandings and Care Seeking Behaviour Among Women of Reproductive Age in Lagos Nigeria. *BMC Women's Health*, 10:8.
- Ress D, Arrell G, Orchard J. 2012. *Crop Post: Science and Technology*. Perishables.
- Richards MJ, Edwards JR, Gaynes RP. 1999. Nosocomial Infections in medical Intensive Care Units in The United States.National Nosocomial Infections Surveillance System. (Abstract). *Crit Care Med*, 27 (5); 887-92.
- Rodriguez SM, Gutierrez PE, Villa VM, Cazares BX,.et al. 2012. A Molecular Epideniological Study od Prevalence of Candida spp. In Women in The City of Tuxtla Gutierrez, Chiapas. *International Biotechnology Color Journal*, Vol 2, Issue 2.
- Rukmana R. 2001. *Aneka Olahan Limbah: Tanaman Pisang, Jambu Mete, Rosella*. Yogyakarta: Kanisius.
- Sardi JCO, Scorzoni L, Bernardi AM, Fusco-Amelda AM, Giannini MJS. 2013. Candida Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products and New Therapeutic Option. *Journal of Medical Microbiology*, 62, 10-24. DOI 10.1099/jmm/0.045054-0.
- Sari LO. 2006. Pemanfaatan Obat Tradisional dengan Pertimbangan Manfaat dan Keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian Vol.III*, No.1; 01-07.
- Sarwono, Jonathan. 2011. *Buku Pintar IBM SPSS 19: Cara Operasi Prosedur Analisis Data dan Interpretasi*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo.
- Satyajit D, Latif Z, Gray A. 2006. *Natural Product Isolation, Ed-2*. New Jersey: Humana Press Inc.
- Seydel J, Wiese KM. 2009. *Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modelling Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. Germany: John Wiley & Sons.
- Sheh-Hong L, Sulaiman S, Ibrahim D, Kassim J. 2011. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Condensed Tannin from Rhizophoraapiculata Barks. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 3 (4): 436-444.

- Sheppard DC, Locas M, Restieri C, Laverdiere M. 2008. Utility of The Germ Tube for Direct Identification of *Candida albicans* from Positive Blood Culture Bottles. *Journal of Clinical Microbiology*, 46(10): 3508. DOI: 10.1128/JCM.01113-08.
- Siregar RS. 2004. *Penyakit Jamur Kulit Edisi 2*. Jakarta: EGC.
- Solimun, 2001. *Kaidah dan Metode Analisis Data. Modul Penataran Analisis Data Universitas Pembangunan Nasional*. UPN Surabaya Tanggal 22 Nopember 2001.
- Sudbery P, Gow N, Berman J. 2004. The Distinct Morphogenic State of *Candida Albicans*. *Trends in Microbiology*, doi:10.1016/j.
- Sudoyo AW. 2011. Obat Herbal: Dari testimony Kellmiah. *Halo Internis Edisi 18*. Hal. 3.
- Sugiarto, Siagian D. 2000. *Metode Statistika untuk Bisnis dan Ekonomi*. Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Sulistyawati D dan Mulyati S. 2009. Uji Antijamur Infusa Daun Jamur Mete (*Anacardium occidentale*, L) Terhadap *Candida albicans*. *Biomedika* 2(1).
- Sumathy V, Lachumy SJ, Zakaria Z, Sasidharan S. 2011. In Vitro Bioactivity and Phytochemical Screening of *Musa Acuminata* Flower. *Pharmacologyonline* 2, 118-127.
- Suwanmanee S, Kitisin T, Luplertlop N. 2014. In Vitro Screening of 10 Edible Tahi Plants for Potential Antifungal Properties. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine Vol 2014*, ID 138587.
- Suyoso S. 2013. *Kandidiasis Mukosa*. Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.
- Tambe. 2005. *Candida albicans*. (Online). [Http://wikipedia.org/wiki/File:Candida_albicans.jpg](http://wikipedia.org/wiki/File:Candida_albicans.jpg). Diakses pada 4 April 2014.
- Tambe. 2006. *C albicans Germ Tubes*. (Online). [Http://wikipedia.org/wiki/File:C_albicans_germ_tube.jpg](http://wikipedia.org/wiki/File:C_albicans_germ_tube.jpg). Diakses pada 4 April 2014.
- Temanel BE. 2007. *Techno-Guide for Saba Banana Production in Cagayan Valley*. Open Academi for Philippine Agriculture.
- Therese KL, Bagyalakshmi R, Madhavan HN, Deepa P. 2006. In Vitro Susecptilby Testing by Agar Dilution Method to Determine the Minimum Inhibitory Concentration of Amphotericin B, Fluconazole and Ketoconazole Againts Ocular Fungal Isolates. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 24(4):273-274.

- Tiwari BK, Irunton NP, Brennan C. 2013. *Handbook of Plant Food Phytochemical: Source, Stability and Extraction*. Oxford: John Wiley & Sons, Ltd.
- Tsuzuki JK, Svidzinski TEI, Shinobu CS, Silva LFA. 2007. Antifungal Activity of The Extracts and Saponins From *Sapindus saponaria* L. *Annals of The Brazilian Academy of Scienses*, 79 (4): 577-583.
- Tyasrini E, Triswati W, Susantina. 2006. Hubungan antara Sifat dan Metabolit *Candida spp.* Dengan Patogenesis. *JKM*, 6(1): 52-64.
- Vincken JP, Heng L, de Groot A, Gruppen H. 2007. Saponins, Classification and Occuramce in The Plant Kingdom. (Abstrak). *Phytochemistry*, 68 (3): 275-97.
- Voight R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Edisi ke-5*. Diterjemahkan oleh Soendani Noerono. Yogyakarta: Gajah Mada University Press.
- Watson RR, Preedy VR. 2008. *Botanical Medicine in Clinical Practice*. London: Cromwell Press.
- Webster, John, Weber, Roland WS. 2007. *Introduction of Fungi*. New York: Cambridge University Press.
- Whiteway M, Bachewich C. 2007. Morphogenesis in *Candida Albicans*. *Annual Review of Microbiology*, 61: 529-53.
- Winardi W. 2013. Dampak Pembatasan Impor Hortikultura Terhadap Aktifitas Perekonomian, Tingkat Harga dan Kesejahteraan. *Buletin Ekonomi Moneter dan Perbankan* (21-41).
- Winarsi H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Windarini LGE, Astuti KW, Warditiani NK. 2013. *Skrining Fitokimia Ekstrak Metanol Kulit Buah Manggis (Garciniamangostana L.)*. Tugas Akhir. Universitas Udayana Bali.
- Wu HS, Liu YD, Yang XI, Chen XQ, Wang ZH, Kong XY, et al. 2010. Grown Responses of Invitro *Fusarium oxycporum f. sp. Niveum* to External Supply of Tannic Acid. *Journal of Enviromental Biology*, 31 (6): 1017-1022.
- Yordanov M, Dimitrova P, Patkar S, Saso L, Ivanovska N. 2008. Inhibition of *Candida albicans* Extracellular Enxyme Activity by Selected Natural Substances and Their Application in *Candida* Infection. *Can J Microbiol*, 54 (6): 435-40.

LAMPIRAN

Lampiran 1 Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		J Koloni
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	1.08
	Std. Deviation	1.316
Most Extreme Differences	Absolute	.336
	Positive	.336
	Negative	-.205
Kolmogorov-Smirnov Z		1.648
Asymp. Sig. (2-tailed)		.009

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Lampiran 2 Uji Kruskal Wallis

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank
J_Koloni	0%	4	21.50
	15%	4	18.00
	17.5%	4	12.00
	20%	4	9.50
	22.5%	4	7.00
	25%	4	7.00
	Total	24	

Test Statistics^{a,b}

	J Koloni
Chi-Square	17.565
df	5
Asymp. Sig.	.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 3 Uji Mann Whitney

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	0%	4	5.50	22.00
	15%	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J Koloni
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	0%	4	6.50	26.00
	17.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	0%	4	6.50	26.00
	20%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.530
Asymp. Sig. (2-tailed)	.011
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	0%	4	6.50	26.00
	22.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	0%	4	6.50	26.00
	25%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.646
Asymp. Sig. (2-tailed)	.008
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	15%	4	5.50	22.00
	17.5%	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.183
Asymp. Sig. (2-tailed)	.237
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	15%	4	6.00	24.00
	20%	4	3.00	12.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	2.000
Wilcoxon W	12.000
Z	-1.797
Asymp. Sig. (2-tailed)	.072
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.114 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	15%	4	6.50	26.00
	22.5%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	15%	4	6.50	26.00
	25%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.494
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	17.5%	4	5.00	20.00
	20%	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-.683
Asymp. Sig. (2-tailed)	.495
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	17.5%	4	5.50	22.00
	22.5%	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	17.5%	4	5.50	22.00
	25%	4	3.50	14.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	4.000
Wilcoxon W	14.000
Z	-1.528
Asymp. Sig. (2-tailed)	.127
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.343 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	20%	4	5.00	20.00
	22.5%	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	20%	4	5.00	20.00
	25%	4	4.00	16.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	6.000
Wilcoxon W	16.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.686 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
J_Koloni	22.5%	4	4.50	18.00
	25%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	J_Koloni
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kelompok

Lampiran 4 Uji Korelasi Spearman

Correlations

			DK	J_Koloni
Spearman's rho	DK	Correlation Coefficient	1.000	-.838**
		Sig. (2-tailed)	.	.000
		N	24	24
	J_Koloni	Correlation Coefficient	-.838**	1.000
		Sig. (2-tailed)	.000	.
		N	24	24

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

