

**UJI EKSTRAK ETANOL PADA JAHE PUTIH (*Zingiber officinale* var.
amarum) SEBAGAI ANTIFUNGI TERHADAP *Candida albicans*
SECARA *IN VITRO***

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh :

Nico Savero

NIM : 165070100111028

**PROGRAM STUDI S1 PENDIDIKAN DOKTER
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2019**

DAFTAR ISI

| | |
|--------------------------------------|----------|
| Halaman Judul | i |
| Halaman Pengesahan | ii |
| Pernyataan Keaslian Tulisan | iii |
| Kata Pengantar | iv |
| Abstrak | vi |
| Abstract | vii |
| Daftar Isi | viii |
| Daftar Gambar | xii |
| Daftar Tabel | xiii |
| Daftar Singkatan | xiv |
| BAB I PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1 Latar Belakang | 1 |
| 1.2 Rumusan Masalah | 4 |
| 1.3 Tujuan Penelitian | 4 |
| 1.3.1 Tujuan Umum | 4 |
| 1.3.2 Tujuan Khusus | 5 |
| 1.4 Manfaat Penelitian | 5 |
| 1.4.1 Manfaat Akademis | 5 |
| 1.4.2 Manfaat Praktis | 5 |
| BAB II TINJAUAN PUSTAKA | 6 |
| 2.1 <i>Candida albicans</i> | 6 |



| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.1.1 Taksonomi..... | 6 |
| 2.1.2 Morfologi dan Identifikasi <i>Candida albicans</i> | 7 |
| 2.1.3 Struktur Antigen | 8 |
| 2.1.4 Patogenesis | 8 |
| 2.1.5 Faktor Predisposisi | 9 |
| 2.1.6 Manifestasi Klinis | 10 |
| 2.1.7 Resistensi..... | 11 |
| 2.2 Jahe Putih (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>amarum</i>) | 12 |
| 2.2.1 Taksonomi..... | 13 |
| 2.2.2 Morfologi Tanaman Jahe Putih (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>amarum</i>)... | 14 |
| 2.2.3 Kandungan Kimia Jahe Putih (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>amarum</i>)..... | 15 |
| 2.3 Aktivitas Antifungi..... | 17 |
| 2.4 Metode Ekstraksi | 18 |
| 2.4.1 Metode Ekstraksi Cara Dingin | 18 |
| 2.4.2 Metode Ekstraksi Cara Panas | 18 |
| 2.5 Uji Aktivitas Antimikroba | 19 |
| 2.5.1 Metode Dilusi Tabung..... | 19 |
| 2.5.2 Metode Dilusi Agar..... | 20 |
| 2.5.3 Metode Difusi Cakram | 20 |
| 2.5.4 Metode Difusi Sumuran | 21 |
| BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS | 22 |
| 3.1 Kerangka Konsep | 22 |
| 3.2 Hipotesis..... | 23 |



| | |
|-----------------------------------------------------------------------|----|
| BAB IV METODE PENELITIAN | 24 |
| 4.1 Desain Penelitian | 24 |
| 4.2 Tempat dan Waktu Penelitian..... | 24 |
| 4.3 Sampel Penelitian | 24 |
| 4.4 Pengulangan | 25 |
| 4.5 Variabel Penelitian | 25 |
| 4.5.1 Variabel Bebas..... | 25 |
| 4.5.2 Variabel Tergantung | 26 |
| 4.6 Definisi Operasional..... | 26 |
| 4.7 Alat dan Bahan..... | 28 |
| 4.7.1 Alat | 28 |
| 4.7.2 Bahan..... | 29 |
| 4.8 Prosedur Penelitian..... | 29 |
| 4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Jahe Putih..... | 29 |
| 4.8.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i> | 31 |
| 4.8.3 Pembuatan Suspensi Uji <i>Candida albicans</i> | 32 |
| 4.8.4 Uji Antifungi Ekstrak Jahe Putih | 33 |
| 4.9 Alur Kerja Penelitian | 36 |
| 4.10 Analisis Data | 37 |
| | |
| BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA | 39 |
| 5.1 Hasil Identifikasi Fungi..... | 39 |
| 5.2 Gambaran Ekstrak Etanol Jahe Putih | 40 |
| 5.3 Hasil Uji Eskplorasi | 41 |
| 5.4 Hasil Uji Sensitivitas Antifungi dengan Metode Dilusi Tabung..... | 41 |

| | |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 5.4.1 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM | 41 |
| 5.4.2 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM..... | 43 |
| 5.5 Analisis Data | 46 |
| 5.5.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Varian | 46 |
| 5.5.2 Uji <i>One-Way ANOVA</i> | 47 |
| 5.5.3 Uji <i>Post Hoc Tukey</i> | 47 |
| 5.5.4 Uji Korelasi <i>Pearson</i> | 48 |
| 5.5.5 Uji Regresi Linear | 48 |
| BAB VI PEMBAHASAN | 51 |
| 6.1 Pembahasan Hasil Penelitian..... | 51 |
| 6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran..... | 54 |
| 6.3 Keterbatasan Penelitian..... | 54 |
| BAB VII PENUTUP | 56 |
| 7.1 Kesimpulan | 56 |
| 7.2 Saran..... | 56 |
| Daftar Pustaka | 58 |
| Lampiran | 62 |

DAFTAR GAMBAR

| | | |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 | Gambar 2.1 Germ Tube <i>Candida albicans</i> Secara Mikroskopis pada Perbesaran 1000x..... | 7 |
| Gambar 2.2 | Mekanisme Penempelan dan Invasi <i>Candida albicans</i> pada Epitel Host..... | 9 |
| Gambar 2.3 | Morfologi Tanaman Jahe Putih (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>amarum</i>). . | 14 |
| Gambar 3.1 | Kerangka Konsep Penelitian | 22 |
| Gambar 4.1 | Alur Kerja Penelitian..... | 36 |
| Gambar 5.1 | Morfologi Koloni dan Sel <i>Candida albicans</i> | 39 |
| Gambar 5.2 | Gambaran Mikroskopis Hifa <i>Candida albicans</i> secara Mikroskopis pada Perbesaran Total 400x | 40 |
| Gambar 5.3 | Ekstrak Etanol Jahe Putih..... | 40 |
| Gambar 5.4 | Hasil Pengamatan Kekeruhan Isolat <i>Candida albicans</i> | 43 |
| Gambar 5.5 | Pertumbuhan Koloni <i>Candida albicans</i> pada SDA..... | 44 |
| Gambar 5.6 | Grafik Hubungan Rerata Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i> pada setiap Isolat terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Jahe Putih | 46 |
| Gambar 5.7 | Grafik Hasil Uji Regresi Linear..... | 49 |

DAFTAR TABEL

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Fungi yang Tumbuh pada SDA.....45



DAFTAR SINGKATAN

| | | |
|------|---|------------------------------------------------|
| °C | = | derajat celcius |
| µL | = | mikro liter |
| CFU | = | <i>Colony Forming Unit</i> |
| KBM | = | Kadar Bunuh Minimum |
| KB | = | Kontrol Bahan |
| KF | = | Kontrol Fungi |
| KHM | = | Kadar Hambat Minimum |
| mL | = | mili liter |
| OI | = | <i>Original Inoculum</i> |
| SDA | = | <i>Sabouraud Dextrose Agar</i> |
| SPSS | = | <i>Statistical Product of Service Solution</i> |



**HALAMAN PENGESAHAN
TUGAS AKHIR**

UJI EKSTRAK ETANOL PADA JAHE PUTIH (*Zingiber officinale* var. *amarum*) SEBAGAI ANTIFUNGI TERHADAP *Candida albicans* SECARA *IN VITRO*

Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

Nico Savero

NIM: 165070100111028

Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 17 Oktober 2019

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I



dr. Hanif, M. Biomed, Sp. An

NIP. 198312182008121002

Pembimbing I/Penguji II

Pembimbing II/Penguji III




Prof. Dr. dr. Noorhamdani A.S., DMM, Sp. MK(K) Dr. dr. Tatit Nurseta, Sp. OG(K)

NIP. 195011101980021001

NIP. 196709091997031001



Mengetahui,
Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

dr. Triwahju Astuti, M. Kes., Sp.P(K)

NIP. 196310221996012001

ABSTRAK

Savero, Nico. 2019. Uji Ekstrak Etanol Pada Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) sebagai Antifungi terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*. Tugas Akhir. Program Studi Sarjana Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani A. S., DMM, Sp. MK (K) (2) Dr. dr. Tatit Nurseta, Sp. OG (K).

Berdasarkan survei yang dilakukan oleh Depkes RI pada tahun 2017, kandidiasis merupakan infeksi oportunistik yang paling banyak dilaporkan bersamaan dengan kasus AIDS. Kandidiasis perlu diperhatikan karena perkembangan infeksi superfisial menjadi infeksi sistemik dapat menginfeksi berbagai organ dan akhirnya mengancam jiwa. *Candida albicans* diketahui merupakan penyebab tersering dari kandidiasis. Saat ini sudah ditemukan beberapa laporan yang melaporkan resistensi *Candida albicans* terhadap antibiotik golongan azol, sehingga obat herbal dapat dijadikan pilihan obat alternatif dalam pengobatan kandidiasis. Jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) memiliki kandungan gingerol dan saponin yang memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans*. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek antifungi dari ekstrak etanol jahe putih terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* melalui nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan metode dilusi tabung, dimana variabel yang diamati adalah jumlah pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yang digunakan yaitu 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5%. Dari hasil penelitian ini, kekeruhan dan kepekatan ekstrak jahe putih menyebabkan nilai KHM tidak dapat ditentukan, namun pengamatan pada media agar didapatkan penurunan jumlah koloni dan didapatkan nilai KBM pada konsentrasi 27.5%. Analisis statistika menggunakan *One-way ANOVA* menunjukkan ada perbedaan jumlah koloni yang tumbuh pada pemberian konsentrasi ekstrak berbeda ($p=0.000$) dan dari hasil uji korelasi *Pearson* didapatkan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh ($r=-0.974$, $p=0.000$). Dari hasil penelitian ini, disimpulkan bahwa ekstrak etanol jahe putih memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dengan nilai KBM pada konsentrasi 27.5%.

Kata kunci: Antifungi, *Candida albicans*, ekstrak etanol, jahe putih, kandidiasis, *Zingiber officinale* var. *amarum*

ABSTRACT

Savero, Nico. 2019. Ethanol Extract of White Ginger (*Zingiber officinale* var. *amarum*) as Antifungal against *Candida albicans*: *In Vitro* Study. Final Assignment. Medical Program, Faculty of Medicine, Universitas Brawijaya. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani A. S., DMM, Sp. MK (K) (2) Dr. dr. Tatit Nurseta, Sp. OG (K).

Based on a survey conducted by the Indonesian Ministry of Health in 2017, candidiasis is the most common opportunistic infection found along with AIDS cases. *Candida albicans* is the most common cause of candidiasis. Several reports about *Candida albicans*'s resistance to azole antibiotics had been reported, so herbal medicines are being considered as alternative medicines. White ginger (*Zingiber officinale* var. *amarum*) contains gingerol and saponin, have antifungal effects against *Candida albicans*. This study aims to determine the antifungal effect of ethanol extracts of white ginger against *Candida albicans*, *in vitro* study through the value of Minimum Inhibitory Concentration (MIC) and Minimum Fungicidal Concentration (MFC). Antifungal activity testing was carried out using tube dilution method. Observed variable was the number of *Candida albicans* colonies. Concentrations used in this study were 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, and 27.5%. From this study, the MIC value could not be determined, but MFC value was obtained at a concentration of 27.5%. Statistical analysis using *One-way ANOVA* showed that there were differences in the number of colonies growing at different concentrations ($p = 0,000$) and from *Pearson* correlation study showed that the greater the concentration given, the less number of colonies found ($r = -0,974$, $p = 0,000$). From the results of this study, it was concluded that ethanol extract of white ginger had antifungal activity against *Candida albicans*, *in vitro* study, with the MFC value at a concentration of 27.5%.

Keywords: Antifungal, *Candida albicans*, candidiasis, ethanol extract, white ginger, *Zingiber officinale* var. *amarum*

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kandidiasis merupakan infeksi oportunistik yang disebabkan oleh fungi *Candida* dan merupakan penyakit penyerta terbanyak yang dilaporkan bersamaan dengan kasus AIDS (Depkes RI, 2017). Fungi *Candida* dapat bersifat patogen apabila terjadi peningkatan jumlah koloni yang didukung oleh kerusakan kulit atau mukosa yang mempermudah invasi dari fungi ini. Kondisi tersebut dapat menyebabkan kandidiasis superfisial. Sementara kandidiasis sistemik dapat terjadi apabila fungi *Candida* memasuki aliran darah dan menimbulkan lesi okulta pada berbagai organ, terutama pada ginjal, kulit, mata, jantung, dan meningen. Kandidiasis sistemik dapat menimbulkan manifestasi klinis seperti endokarditis dan meningitis yang dapat mengancam jiwa (*life-threatening*) (Brooks *et al.*, 2013).

Kandidiasis oral banyak dijumpai pada pasien dengan penurunan sistem pertahanan tubuh. Berdasarkan penelitian yang dilakukan di RSUD dr. Soetomo pada tahun 2017, 71.43% dari pasien dengan HIV/AIDS mengalami kandidiasis oral (Nugraha *et al.*, 2017). Sementara berdasarkan penelitian yang dilakukan di RS di Manado, 3.4% - 41.4% wanita mengalami kandidiasis vulvovaginal. Di mana prevalensi terbanyak pada wanita dengan kelompok usia 15 – 44 tahun (Tasik *et al.*, 2016). Pada kasus kandidiasis sistemik atau invasif, 91 dari 738 pasien menderita kandidiasis invasif dengan angka mortalitas 64.8%. Dari berbagai spesies fungi *Candida* yang ada, *Candida albicans* diketahui sebagai penyebab tersering dari kasus kandidiasis (Kalista *et al.*, 2017).

Berbagai obat antifungi telah digunakan untuk pengobatan kandidiasis akibat *Candida albicans*, seperti flukonazol. Namun flukonazol telah digunakan secara luas dan dalam jangka waktu yang lama, hal ini menyebabkan meningkatnya jumlah *Candida albicans* yang resisten terhadap obat-obat tersebut (Reza *et al.*, 2017). Resistensi dapat terjadi karena terjadinya mutasi genetik yang menyebabkan munculnya pompa *efflux* obat, perubahan target obat, dan pengurangan akses obat pada fungi (Murray *et al.*, 2013).

Jahe sering digunakan sebagai obat sejak periode Vedic dan disebut “*mahaaushadhi*” yang berarti obat yang hebat (*the great medicine*) (Murugesan dan Sivapathasundharam, 2016). Dengan metode tradisional, jahe telah banyak digunakan oleh berbagai bangsa seperti Cina, Afrika, India, dan Amerika sebagai obat dalam mengatasi masalah-masalah kesehatan seperti batuk, mual, diare, nyeri, inflamasi, dan tekanan darah tinggi (Medappa, 2003). Penggunaan jahe sendiri sebagai obat telah diakui aman dalam dokumen ‘*Generally Recognised as Safe*’ (GRAS) milik badan administrasi makanan dan obat Amerika Serikat (Supreetha *et al.*, 2011). Karena luasnya manfaat yang didapatkan dari jahe, hal ini mendukung peneliti-peneliti sebelumnya untuk meneliti lebih luas mengenai manfaat yang didapatkan dari jahe.

Salah satu manfaat yang telah ditemukan adalah kemampuan jahe dalam menjadi antimikroba, seperti penelitian yang dilakukan oleh Medappa pada tahun 2003, yang menemukan bahwa jahe dapat menghambat pertumbuhan dari *Escherichia coli*, *Proteus sp*, dan *Aspergillus niger*. Penelitian lain juga dilakukan oleh Aghazadeh dan rekannya pada tahun 2016 mengenai efek antimikroba yang dimiliki oleh jahe, dan menemukan bahwa jahe memiliki sifat antibakteri

terhadap *Pseudomonas aeruginosa* dan *Staphylococcus aureus*, serta memiliki sifat antijamur terhadap *Candida krusei*, *Candida albicans*, dan *Aspergillus*.

Penggunaan jahe sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* telah dilakukan sebelumnya, seperti penelitian yang dilakukan Santoso pada tahun 2014, dengan membandingkan aktivitas antifungi *Chlorhexidine gluconate* 0,2% dengan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) 30%, didapatkan hasil bahwa ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) 30% memiliki aktivitas antifungi yang cukup tinggi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Namun aktivitas antifungi yang didapatkan masih dapat dioptimalkan. Pada penelitian tersebut digunakan pelarut etanol dengan konsentrasi 70%, dimana penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi 96% dapat menghasilkan ekstrak dengan kadar fenol yang lebih besar (Suryani, 2012). Etanol dipilih sebagai pelarut karena dapat menghasilkan konsentrasi rendemen yang lebih tinggi dibandingkan dengan penggunaan pelarut air, methanol, aseton, dan isopropanol (Wahyuningtyas *et al.*, 2017; Wong, 2018).

Selain itu, penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya menggunakan metode uji antimikroba difusi cakram/sumuran, dimana dari metode tersebut tidak dapat menemukan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM). Salah satu contohnya adalah penelitian yang dilakukan oleh Supreetha pada tahun 2011, yang meneliti aktivitas antifungi pada ekstrak jahe terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram. Mengingat bahwa penderita kandidiasis banyak terjadi pada pasien dengan kondisi *immunocompromise*, maka penentuan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) melalui metode dilusi tabung sebagai uji anti mikroba masih dibutuhkan.

Penggunaan jahe sebagai obat topikal sudah pernah diteliti sebelumnya. Seperti penelitian yang dilakukan oleh Khalili pada tahun 2017 yang meneliti efek dari clotrimazole yang mengandung jahe sebagai obat kandidiasis vaginal dibandingkan dengan penggunaan clotrimazole tanpa jahe. Dari penelitian tersebut didapatkan hasil bahwa clotrimazole yang mengandung jahe dapat menurunkan rasa gatal, terbakar, maupun secret yang keluar pada 67 pasien wanita yang berpartisipasi dibandingkan dengan penggunaan obat clotrimazole saja.

Untuk melihat lebih lanjut dan mengoptimalkan potensi ekstrak etanol pada jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans*, maka perlu dilakukan uji efek antifungi ekstrak etanol jahe putih terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah pemberian ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) memberikan efek antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

- a. Mengetahui efek antifungi dari pemberian ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

- a. Mengetahui kadar hambat minimal (KHM) ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.
- b. Mengetahui kadar bunuh minimal (KBM) ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

- a. Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang kemampuan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.
- b. Memberikan informasi tentang penggunaan senyawa ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya terhadap penyakit lainnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

- a. Memberikan terapi tambahan antifungi untuk pengobatan pasien dengan kandidiasis.
- b. Meningkatkan pemanfaatan jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) sebagai antifungi.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

Candida albicans adalah salah satu fungi *dimorphic* yang merupakan normal flora pada kulit, membrane mukosa, dan saluran gastrointestinal manusia. Pada kondisi normal, *Candida albicans* bersifat komensalis, namun pada kondisi sistem imun yang buruk, *Candida albicans* dapat bersifat patogen dan menyebabkan infeksi lokal dan sistemik. *Candida albicans* dapat menyebabkan infeksi lokal pada mukosa seperti vulvovaginitis dan kandidiasis oral, sementara pada kulit banyak menyebabkan infeksi pada bagian lipatan tubuh yang lembab dan hangat seperti aksila, pangkal paha, intergluteal, lipatan inframammaria, dan kuku. *Candida albicans* dapat menyebabkan infeksi sistemik apabila masuk ke aliran darah dan dapat menyerang berbagai organ terutama ginjal, mata, jantung, dan meningen. Infeksi sistemik akibat *Candida albicans* banyak disebabkan dengan penggunaan jangka panjang obat kortikosteroid atau immunosupresan pada pasien dengan penyakit darah seperti leukemia, limfoma, dan anemia aplastik (Brooks *et al.*, 2013).

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi *Candida albicans* menurut NCBI tahun 2018 adalah sebagai berikut:

Kingdom : *Fungi*
Phylum : *Ascomycota*
Subphylum : *Saccharomycotina*

Class : *Saccharomycetes*
 Order : *Saccharomycetales*
 Family : *Saccharomycetaceae*
 Genus : *Candida*
 Spesies : *Candida albicans*

2.1.2 Morfologi dan Identifikasi *Candida albicans*

Secara mikroskopis, spesies *Candida* memiliki bentuk *budding yeast cell* oval dengan tunas yang gagal melepaskan diri yang disebut pseudohifa. Yang membedakan spesies *Candida albicans* dari spesies *Candida* yang lainnya adalah *Candida albicans* bersifat *dimorphic*. Apabila *Candida albicans* pada serum diinkubasi selama 90 menit dengan suhu 37° Celcius, sel yeast *Candida albicans* akan mulai membentuk hifa sejati (*germ tube*) (Gambar 2.1). Sedangkan secara makroskopis, koloni *Candida albicans* pada media agar akan nampak lembut, berwarna krem, dengan bau seperti ragi. Pseudohifa pada agar akan terlihat sebagai pertumbuhan koloni di bawah permukaan media agar (Brooks *et al.*, 2013). *Candida albicans* dapat tumbuh dengan baik pada medium *Saboraud Dextrose Agar (SDA)* atau *Blood agar* pada suhu 25-37° C (Greenwood *et al.*, 2012)



Gambar 2.1 Germ Tube *Candida albicans* secara Mikroskopis pada Perbesaran 1000x (Brooks *et al.*, 2013).

Keterangan: Nampak gambaran hifa yang memanjang yang disebut *germ tube*.

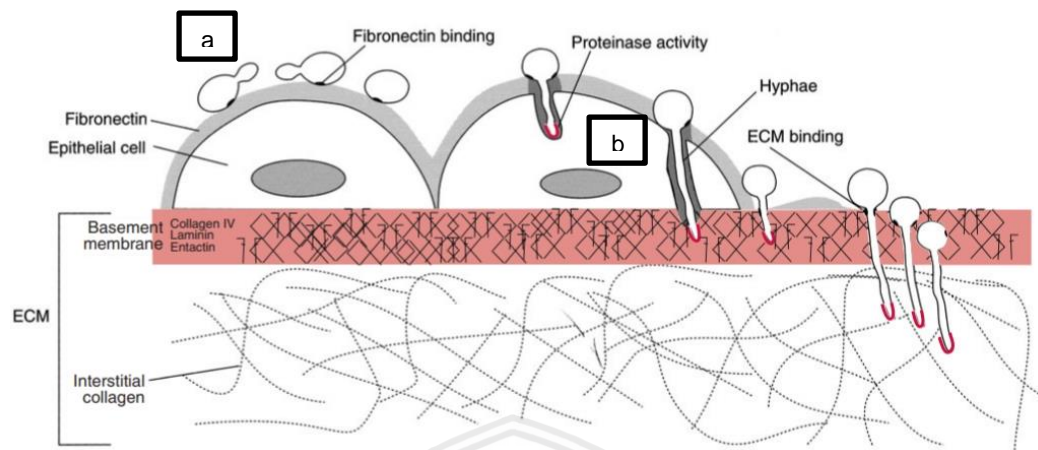
2.1.3 Struktur Antigen

Selama proses infeksi, komponen dinding sel *Candida albicans* seperti mannan, glukukan, polisakarida dan glikoprotein yang lain, serta berbagai enzim dilepaskan. Berbagai makromolekul yang dilepaskan tersebut akan merangsang timbulnya respon *innate* juga reaksi imun oleh sel Th1 dan Th2 sebagai mekanisme defensif dari hospes (Brooks *et al.*, 2013). Pada penelitian yang dilakukan pada hewan coba, komponen mannan pada dinding sel *Candida albicans* juga berperan dalam fungsi imunoregulator melalui penurunan regulasi dari respon imun yang diperantarai oleh sel (Ryan et Ray, 2004).

2.1.4 Patogenesis

Infeksi oleh *Candida albicans* dapat terjadi apabila terjadi peningkatan dari jumlah koloni *Candida albicans* di kulit atau mukosa serta adanya kerusakan pada kulit atau mukosa yang mendukung invasi dari *Candida albicans*. Perlekatan *Candida albicans* dengan epitel hospes diperkuat dengan adanya protein dinding hifa (Hwp1) yang terletak pada permukaan dari hifa maupun pseudohifa. Hifa *Candida albicans* juga memproduksi proteinase dan fosfolipase yang dapat memecah sel epitel dan memberikan jalan masuk *Candida albicans* ke dalam tubuh (Gambar 2.2) (Ryan et Ray, 2004).

Sistemik kandidiasis dapat terjadi apabila *Candida albicans* masuk dalam aliran darah dan mekanisme fagositosis dari hospes tidak adekuat untuk mencegah pertumbuhan dan penyebaran dari *Candida albicans*. Dari sirkulasi darah, *Candida albicans* dapat menginfeksi ginjal, menempel pada katup jantung prostetik, dan dapat menyebabkan infeksi dimana saja, seperti arthritis, meningitis, dan endophthalmitis (Brooks *et al.*, 2013).



Gambar 2.2 Mekanisme Penempelan dan Invasi *Candida albicans* pada Epitel Hospes (Ryan et Ray, 2004).

Keterangan: Mekanisme penempelan *Candida albicans* pada sel hospes diawali dengan penempelan fibronectin (a) yang melapisi sel epitel hospes atau bagian dari matriks ekstraseluler hospes bila lapisan epitel hospes sudah hilang dengan reseptor glucomannan pada permukaan yeast *Candida albicans*. Mekanisme invasi berhubungan erat dengan proses pembentukan hifa dan pembentukan proteinase (b) yang dapat merusak jaringan.

2.1.5 Faktor Predisposisi

Faktor predisposisi terjadinya kandidiasis dibagi menjadi faktor umum dan faktor lokal (Greenwood *et al.*, 2012):

a. Faktor Umum

1. Faktor yang membuat kondisi tubuh lemah
 - a. Diabetes Mellitus
 - b. HIV/AIDS
 - c. Resipien transplan *stem cell*
 - d. Terapi kortikosteroid jangka panjang
2. Kegemukan
3. Terapi antibiotik jangka panjang yang dapat merusak keseimbangan normal flora
4. Usia tua

b. Faktor Lokal

1. Xerostomia
2. Kehamilan
3. Kebersihan kulit yang buruk
4. Kulit atau mukosa yang luka/tidak intact

2.1.6 Manifestasi Klinis

Manifestasi klinis dari candida dapat dibedakan menjadi kandidiasis kulit dan mukosa, kandididasis sistemik, dan kandidiasis mukokutan kronis dengan penjelasan sebagai berikut (Brooks *et al.*, 2013).

a. Kandidiasis Kulit dan Mukosa

1. Pada lidah, gusi, palatum, dan bibir.
 - a. Infeksi dapat berupa plak pseudomembran yang berwarna keputihan yang terdiri dari sel epitel, yeast, dan pseudohifa.
 - b. Plak paling sering muncul pada pasien dengan HIV/AIDS.
2. Pada vagina
 - a. Menyebabkan vulvovaginitis.
 - b. Terasa adanya iritasi, gatal dan keluar cairan.
 - c. Banyak terdapat pada pasien diabetes, hamil, atau yang mengonsumsi obat antibakteri yang mempengaruhi flora normal, pH lokal, dan sekresi.
3. Pada kulit
 - a. Banyak pada bagian tubuh yang lembab dan hangat seperti ketiak, sela-sela jari, selangkangan, intergluteal, atau lipatan inframammaria.

b. Area yang terinfeksi akan nampak merah, lembab, dan dapat terbentuk vesikel.

4. Pada kuku

a. Akan muncul rasa nyeri, bengkak, dan kemerahan pada bagian lipatan kuku (*nail fold*) yang terinfeksi. Infeksi akan terus bertambah parah sampai kemudian dapat menyebabkan kerusakan kuku yang terinfeksi.

b. Kandidiasis Sistemik

1. Sering disebabkan karena penggunaan kateter jangka panjang, operasi, penyalahgunaan obat dengan menggunakan jarum suntik, aspirasi, luka pada kulit dan jalur pencernaan.
2. Dapat menyebabkan lesi okulta pada ginjal, kulit (lesi makulonodular), mata, jantung, dan meningen.

c. Kandidiasis Mukokutan Kronik

1. Onset banyak pada awal masa kanak-kanak.
2. Disebabkan karena imunodefisiensi dan endokrinopati.
3. Infeksi dapat terjadi pada beberapa atau semua area kulit dan mukosa.
4. Pasien dengan kandidiasis mukokutan kronik menunjukkan tidak adanya respon Th17 yang efektif.

2.1.7 Resistensi

Resistensi adalah kemampuan suatu mikroba untuk menghentikan atau mengubah efek dari obat antimikroba sebagai bentuk pertahanan diri. Berbeda dengan mekanisme resistensi pada bakteri, fungi tidak memiliki kemampuan untuk menghancurkan atau memodifikasi obat antifungal untuk mendapatkan resistensi.

Gen resistensi pada fungi juga tidak dapat ditransmisikan dari sel ke sel seperti penyebaran sifat resisten pada bakteri. Namun mekanisme seperti pompa *efflux* obat, perubahan target obat, dan pengurangan akses obat pada target juga merupakan mekanisme resistensi yang penting pada fungi, sama halnya dengan bakteri. Perbedaan lainnya adalah resistensi pada bakteri biasanya bersifat cepat, sementara resistensi pada fungi biasanya terjadi secara lambat dan berkala sebagai hasil dari pemaparan obat antifungal sebelumnya (Murray *et al.*, 2013).

Mekanisme resistensi *Candida albicans* telah diketahui sebagai berikut:

1. Pengurangan ergosterol
2. Penggantian dari *polyene-binding sterols*
3. Penyembunyian dari ergosterol
4. Hilangnya aktivitas permease
5. Hilangnya aktivitas deaminase sitosin
6. Hilangnya aktivitas urasil fosforibosil transferase
7. Ekspresi berlebih atau mutase dari 14-alfa-demetilase
8. Ekspresi berlebih dari pompa *efflux* dan ges MDR
9. Mutasi dari gen *fkS1*

(Murray *et al.*, 2013)

2.2 Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*)

Jahe merupakan tanaman yang satu keluarga dengan kapulaga dan kunyit. Jahe biasa digunakan dalam berbagai makanan karena memberikan rasa pedas. Rasa pedas yang dimiliki oleh jahe merupakan hasil dari kandungan keton dalam jahe, terutama gingerol. Selain sebagai bumbu makanan, orang India dan orang Cina telah menggunakan jahe sebagai obat untuk menyembuhkan berbagai

macam penyakit selama lebih dari 5000 tahun. Kemudian melalui perdagangan, jahe kemudian diperdagangkan ke Asia Tenggara. Sehubungan dengan habitat jahe yang dapat tumbuh di daerah tropis, jahe memiliki nilai ekonomi yang cukup baik karena negara sub tropis seperti Eropa harus mengimpor jahe dari negara produsen jahe di Asia, Amerika Selatan, dan Afrika. Di Indonesia sendiri saat ini, jahe merupakan tanaman yang persebarannya sudah merata. Hal ini ditandai dengan adanya penyebutan jahe yang berbeda di berbagai daerah, seperti jae (Jawa dan Bali), halia (Aceh), beeuing (Gayo), bahing (Batak Karo), sipodeh (Minangkabau), jahi (Lampung), melito (Gorontalo), dan geraka (Ternate) (Bode et Dong, 2011; Harmono *et al.*, 2005).

2.2.1 Taksonomi

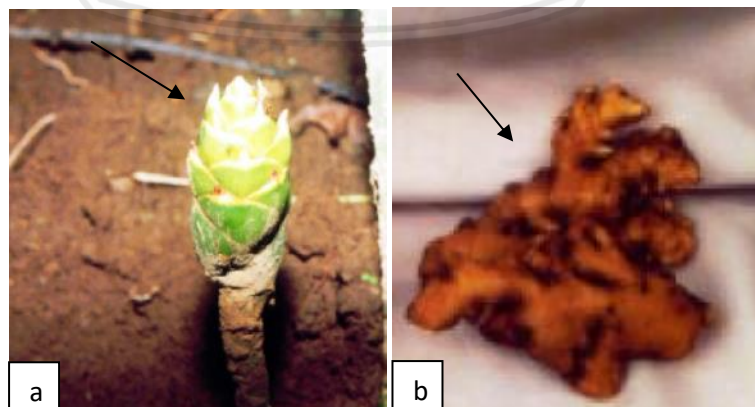
Taksonomi dari jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) adalah sebagai berikut (Harmono *et al.*, 2005):

| | |
|------------|------------------------------|
| Kingdom | : <i>Plantae</i> |
| Divisi | : <i>Spermatophyta</i> |
| Sub divisi | : <i>Angiospermae</i> |
| Kelas | : <i>Monocotyledoneae</i> |
| Ordo | : <i>Zingiberales</i> |
| Famili | : <i>Zingiberaceae</i> |
| Genus | : <i>Zingiber</i> |
| Spesies | : <i>Zingiber officinale</i> |
| Varian | : <i>amarum</i> |

2.2.2 Morfologi Tanaman Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*)

Tanaman Jahe memiliki batang semu dengan tinggi 30-100 cm. Akar jahe merupakan akar rimpang yang apabila dipotong akan memberikan warna kuning atau jingga. Tangkai daun jahe memiliki bulu dan daunnya berukuran cukup kecil, yaitu dengan panjang 15-23 mm dengan lebar 8-15 mm. Bunga jahe merupakan malai yang berada di permukaan tanah, berbentuk seperti telur dengan panjang 3,5-5 cm dan lebar 1,5-7,1 cm. Mahkota bunga jahe agak sempit, berbentuk tajam, dan berwarna kuning kehijauan, serta memiliki aroma yang sangat tajam. Bunga jahe dilindungi oleh daun pelindung yang berbentuk bulat telur terbalik, tidak berbulu, dan berwarna hijau cerah (Gambar 2.3) (Harmono *et al.*, 2005).

Jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) atau yang biasa disebut jahe sunti atau jahe emprit memiliki morfologi beruas kecil, agak rata sampai agak menggebung. Daging jahe putih berwarna putih dan kandungan minyak atsirinya lebih besar dibandingkan dengan jahe kuning atau jahe gajah. Kandungan minyak atsiri yang banyak pada jahe putih membuat rasanya lebih pedas dan memiliki serat yang lebih tinggi dibandingkan dengan jahe yang lain. Jahe putih baru bisa dipanen setelah berumur tua (Harmono *et al.*, 2005).



Gambar 2.3 Morfologi Tanaman Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) (a) Bunga (b) Rimpang (Harmono *et al.*, 2005).

Keterangan: Bunga jahe putih berupa malai yang berbentuk bulat telur yang sempit dimana rimpangnya beruas kecil mulai dari agak rata sampai agak menggebung.

2.2.3 Kandungan Kimia Jahe Putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*)

Komponen bioaktif utama dari rimpang jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) adalah gingerol, shogaol, dan saponin. Gingerol merupakan unsur fenol utama yang terdapat pada jahe yang masih segar, dimana shogaol merupakan unsur utama pada jahe yang telah dikeringkan. Proporsi dari kandungan kimia pada jahe putih berbeda-beda, tergantung pada negara asal, prosesor komersial, dan kondisi jahe yang segar, dikeringkan, maupun yang telah diproses (Bode et Dong, 2011).

a. Gingerol

Gingerol merupakan komponen fenol pada jahe yang memberikan karakteristik panas, tajam, dan sensasi menyengat ketika dikonsumsi (Fathona, 2011). Gingerol memiliki warna kuning pucat, dan banyak terdapat pada jahe segar. Gingerol memiliki rumus molekul $C_{17}H_{26}O_4$, dan merupakan senyawa yang labil terhadap panas dan tidak larut dalam air. Gingerol memiliki titik didih 30-32°C, dan apabila gingerol mengalami kenaikan suhu diatas 60° C baik selama penyimpanan dan pemrosesan, gingerol akan terdekomposisi menjadi shogaol (Hargono *et al.*, 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, gingerol, yang merupakan senyawa fenol yang didapat dari ekstrak etanol dari jahe (*Zingiber officinale*), dapat mencegah konversi lanosterol menjadi ergosterol melalui penghambatan pada sitokrom P450 di retikulum endoplasma (Rodrigues, 2018). Hal ini mengakibatkan gangguan pada integritas membran sel *Candida albicans* sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Vikrant *et al.*, 2015).

b. Shogaol

Shogaol merupakan hasil pemecahan gingerol akibat pemanasan, sehingga shogaol banyak didapatkan pada jahe yang sudah kering. Shogaol memiliki rasa panas, tajam, dan sensasi menyengat yang lebih lemah dibandingkan dengan gingerol. Shogaol memiliki rumus senyawa $C_{17}H_{24}O_3$ dan juga merupakan senyawa turunan fenol. Shogaol diketahui dapat menghambat biosintesis prostaglandin dan leukotriene dengan menghambat kerja enzim prostaglandin sintase atau 5- lipoksigenase (Fathona, 2011).

c. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida yang banyak terdapat pada berbagai macam tumbuhan. Satu molekul saponin terdiri dari sebuah aglikon, atau yang biasa disebut dengan sapogenin, dan satu atau dua rantai glukosa. Berdasarkan struktur aglikonnya, saponin dapat diklasifikasikan menjadi dua tipe, yaitu triterpenoid dan steroid (Liu *et al.*, 2004). Adanya bagian gula yang hidrofilik dan genin hidrofobik pada molekul saponin, saponin memiliki sifat ampifilik. Dengan sifat ampifiliknya, saponin dapat membentuk busa dan menghemolisis eritrosit dengan membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol pada membrane sel yang berakibat pada pembentukan pori dan meningkatkan permeabilitas sel (Podolak *et al.*, 2010).

Selain dapat melisis eritrosit, ternyata saponin diketahui memiliki banyak aktivitas farmakologikal seperti ekspektoran, anti inflamasi, vasoprotektif, hipokolesterolemik, imunomodulator, antifungi, anti parasit, dan masih banyak lagi (Podolak *et al.*, 2010). Sebagai antifungi, saponin dapat bereaksi dengan ergosterol pada membran sel fungi. Reaksi ini kemudian akan mengakibatkan munculnya pori pada membrane, meningkatkan permeabilitas membran, dan

akhirnya berakibat pada rusaknya integritas dari membran sel fungi tersebut (Mert, 2005).

2.3 Aktivitas Antifungi

Mekanisme kerja antifungi yang telah diketahui adalah sebagai berikut (Brooks *et al.*, 2013)

1. Mengikat ergosterol pada membran sel fungi

Interaksi antara obat antifungal jenis ini dengan ergosterol mengubah kestabilan membran. Ketidakstabilan yang terjadi akan mengakibatkan hilangnya keseimbangan dari ion-ion yang ada pada membrane dan kemudian dapat membunuh target fungi. Contoh obat dengan mekanisme kerja seperti di atas adalah amfoterisin B.

2. Mengganggu sintesis pirimidin dan DNA

Antifungal jenis ini akan membentuk 5-fluorouracil ketika bertemu dengan enzim sitosin deaminase yang dimiliki oleh fungi. 5-fluorouracil ini kemudian akan bergabung menjadi asam monofosfat 5-fluorodexoyuridylic dan mengganggu aktivitas dari thymidylate sintase dan mengganggu sintesis DNA. Contoh obat dengan mekanisme kerja seperti di atas adalah flusitosin.

3. Menghambat sintesis ergosterol

Lanosterol merupakan bahan dasar pembuatan ergosterol. Obat antifungal jenis ini akan mengeblok sitokrom *P450-dependent 14alfa-dimethylation* yang dimiliki oleh lanosterol, sehingga pembentukan ergosterol akan terganggu. Contoh obat dengan mekanisme kerja seperti di atas adalah ketokonazol, itrakonazol, flukonazol, *voriconazole*, dan *posaconazole*.

4. Menghambat sintesis dinding sel

Antifungal jenis ini akan mengganggu sintesis dari dinding sel fungi melalui penghambatan dari sintesis 1,3-beta-D-glukan sintase. Contoh obat dengan mekanisme kerja seperti di atas adalah *caspofungin*, *micafungin*, *anidulafungin*.

2.4 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi dengan pelarut dibedakan menjadi 2, yaitu dengan cara dingin dan cara panas. Cara dingin meliputi metode maserasi dan perkolasi, sementara cara panas meliputi soxhlet, reflux, dan distilasi uap (Mukhriani, 2014).

2.4.1 Metode Ekstraksi Cara Dingin

a. Maserasi

Metode maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Metode ini dapat dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar, yang kemudian diaduk atau dikocok beberapa kali sampai didapatkan keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi senyawa dalam sel tanaman (Mukhriani, 2014).

b. Perkolasi

Metode perkolasi merupakan metode ekstraksi dengan menggunakan perkolator. Pada metode ini, serbuk sampel dibasahi perlahan dengan menggunakan aliran dari pelarut baru (Mukhriani, 2014).

2.4.2 Metode Ekstraksi Cara Panas

a. Soxhlet

Metode Soxhlet dapat dilakukan dengan meletakkan serbuk sampel dalam sarung selulosa dalam klonsong dan ditempatkan diatas labu yang berisi pelarut dan dibawah kondensor yang kemudian dipanaskan sehingga terjadi proses ekstraksi yang kontinyu (Mukhriani, 2014).

b. Reflux

Pada metode reflux, sampel serbuk dan pelarut dimasukkan ke dalam labu yang dihubungkan dengan kondensor. Kemudian dilakukan pemanasan hingga mencapai titik didih pelarut (Mukhriani, 2014).

c. Destilasi Uap

Destilasi uap memiliki mekanisme yang sama dengan reflux namun selama pemanasan, uap terkondensasi dan destilat ditampung dalam wadah (Mukhriani, 2014).

2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

Untuk mengukur kerentanan suatu mikroba terhadap obat antimikroba, perlu dilakukan uji aktivitas antimikroba. Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu dengan metode dilusi dan difusi (Brooks *et al.*, 2013).

2.5.1 Metode Dilusi Tabung

Pada metode dilusi tabung, zat antimikroba dengan berbagai jumlah (secara gradasi) digabungkan dengan media cair (air kaldu). Kemudian mikroba yang akan digunakan diinokulasikan pada media yang telah bercampur dengan zat antimikroba dan kemudian diamati perkembangan dari mikroba setelah beberapa hari. Pada akhir pengamatan, tingkat kekeruhan campuran air kaldu menunjukkan konsentrasi mikroba yang terdapat pada air kaldu, sehingga dapat

didapatkan jumlah minimum zat antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba, yang disebut dengan Kadar Hambat Minimum (KHM). Kemudian dari tabung dengan penampakan yang jernih, diambil 1 ose campuran dan diinokulasikan pada media padat. Kemudian mikroba di media padat diinkubasikan selama 18-24 jam dan dihitung jumlah koloni yang ada. Konsentrasi dimana tidak terdapat koloni mikroba merupakan jumlah minimum zat antimikroba yang dibutuhkan untuk membunuh mikroba, yang disebut dengan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Noorhamdani *et al.*, 2017).

2.5.2 Metode Dilusi Agar

Pada metode dilusi agar, zat antimikroba dengan berbagai jumlah (secara gradasi) digabungkan dengan media padat dan diaduk agar terdilusi secara merata dalam media. Kemudian mikroba yang akan digunakan ditetaskan pada media yang telah bercampur dengan zat antimikroba dan kemudian diamati perkembangan dari mikroba setelah beberapa hari. Dari metode ini, dapat didapatkan KHM melalui konsentrasi minimal yang tidak terdapat pertumbuhan koloni mikroba pada media (Noorhamdani *et al.*, 2017).

2.5.3 Metode Difusi Cakram

Pada metode difusi cakram, cakram kertas saring yang berisikan zat antimikroba yang telah diukur sebelumnya, diletakkan pada permukaan sebuah media solid yang telah diinokulasikan mikroba yang akan dites. Setelah diinkubasi, hasil tes berupa pengukuran diameter zona bersih di sekitar cakram. Semakin luas zona bersih di sekitar cakram, maka semakin kuat pula kekuatan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Metode ini cocok digunakan untuk

melihat resistensi dan sensitivitas mikroba terhadap berbagai macam antimikroba. (Noorhamdani *et al.*, 2017).

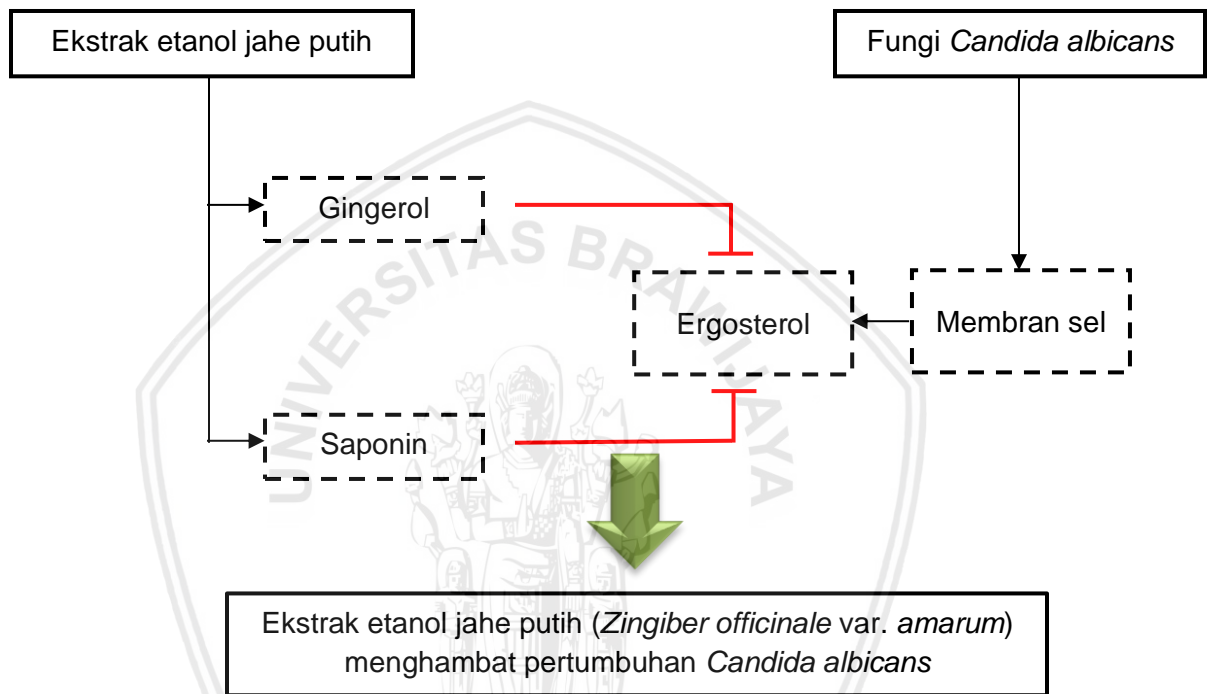
2.5.4 Metode Difusi Sumuran

Prinsip dasar pada metode ini mirip dengan metode difusi cakram, hanya saja penggunaan cakram digantikan dengan membuat sumuran pada media padat yang kemudian diisi dengan antimikroba dengan berbagai konsentrasi. Setelah diinkubasi, hasil akhir akan didapatkan zona bersih di sekitar sumuran yang dibuat, dimana semakin luas zona bersih di sekitar sumuran yang dibuat, maka semakin kuat pula kekuatan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Metode ini cocok digunakan untuk melihat keefektifan satu zat antimikroba dengan berbagai konsentrasi. (Noorhamdani *et al.*, 2017).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

- Keterangan:
- : komponen
 - | : menghambat
 - ▭ : variabel yang diamati
 - - - - - : variabel yang tidak diamati

3.2 Penjelasan Kerangka Konsep

Ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) didapatkan melalui metode maserasi dengan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang didapat mengandung senyawa gingerol dan saponin, dimana keduanya memiliki aktivitas antifungi melalui pengerusakan membran sel *Candida albicans*. Gingerol akan mencegah konversi lanosterol menjadi ergosterol melalui penghambatan sitokrom P450 pada *Candida albicans*, meningkatkan permeabilitas pada membran sel, dan berakhir merusak integritas membran sel *Candida albicans*. Saponin akan bereaksi dengan ergosterol pada membran sel *Candida albicans*, memunculkan pori pada membrane, meningkatkan permeabilitas membran sel dan pada akhirnya juga merusak integritas dari membran sel *Candida albicans*. Ekstrak yang didapat kemudian akan dibagi menjadi beberapa dosis dan dicobakan pada *Candida albicans* biakan agar kemudian dapat diketahui efektivitas antifungi dari ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) dalam menghambat atau membunuh *Candida albicans*.

3.3 Hipotesis

Hipotesis penelitian ini adalah pemberian ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini dilakukan merupakan penelitian eksperimental laboratorium secara *in vitro*. Penelitian ini bertujuan untuk menguji dan mengoptimalkan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans*. Efek antifungi pada penelitian ini diukur menggunakan metode dilusi tabung yang terdiri dari 2 tahap. Tahap pertama dilakukan pada media cair untuk mendapatkan Kadar Hambat Minimum (KHM), dilanjutkan dengan penggoresan pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) untuk mendapatkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Candida albicans*.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan Mei 2019.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah *Candida albicans* yang diambil dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang berasal dari isolat pasien Rumah Sakit Saiful Anwar Malang.

4.4 Pengulangan

Pengulangan yang diperlukan pada penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut, (Solimun, 2001):

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

Keterangan :

p = jumlah perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Dalam penelitian ini, digunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol jahe putih, satu kontrol bahan dan satu kontrol fungsi ($p = 5+2 = 7$) maka didapatkan jumlah pengulangan sebagai berikut:

$$7 (n - 1) \geq 15$$

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,143 \approx 4$$

Sehingga didapatkan jumlah pengulangan yang perlu dilakukan pada penelitian ini adalah 4 kali.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas (*Independent variable*)

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) dengan konsentrasi tertentu yang ditentukan berdasarkan hasil uji eksplorasi pada penelitian pendahuluan.

4.5.2 Variabel Tergantung (*Dependent variable*)

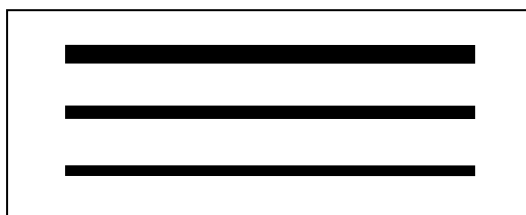
Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan *Candida albicans* yang dinilai dengan melihat kekeruhan media cair pada tabung untuk menentukan KHM dan jumlah koloni *Candida albicans* pada media agar *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) untuk menentukan KBM.

4.6 Definisi Operasional

- a. Rimpang jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari UPT Materia Medica.
- b. Ekstrak jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) adalah kadar atau konsentrasi rimpang jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) yang dilakukan dengan metode maserasi dengan menggunakan etanol 96%.
- c. Uji efektivitas adalah uji untuk menentukan efektif tidaknya ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* melalui hasil KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum).
- d. KHM (Kadar Hambat Minimum) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) yang mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.
- e. KBM (Kadar Bunuh Minimum) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) yang mampu membunuh fungi, ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni fungi, atau jumlah koloni fungi $< 0.1\%$ OI pada

medium SDA yang telah dilakukan streaking dengan satu ose larutan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*).

- f. *Original inoculum* adalah inokulasi fungi dengan konsentrasi 10^4 CFU/mL yang diinokulasikan pada media agar padat dan digunakan untuk mencari kategori KBM.
- g. Kontrol fungi (tabung dengan fungi tanpa larutan ekstrak etanol jahe putih) adalah tabung dengan konsentrasi 0% yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah fungi yang digunakan terkontaminasi dengan bakteri atau mikroba lain.
- h. Kontrol bahan adalah larutan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) untuk mengetahui apakah bahan yang digunakan steril atau tidak.
- i. Pengamatan kualitatif digunakan untuk menentukan skor pertumbuhan *Candida albicans* berdasarkan bayangan tiga garis hitam yang tampak di balik tabung dengan kriteria skoring sebagai berikut:
 - 0 : jernih (ketiga garis nampak jelas)
 - 1 : agak keruh (garis pertama dan kedua tampak, garis ketiga tidak tampak)
 - 2 : keruh (garis pertama tampak, garis kedua dan ketiga tidak tampak)
 - 3 : sangat keruh (ketiga garis tidak tampak)



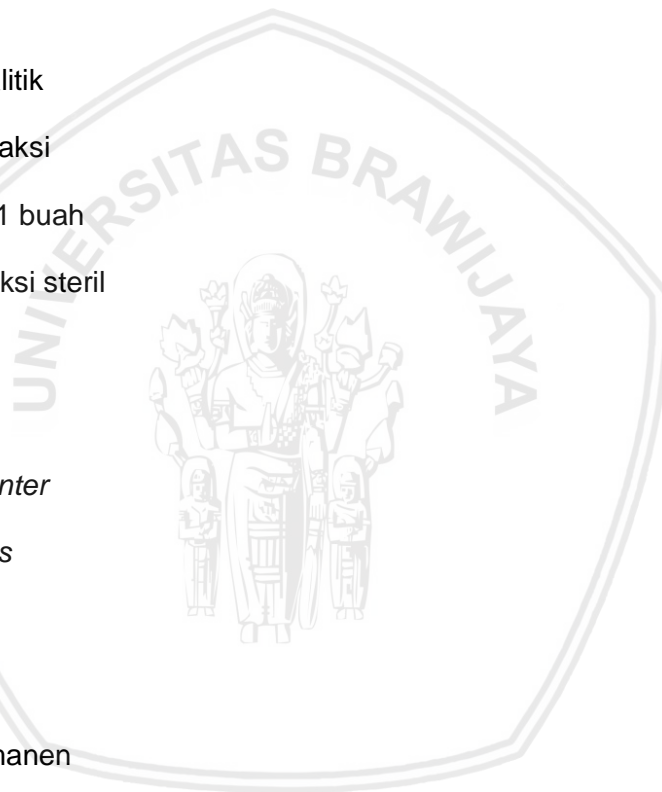
Semakin rendah skor, menunjukkan semakin efektifnya bahan coba.

- j. Pengamatan kuantitatif digunakan untuk menentukan pertumbuhan fungi *Candida albicans* secara kuantitatif dengan cara menghitung koloni fungi dengan *colony counter*.

4.7 Alat dan Bahan

4.7.1 Alat

1. Neraca analitik
2. Gelas ekstraksi
3. Botol steril 1 buah
4. Tabung reaksi steril
5. Rak tabung
6. *Vortex*
7. *Colony counter*
8. *Object glass*
9. Korek api
10. Kapas
11. Spidol permanen
12. Stiker label
13. Mikropipet
14. Mikroskop
15. Bunsen
16. Ose
17. Inkubator
18. Spektrofotometer



4.7.2 Bahan

1. Isolat fungi
2. Serum mamalia
3. Hasil ekstraksi
4. Perbenihan cair fungi dengan kepadatan 1×10^4 CFU/ml
5. Aquades
6. *Sabouraud Dextrose broth*
7. SDA
8. Larutan NaCl

4.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*), identifikasi fungi uji (*Candida albicans*), persiapan suspensi uji *Candida albicans*, dan uji antifungi ekstrak etanol jahe putih.

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Jahe Putih

Tahap pengeringan:

- a. Mengumpulkan rimpang jahe putih segar yang sudah tua.
- b. Mencuci rimpang jahe putih untuk menghilangkan kotoran.
- c. Menimbang rimpang jahe putih yang telah dicuci.
- d. Memotong rimpang jahe putih kecil-kecil agar proses pengeringan dapat berjalan optimal.
- e. Mengeringkan potongan jahe putih dengan metode alamiah, diangin-anginkan dan tidak terkena oleh sinar matahari.

- f. Setelah kering, potongan jahe putih digiling sehingga didapatkan jahe putih dalam bentuk serbuk. Penggilingan dilakukan agar sampel jahe putih yang akan digunakan menjadi lebih homogen dan mempermudah pelarut etanol untuk masuk ke dalam sel (Santoso *et al.*, 2014).

Proses ekstraksi:

- a. Menimbang sampel serbuk jahe putih (100 g).
- b. Memasukkan sampel tersebut ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 Liter.
- c. Kemudian sampel direndam dengan etanol 96% hingga pelarut lebih tinggi 1 cm dari ketinggian serbuk sampel.
- d. Mengocok hingga campuran benar-benar tercampur selama \pm 30 menit.
- e. Mendinginkan campuran selama 1 malam sehingga didapatkan endapan.
- f. Proses ekstraksi ini dilakukan ulang sampai didapatkan hasil ekstraksi yang jernih. Kemudian hasil ekstraksi siap untuk dievaporasi (Santoso *et al.*, 2014).

Proses Evaporasi:

- a. Mengambil lapisan atas campuran etanol 96% dengan zat aktif jahe putih yang sudah terlarut, lalu dimasukkan ke dalam labu evaporasi 1 Liter.
- b. Memasang labu evaporasi pada evaporator.
- c. Mengisi air pada *water bath* sampai penuh.

- d. Memasang semua rangkaian alat, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai suhu 40°C), lalu disambungkan dengan aliran listrik.
- e. Larutan etanol 96% dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
- f. Menunggu sampai aliran etanol 96% berhenti menetes pada labu penampung ($\pm 1,5$ sampai 2 jam untuk 1 labu).
- g. Menimbang ekstrak dengan neraca analitik.
- h. Memasukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik dan dimasukkan ke dalam freezer (Santoso *et al.*, 2014).

4.8.2 Identifikasi *Candida albicans*

a. Pewarnaan Gram

1. Membersihkan gelas objek dengan kapas, kemudian melewati gelas objek di atas api untuk menghilangkan lemak dan dibiarkan dingin.
2. Meneteskan satu ose (1 μ L) aquades steril pada gelas objek dan ditambahkan sedikit biakan fungi yang diambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan dengan aquades pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquades.
3. Mengeringkan sediaan di udara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewati sediaan di atas api.
4. Meneteskan kristal violet pada sediaan dan dibiarkan selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
5. Meneteskan lugol pada sediaan dan dibiarkan selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.

6. Meneteskan alkohol 96% pada sediaan dan dibiarkan selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Meneteskan safranin pada sediaan dan dibiarkan selama ½ menit. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Mengeringkan sediaan dengan kertas penghisap.
9. Mengamati sediaan di bawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 100x.
10. Hasil positif : *Candida albicans* tercat ungu (Gram positif), bentuk *budding* (Noorhamdani *et al.*, 2017).

b. Uji Germinating Tube

1. Mengambil isolat fungi dari perbenihan dengan menggunakan ose yang sudah disterilisasi dengan cara pembakaran.
2. Memasukkan isolat fungi pada tabung yang berisi serum mamalia 0,5 ml.
3. Menginkubasi sediaan pada suhu 37°C selama \pm 4 jam.
4. Mengambil kultur di dalam serum menggunakan ose dan diletakkan pada gelas objek, lalu ditutup dengan gelas penutup.
5. Mengamati sediaan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x.
6. Mencari bentukan hifa sejati yang memanjang khas *Candida albicans* (Noorhamdani *et al.*, 2017).

4.8.3 Persiapan Suspensi Uji *Candida albicans*

1. Perbenihan fungi *Candida albicans* pada media SDB dinilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530nm.

2. Dari nilai absorbansi yang didapatkan, dapat diperkirakan jumlah fungi pada perbenihan di SDB dengan menggunakan kalibrasi yang sudah diketahui sebelumnya. Diketahui nilai absorbansi 0.1 ekuivalen dengan jumlah fungi sejumlah 10^6 CFU/mL (WHO, 2009), dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:

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

Keterangan:

N_1 = Nilai absorbansi suspensi (hasil spektrofotometri)

V_1 = Volume suspensi fungi uji yang akan ditambah pengencer

N_2 = Optical density (0,1 = setara dengan 10^6 CFU /mL)

V_2 = Volume suspensi fungi uji (10 mL)

Dari rumus tersebut, akan diperoleh volume (mL) suspensi fungi uji yang akan ditambah pengencer untuk mendapatkan fungi dengan konsentrasi 10^6 CFU/mL sebanyak 10 mL.

3. Kemudian untuk mendapatkan campuran dengan konsentrasi 1×10^4 CFU/mL, mengambil 1 mL suspensi fungi uji yang sudah dikalibrasikan dan dicampurkan dengan 9 mL NaCl 0,85%. Tahap ini dilakukan dua kali hingga sehingga didapatkan campuran dengan konsentrasi 1×10^4 CFU/mL (WHO, 2009)

4.8.4 Uji Antifungi Ekstrak Jahe Putih

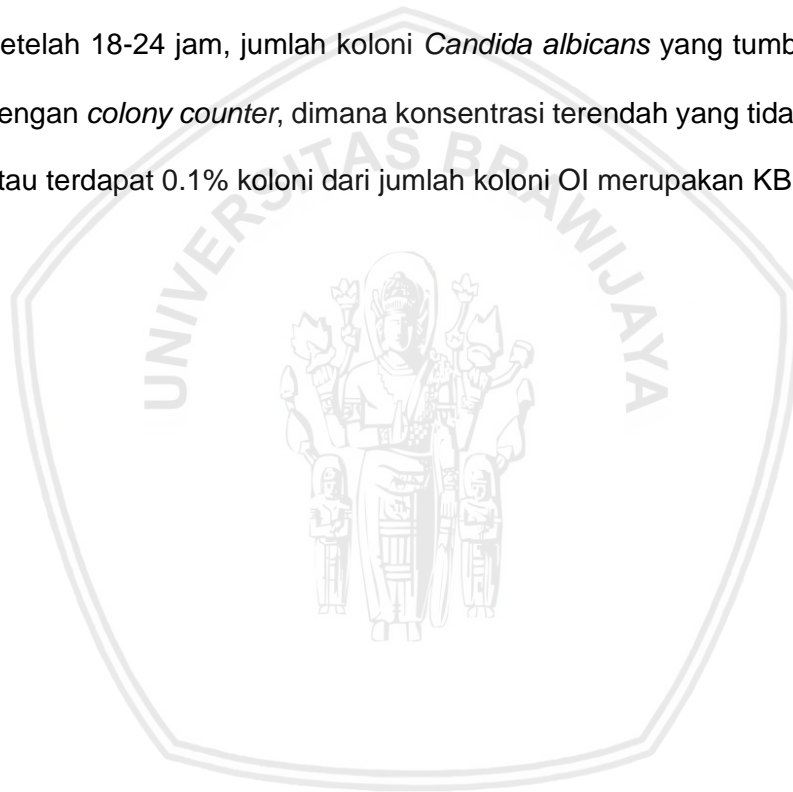
Uji aktivitas antifungi pada penelitian ini diukur dengan menggunakan metode dilusi tabung menggunakan 5 konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yaitu 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5% disertai dengan kontrol bahan dan kontrol fungi untuk memastikan bahan yang digunakan tidak terkontaminasi mikroba lain.

Prosedur yang akan dilakukan adalah sebagai berikut:

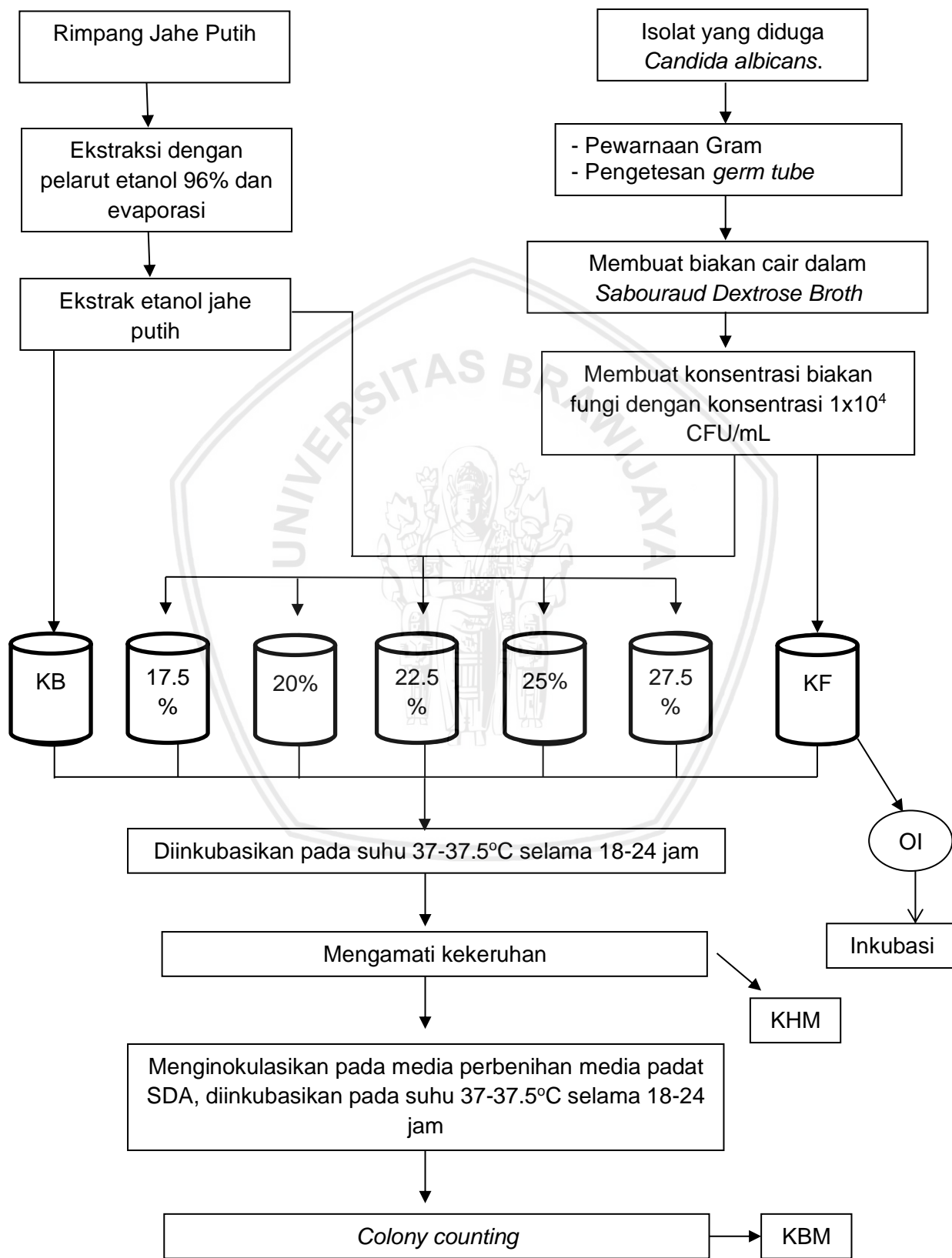
- Menyiapkan 5 tabung steril yang telah diberi label 17.5%, 20%, 22.5%, 25% dan 27.5%, dan 2 tabung steril yang telah diberi label KB dan KF.

- Pada tabung 17.5%, diisikan dengan ekstrak 0,175 mL ekstrak jahe putih ditambah dengan 0,825 mL aquades steril.
- Pada tabung 20%, diisikan dengan ekstrak 0,2 mL ekstrak jahe putih ditambah dengan 0,8 mL aquades steril.
- Pada tabung 22.5%, diisikan dengan ekstrak 0,225 mL ekstrak jahe putih ditambah dengan 0,775 mL aquades steril.
- Pada tabung 25%, diisikan dengan ekstrak 0,25 mL ekstrak jahe putih ditambah dengan 0,75 mL aquades steril.
- Pada tabung 27.5%, diisikan dengan ekstrak 0,275 mL ekstrak jahe putih ditambah dengan 0,725 mL aquades steril.
- Pada tabung KB, dimasukkan 2 mL ekstrak etanol jahe putih.
- Pada tabung KF, dimasukkan 1 mL aquades steril.
- Menambahkan 1 mL biakan cair *Candida albicans* ke dalam setiap tabung kecuali tabung kontrol bahan (KB).
- Dari tabung bertanda KF diambil 1 ose untuk diinokulasikan pada SDA (sebagai *original inoculum* (OI)).
- Menginkubasikan semua tabung dan plate *original inoculum* pada suhu 37°-37,5° C selama 18-24 jam.
- Setelah 18-24 jam, mengamati dan mencatat derajat kekeruhan pada semua tabung. Cara membaca derajat kekeruhan adalah dengan meletakkan sebuah kertas putih dibelakang tabung, dimana sebelumnya pada kertas tersebut telah digambarkan 3 garis hitam, kemudian garis hitam tersebut diperhatikan dari depan tabung. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan kekeruhan adalah KHM.

- Menghitung jumlah koloni pada *original inoculum* dengan menggunakan *colony counter*.
- Untuk mengetahui KBM, dilakukan penggoresan dari tabung yang merepresentasikan KHM dan setiap tabung dengan konsentrasi diatas KHM pada media SDA yang kemudian diinkubasikan pada suhu 37°-37,5°C selama 18-24 jam.
- Setelah 18-24 jam, jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh dihitung dengan *colony counter*, dimana konsentrasi terendah yang tidak ditumbuhi atau terdapat 0.1% koloni dari jumlah koloni OI merupakan KBM.



4.8.5 Alur Kerja Penelitian



Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

4.9 Analisis Data

Uji statistik penelitian ini menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) 20.0 dengan langkah-langkah sebagai berikut:

1. Uji normalitas data dengan menggunakan *Saphiro-Wilk test* untuk menguji apakah data tersebar normal (parametik) atau tidak tersebar normal (non parametik).
2. Uji homogenitas dengan menggunakan *Levene Test Homogenicity of Variance* untuk menguji apakah sampel yang digunakan sudah homogen atau tidak.
3. Variabel bebas (kelompok berbagai konsentrasi ekstrak etanol jahe putih) merupakan data ordinal sementara variabel tergantung (jumlah koloni *Candida albicans*) merupakan data numerikal, sehingga digunakan uji komparasi dengan cara *One-Way ANOVA* untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian ekstrak etanol jahe putih terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*, dengan syarat:
 - a. Sebaran data harus normal
 - b. Varian data harus sama (homogen)

Namun jika data tidak homogen atau tidak tersebar normal, maka digunakan metode *Kruskal Wallis* untuk mengetahui perbedaan jumlah koloni yang terbentuk di media SDA pada setiap perlakuan.

4. Uji *Post Hoc Tukey* dilakukan untuk mengetahui pasangan kelompok perlakuan yang memberikan perbedaan yang signifikan.
5. Uji Korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan antara variabel dependen dan variabel independen. Jika data parametrik maka digunakan Uji Korelasi *Pearson*, sedangkan data non parametrik akan diuji dengan Uji

Korelasi *Spearman*. Pada penelitian ini digunakan Uji Korelasi *Pearson*. Pada penelitian ini, uji korelasi dilakukan untuk mengetahui hubungan konsentrasi pemberian ekstrak etanol jahe putih dan pertumbuhan *Candida albicans* (melalui jumlah koloni yang terbentuk).



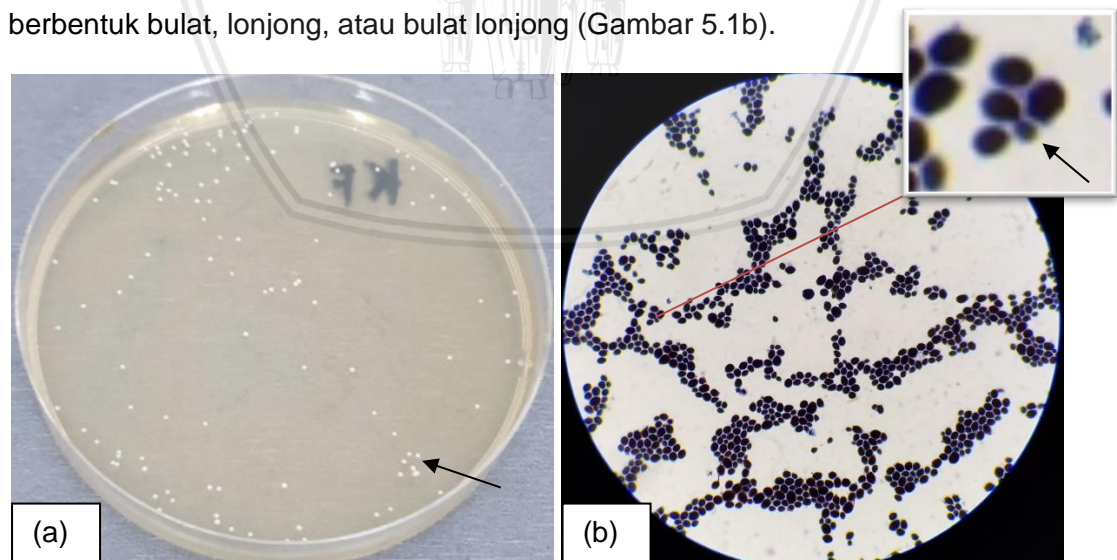
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Fungi

Isolat fungi *Candida albicans* yang digunakan pada penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Isolat yang telah disiapkan di-*streaking* kan pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) untuk kemudian diamati bentukan morfologi yang terbentuk dan diidentifikasi dengan menggunakan pewarnaan gram. Pada medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), didapatkan bentukan koloni *Candida albicans* yang berwarna putih kekuningan dan berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung (Gambar 5.1a). Ukuran koloni berhubungan dengan umur biakan. Koloni memiliki bau asam seperti tape.

Pada pewarnaan Gram dengan pengamatan menggunakan mikroskop dengan perbesaran 1000x, didapatkan gambaran blastospora (sel ragi) yang berbentuk bulat, lonjong, atau bulat lonjong (Gambar 5.1b).

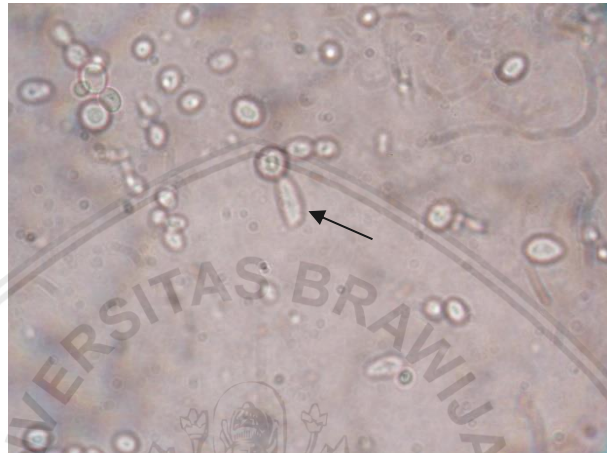


Gambar 5.1 Morfologi Koloni dan Sel *Candida albicans*.

Keterangan: (a) Koloni *Candida albicans* berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan (ditunjukkan oleh anak panah) pada medium SDA (ditunjukkan oleh anak panah).

(b) Gambaran mikroskopis fungi *Candida albicans* dengan pengecatan Gram, menunjukkan sifat Gram positif (berwarna ungu) dan terdapat *budding cell* (ditunjukkan oleh anak panah).

Uji *germinating tube* juga sudah dilakukan sebelumnya untuk proses identifikasi isolat fungi *Candida albicans* di laboratorium mikrobiologi Universitas Brawijaya. Pada pengamatan didapatkan bentukan hifa sejati (*germ tube*) yang memanjang yang merupakan ciri khas morfologi *Candida albicans* (Gambar 5.2)



Gambar 5.2 Gambaran Mikroskopis Hifa *Candida albicans* secara Mikroskopis pada Perbesaran Total 400x.

Keterangan: Nampak gambaran hifa yang memanjang yang disebut *germ tube* (ditunjukkan oleh anak panah).

5.2 Gambaran Ekstrak Etanol Jahe Putih

Ekstrak etanol jahe putih yang didapatkan dengan menggunakan metode maserasi memiliki warna hitam kecoklatan, sehingga pada penelitian ini nilai KHM dari pengamatan kejernihan campuran di tabung tidak bisa didapatkan.



Gambar 5.3 Ekstrak Etanol Jahe Putih.

Keterangan: Ekstrak berwarna hitam kecoklatan dan terlihat keruh di tabung

5.3 Hasil Uji Eksplorasi

Uji eksplorasi dilakukan menggunakan metode dilusi tabung dengan ekstrak etanol jahe putih dengan konsentrasi 0%, 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, dan 100% yang didapatkan dengan metode dilusi serial. Berdasarkan uji eksplorasi yang dilakukan, nilai KHM tidak bisa didapatkan karena warna ekstrak etanol jahe putih yang gelap, sehingga setiap campuran dengan berbagai konsentrasi perlu di-*streaking*-kan pada media SDA untuk mendapatkan nilai KBM. Dari hasil pengamatan pada media SDA, tidak terdapat pertumbuhan koloni pada konsentrasi 25%. Hasil pengamatan uji eksplorasi terdapat pada **Lampiran 1**.

Berdasarkan uji eksplorasi yang telah dilakukan, pengujian aktivitas antifungi ekstrak etanol jahe putih terhadap *Candida albicans* dilakukan dengan metode dilusi tabung dengan 5 macam konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yaitu 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5% dengan kontrol negatif berupa aquades dan kontrol positif berupa ekstrak etanol jahe putih tanpa *Candida albicans*.

5.4 Hasil Uji Sensitivitas Antifungi dengan Metode Dilusi Tabung

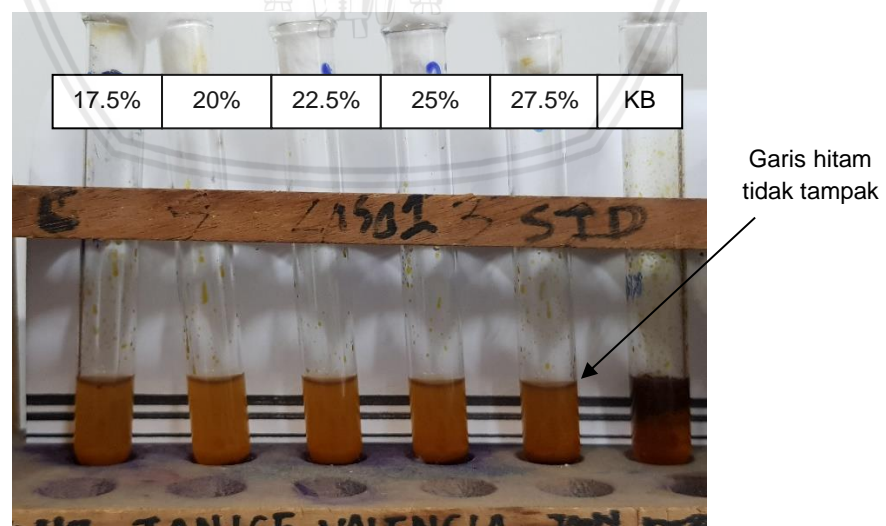
5.4.1 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM

KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar minimum antifungi yang dibutuhkan untuk mampu menghambat pertumbuhan fungi, ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung setelah diinkubasikan selama 18-24 jam (Noorhamdani *et al.*, 2017).

Berdasarkan dari hasil pengamatan yang dilakukan, nilai KHM dalam tidak dapat ditentukan. Hal ini dikarenakan adanya kekeruhan pada semua tabung sehingga pengamatan kualitatif tidak dapat dilakukan (Gambar 5.4). Kekeruhan ini dapat disebabkan oleh dua hal, yaitu banyaknya fungi yang tumbuh pada

campuran, atau karena kandungan zat aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol jahe putih. Berdasarkan uji eksplorasi yang dilakukan sebelumnya, telah dibuktikan bahwa kekeruhan disebabkan oleh kandungan zat aktif yang dimiliki ekstrak etanol jahe putih.

Salah satu faktor yang menyebabkan kekeruhan dalam penelitian ini adalah tingginya kadar saponin yang terkandung dalam ekstrak etanol jahe putih. Gugus karboksil yang terdapat pada struktur saponin menyebabkan saponin memiliki sifat asam. Sifat asam yang dimiliki saponin ini akan menyebabkan kandungan protein yang semula bermuatan netral menjadi bermuatan positif, yang kemudian akan menyebabkan bertambahnya kelarutan protein tersebut. Hal ini mengakibatkan campuran akan berwarna gelap atau keruh (Achwandi *et al.*, 2015). Untuk memastikan kembali bahwa kekeruhan pada tabung diakibatkan oleh kandungan zat aktif ekstrak etanol jahe putih, maka setiap campuran pada masing-masing tabung di-*streaking*-kan pada SDA untuk dilihat hasil pertumbuhan koloninya.



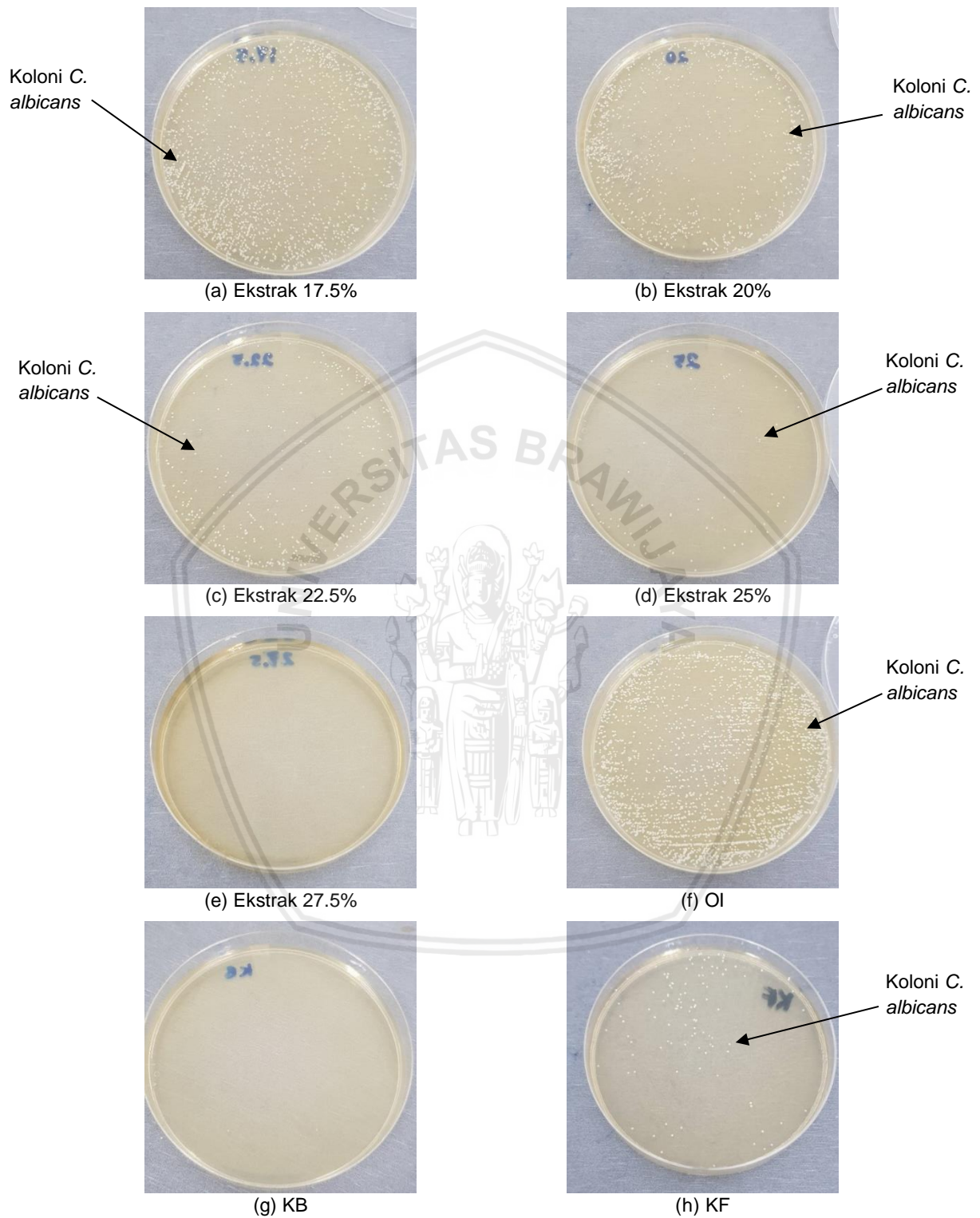
Gambar 5.4 Hasil Pengamatan Kekeruhan Isolat *Candida albicans*

Keterangan: Kekeruhan pada tabung menyebabkan garis pada kertas di balik tabung tidak nampak, hal ini menyebabkan nilai KHM tidak bisa ditentukan

5.4.2 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM

Setelah mengamati kekeruhan tabung dan analisis terhadap KHM, campuran fungi dan ekstrak jahe putih dari setiap tabung diinokulasikan pada SDA yang kemudian diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah waktu inkubasi selesai, jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada setiap konsentrasi dihitung dengan menggunakan *colony counter* untuk penentuan KBM.

KBM (Kadar Bunuh Minimum) adalah konsentrasi minimal dari antifungi yang mampu membunuh fungi, ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni fungi pada medium SDA atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni pada *original inoculum* (OI) (Murray *et al.*, 2013). Pengamatan koloni *Candida albicans* dapat dilihat pada gambar 5.5, sedangkan perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* dapat dilihat pada **Tabel 5.1**.



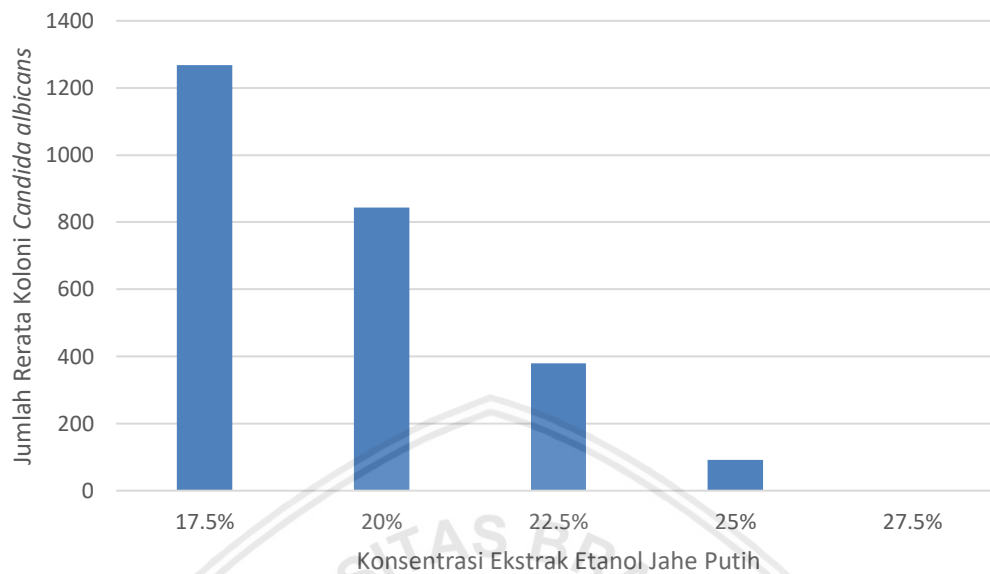
Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* pada SDA.

Keterangan: Nampak koloni *Candida albicans* berbentuk bulat dan berwarna putih kekuningan pada konsentrasi 17.5% (a), 20% (b), 22.5% (c), 25% (d), OI (f), dan KF (h). Tidak didapatkan pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada konsentrasi 27.5% (e) dan KB (g).

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Fungi yang Tumbuh pada SDA

| Konsentrasi Ekstrak | Jumlah Koloni Fungi | | | | Rata-Rata |
|---------------------|---------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | Ulangan 1 | Ulangan 2 | Ulangan 3 | Ulangan 4 | |
| 17.5% | 1255 | 1227 | 1314 | 1278 | 1268.5 |
| 20% | 876 | 843 | 854 | 802 | 843.75 |
| 22.5% | 384 | 403 | 354 | 379 | 380 |
| 25% | 83 | 98 | 95 | 91 | 91.75 |
| 27.5% | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| OI | 2335 | 1997 | 2201 | 2217 | 2187.5 |
| KF | 119000 | 126000 | 132000 | 146000 | 130750 |
| KB | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Berdasarkan dari data pada **Tabel 5.1** dapat dibuat grafik antara rerata jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada medium SDA dengan pemberian berbagai tingkat konsentrasi ekstrak etanol jahe putih untuk menunjukkan hubungan diantara keduanya. Dari grafik rerata jumlah koloni yang terbentuk, menunjukkan adanya penurunan jumlah koloni seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak jahe putih (Gambar 5.6).



Gambar 5.6 Grafik Hubungan Rerata Jumlah Koloni *Candida albicans* pada setiap Isolat terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Jahe Putih.

Keterangan: Nampak penurunan jumlah koloni *Candida albicans* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yang diberikan.

5.5 Analisis Data

Data penelitian ini dianalisis menggunakan aplikasi SPSS versi 20.0 untuk windows dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$).

5.5.1 Uji Normalitas dan Homogenitas Varian

Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Saphiro-Wilk* untuk mengetahui apakah data yang digunakan memiliki distribusi normal. Dari hasil uji *Saphiro-Wilk*, didapatkan nilai signifikansi lebih besar dari 0.05 ($p > 0.05$) pada setiap kelompok data, sehingga dapat dikatakan bahwa data berdistribusi normal (parametrik). Hasil uji normalitas terdapat pada **Lampiran 3.1**.

Uji homogenitas dilakukan dengan *Levene Test Homogeneity of Variance* untuk mengetahui bahwa kelompok data sampel yang ada berasal dari populasi yang memiliki variasi yang sama. Dari hasil uji yang dilakukan, didapatkan nilai

signifikansi sebesar 0.057 ($p > 0.05$), sehingga dapat dikatakan bahwa kelompok data memiliki variasi yang sama atau homogen. Hasil uji homogenitas terdapat pada **Lampiran 3.2**.

5.5.2 Uji *One-Way ANOVA*

Dalam penelitian ini, uji *One-Way ANOVA* digunakan untuk mengetahui hubungan empiris diantara 2 variabel, yaitu hubungan konsentrasi ekstrak etanol jahe putih terhadap rerata pertumbuhan jumlah koloni *Candida albicans* dengan empat kali pengulangan. Dari hasil uji *One-Way ANOVA*, didapatkan angka signifikansi 0.000 ($p < 0.05$), yang berarti pemberian ekstrak etanol dalam berbagai konsentrasi berbeda memiliki dampak yang signifikan terhadap pertumbuhan isolate *Candida albicans* dengan taraf kepercayaan 95%. Hasil Uji *One-Way ANOVA* terdapat pada **Lampiran 4**.

5.5.3 Uji *Post Hoc Tukey*

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji komparasi berganda (*multiple comparisons*) yang bertujuan untuk menunjukkan apakah setiap perlakuan memberikan perbedaan secara signifikan apabila dibandingkan dengan perlakuan yang lainnya. Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* ini, didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) pada setiap perbandingannya. Hal ini berarti bahwa setiap konsentrasi ekstrak etanol jahe putih memberikan perbedaan yang signifikan terhadap pertumbuhan isolat *Candida albicans* dibandingkan dengan kelompok konsentrasi lainnya. Hasil uji *Post Hoc Tukey* terdapat pada **Lampiran 5**.

5.5.4 Uji Korelasi *Pearson*

Uji korelasi *Pearson* digunakan untuk mengetahui hubungan antara variabel dependen (pertumbuhan koloni *Candida albicans*) dengan variabel independen (pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol jahe putih). Dari hasil uji korelasi *Pearson* didapatkan nilai koefisien korelasi *Pearson* yaitu -0.974. Tanda negatif pada nilai tersebut menunjukkan hubungan korelasi negatif, yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yang diberikan, maka semakin sedikit jumlah koloni *Candida albicans* yang didapatkan, dan berlaku juga sebaliknya. Nilai 0.974 yang mendekati 1 menunjukkan hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan *Candida albicans*. Dari uji korelasi *Pearson* ini didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti adanya hubungan yang bermakna antara perlakuan konsentrasi dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Hasil uji korelasi *Pearson* terdapat pada **Lampiran 6**.

5.5.5 Uji Regresi Linear

Uji regresi linear digunakan untuk memprediksi hasil (variabel dependen) berdasarkan nilai dari faktor yang mempengaruhi (variabel independen). Dari hasil uji regresi linear, didapatkan nilai R^2 sebesar 0.948 yang berarti bahwa potensi antifungi ekstrak etanol jahe putih mempengaruhi pertumbuhan koloni *Candida albicans* sebesar 94.8%. Sedangkan 5.2% sisa dari nilai tersebut merupakan akibat dari faktor lain yang tidak ikut diteliti dan mempengaruhi hasil penelitian, misalnya waktu penyimpanan ekstrak etanol jahe putih, suhu penyimpanan, atau faktor intrinsik dari *Candida albicans* sendiri.

Hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol jahe putih terhadap penurunan jumlah koloni *Candida albicans* yang terbentuk dapat

dinyatakan dengan persamaan $Y = A + BX$, dimana Y adalah jumlah koloni *Candida albicans*, A dan B adalah koefisien yang didapatkan dari uji regresi, dan X adalah konsentrasi ekstrak etanol jahe putih. Dengan memasukkan koefisien yang didapatkan dari uji regresi, akan didapatkan persamaan $Y = 3476.900 - 131.560X$ (Gambar 5.7). Dengan menggunakan persamaan tersebut, maka dapat diprediksi berapa konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yang diperlukan untuk menyebabkan tidak adanya pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Jika dimasukkan dalam persamaan:

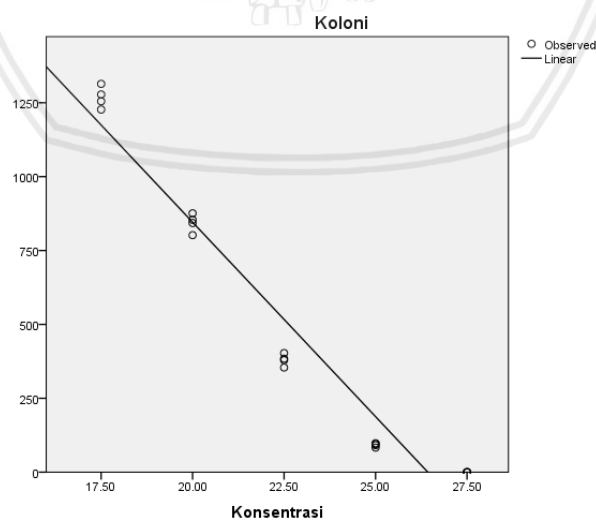
$$Y = 3476.900 - 131.560X$$

$$0 = 3476.900 - 131.560X$$

$$131.560X = 3476.900$$

$$X = 26.43$$

Dari hasil perhitungan tersebut, dibutuhkan konsentrasi ekstrak jahe putih sebesar 26.43% untuk menyebabkan tidak adanya pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Hasil uji regresi linear terdapat pada **Lampiran 7**.



Gambar 5.7 Grafik Hasil Uji Regresi Linear

Keterangan: Didapatkan kurva dengan persamaan $Y = 3476.900 - 131.560X$, sehingga dapat diprediksi bahwa akan didapatkan 0 koloni *Candida albicans* (Y) pada pemberian ekstrak etanol jahe putih dengan konsentrasi 26.43% (X).

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Pembahasan Hasil Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui efek antifungi ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Sampel *Candida albicans* yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari *stock culture* milik Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) merupakan salah satu tanaman yang diketahui memiliki banyak manfaat kesehatan dalam kehidupan masyarakat sehari-hari, salah satunya adalah sebagai obat jamur yang juga telah diteliti pada penelitian sebelumnya. Jahe putih diduga dapat memiliki efek antifungi karena memiliki kandungan saponin dan gingerol. Pada penelitian ini, jahe putih didapatkan dalam bentuk serbuk dari *Materia Medica* Batu, dan diekstraksi dengan metode maserasi di Politeknik Negeri Malang.

Uji aktivitas antimikroba yang digunakan dalam penelitian ini adalah dilusi tabung. Sehubungan dengan banyaknya infeksi *Candida albicans* pada pasien *immunocompromise*, metode ini dipilih untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan terutama Kadar Bunuh Minimum (KBM).

Sebelum penelitian ini dilaksanakan, uji eksplorasi dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan rentang dosis yang akan digunakan nantinya. Pada uji eksplorasi ini, digunakan 7 macam konsentrasi ekstrak etanol jahe putih, yaitu 0%, 3.125%, 6.25%, 12.5%, 25%, 50%, dan 100%. Pada uji eksplorasi ini didapatkan warna ekstrak jahe putih yang keruh sehingga pengamatan kualitatif untuk

menentukan KHM tidak dapat ditentukan, uji eksploratif dilanjutkan dengan pengamatan pertumbuhan koloni *Candida albicans* dari setiap konsentrasi. Hasil yang didapatkan menunjukkan berkurangnya jumlah koloni jamur yang tumbuh secara bertahap dari konsentrasi 0% hingga akhirnya tidak didapatkan pertumbuhan koloni jamur pada konsentrasi 25%. Berdasarkan hasil uji eksplorasi ini, penelitian dilakukan dengan menggunakan 5 macam konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yaitu 17.5%, 20%, 22.5%, 25% dan 27.5% dengan kontrol negatif berupa aquades dan kontrol positif berupa ekstrak etanol jahe putih tanpa *Candida albicans*.

Dari hasil perlakuan berbagai konsentrasi ekstrak etanol jahe putih, didapatkan rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh sebagai berikut, 1268.5 koloni untuk konsentrasi 17.5%, 843.75 koloni untuk konsentrasi 20%, 380 koloni untuk konsentrasi 22.5%, 91.75 koloni untuk konsentrasi 25%, dan 0 koloni untuk konsentrasi 27.5%. Sehingga dapat ditentukan bahwa Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol jahe putih pada *Candida albicans* adalah 27.5%. Dari data diatas, terlihat bahwa jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh semakin sedikit seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak etanol jahe putih, sehingga dapat dikatakan bahwa semakin besar konsentrasi ekstrak jahe putih yang diberikan maka semakin sedikit jumlah koloni *Candida albicans* yang dapat tumbuh.

Berkurangnya jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh dikarenakan oleh senyawa aktif saponin dan gingerol yang terkandung dalam ekstrak etanol jahe putih. Gingerol akan menghambat sintesis ergosterol melalui pengeblokan sitokrom P450 pada *Candida albicans*, sedangkan saponin akan bereaksi dengan ergosterol pada membran sel *Candida albicans*, yang kemudian keduanya akan

berdampak pada meningkatnya permeabilitas membran sel, merusak integritas dari membran sel *Candida albicans* dan membunuh *Candida albicans*. Hal ini didukung oleh penelitian Supreetha (2011) dan Santoso (2014) yang membuktikan bahwa ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* melalui uji antifungi dengan metode difusi cakram.

Berdasarkan dari penelitian terdahulu mengenai aktivitas antifungi berbagai tumbuhan terhadap *Candida albicans*, jahe putih memiliki aktivitas antifungi yang cukup baik. Dengan menggunakan KBM sebagai pembanding, ekstrak etanol daun serai (*Cymbopogon citratus*) memiliki nilai KBM 100% terhadap *Candida albicans* (Afrina *et al.*, 2017), ekstrak etanol kulit pisang barangan (*Musca paradisiaca* L.) memiliki nilai KBM 100% terhadap *Candida albicans* (Andayani dan Afrina, 2016), ekstrak etanol daun sidaguri (*Sida rhombifolia*) memiliki nilai KBM 50% terhadap *Candida albicans* (Widyaningrum dan Wahyuni, 2015), dan ekstrak etanol daun kepel (*Stelechocarpus burahol*) memiliki nilai KBM 45% terhadap *Candida albicans* (Anggara *et al.*, 2014). Sehingga dapat dikatakan bahwa aktivitas antifungi jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) lebih baik dibandingkan aktivitas antifungi daun serai, kulit pisang barangan, dan daun sidaguri terhadap *Candida albicans*.

Berdasarkan dari penelitian terdahulu, hasil percobaan dan hasil data uji statistik pada penelitian ini, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol jahe putih memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*.

6.2 Implikasi terhadap Bidang Kedokteran

Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak etanol jahe putih memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*, dimana aktivitas antifungi yang bekerja akan berbanding lurus dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol jahe putih yang diberikan. Manfaat klinis yang didapatkan dari hasil penelitian ini adalah adanya potensi penggunaan jahe putih sebagai pilihan terapi alternatif pada kandidiasis yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Daya bunuh ekstrak etanol jahe putih terhadap *Candida albicans* ini diharapkan dapat mengurangi morbiditas dan mortalitas pada pasien yang menderita kandidiasis, terutama pada pasien dengan kondisi *immunocompromise*, serta mencegah dan mengurangi timbulnya resistensi jamur terhadap antifungi sehingga dapat memperlancar proses pengobatan.

6.3 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah penelitian ini hanya menggunakan satu metode dalam melakukan uji aktivitas antimikroba, yaitu metode dilusi tabung. Idealnya, metode ini dapat menentukan nilai KHM dan KBM dari ekstrak yang digunakan, namun nilai KHM tidak dapat ditentukan karena faktor senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak etanol jahe putih. Oleh karena itu, untuk menentukan nilai KHM dari ekstrak etanol jahe putih diperlukan penelitian dengan menggunakan metode lain seperti metode dilusi agar.

Keterbatasan lainnya dari penelitian ini adalah tidak dilakukannya analisis lebih lanjut pada ekstrak etanol jahe putih untuk mengetahui kadar kandungan dari setiap bahan aktif dan kandungan bahan aktif apa yang memiliki potensi antifungi yang paling besar. Oleh karena itu, dibutuhkan penelitian lebih lanjut mengenai

masing-masing bahan aktif yang terkandung dalam jahe putih untuk mengoptimalkan penggunaan potensi antifungi dari jahe putih.

Untuk dapat membuat ekstrak etanol jahe putih menjadi obat di masa mendatang, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut baik secara *in vitro* maupun *in vivo* untuk dapat mengetahui farmakokinetik, farmakodinamik, dosis efektif, toksisitas, dan efek samping yang mungkin timbul dari pemberian ekstrak etanol jahe putih. Sediaan obat yang mungkin dapat dibuat dalam jangka waktu dekat adalah sediaan topikal yang berupa salep, obat kumur, dan supositoria. Apabila hasil penelitian farmakokinetik, farmakodinamik, dan toksisitas cukup baik untuk diedarkan secara sistemik, maka sediaan sistemik dalam bentuk tablet atau kapsul juga dapat diciptakan.

Dari hasil penelitian ini, diharapkan dapat mendukung perkembangan penggunaan ekstrak jahe putih sebagai antifungi, sehingga nantinya akan memberikan manfaat bagi masyarakat luas.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

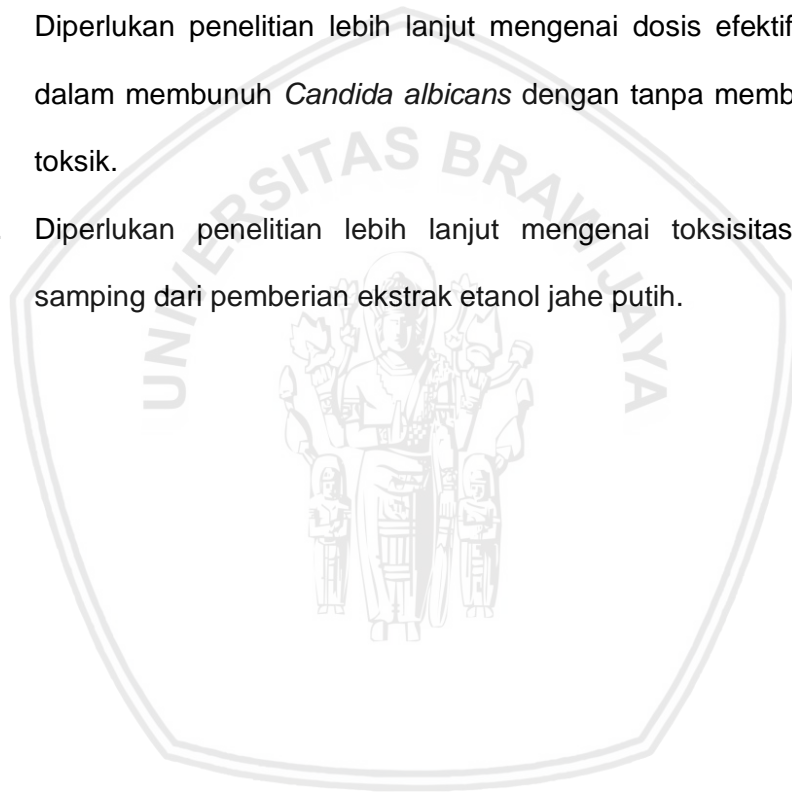
Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

- a. Ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terbukti memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* yang ditunjukkan dengan penurunan jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak yang diberikan.
- b. Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Candida albicans* tidak dapat ditentukan dalam penelitian ini karena ekstrak etanol jahe putih yang memiliki warna yang gelap/keruh.
- c. Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Candida albicans* terdapat pada konsentrasi 27.5%.

7.2 Saran

Berdasarkan dari hasil penelitian dan pembahasan yang telah dilakukan, terdapat beberapa saran untuk penelitian mengenai efek antifungi ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) terhadap *Candida albicans* yang dilakukan berikutnya:

- a. Diperlukan penelitian yang lebih terperinci mengenai kandungan zat aktif yang terkandung dalam jahe putih yang dapat berperan paling dominan sebagai antifungi.
- b. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui farmakokinetik dan farmakodinamik dari pemberian ekstrak etanol jahe putih sebagai terapi terhadap infeksi *Candida albicans*.
- c. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai dosis efektif jahe putih dalam membunuh *Candida albicans* dengan tanpa memberikan efek toksik.
- d. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai toksisitas dan efek samping dari pemberian ekstrak etanol jahe putih.



DAFTAR PUSTAKA

- Achwandi, M., Khoiriyati, A., Soewito, S. 2015. Efektifitas Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) terhadap Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum Bakteri *Salmonella typhi*. *IJNP (Indonesian Journal of Nursing Practices)*, 2(1): 1-8.
- Afrina, Nasution, A.I., Rahmania, N. 2017. Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) Terhadap *Candida albicans*. *Cakradonya Dent Journal*, 9(1): 55-61.
- Aghazadeh, M., Bialvaei, A. Z., Aghazadeh, M., Kabiri, F., Saliyani, N., Yousefi, M., Eslami, H., Kafil, H. S. 2016. Survey of the Antibiofilm and Antimicrobial Effecys of *Zingiber officinale* (*in Vitro* study). *Jundishapur Journal of Microbiology*, 9(2). (Online). (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4842230/>). Diakses tanggal 6 November 2018 pukul 21.00).
- Andayani, E., Afrina. 2016. Uji Aktivitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Barangan (*Musa paradisiaca L.*) Terhadap *Candida albicans*. *Cakradonya Dent Journal*, 8(1): 36-46.
- Anggara, E.D., Suhartanti, D., Mursyidi, A. 2014. Uji Aktivitas Antifungi Fraksi Etanol Infusa Daun Kepel (*Stelechocarpus burahol*, Hook F&Th.) Terhadap *Candida albicans*.
- Bode, A.M., Dong, Z. 2011. The Amazing and Mighty Ginger. *Herbal Medicine: Biomolecular and Clinical Aspects, 2nd Edition.*, CRC Press/Taylor & Francis, chapter 7. (Online). (https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK92775/#_ch7_sec4). Diakses 29 Oktober 2018 pukul 17.00).
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition.*, McGraw-Hill Education, New York, p. 694-695.
- Depkes RI. 2017. *Profil Kesehatan Indonesia tahun 2016*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Fathona, D. 2011. 'Kandungan Gingerol dan Shogaol, Intensitas Kepedasan, dan Penerimaan Panelis terhadap Oleoresin Jahe Gajah (*Zingiber officinale* var. Roscoe), Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. Amarum), dan Jahe Merah

(*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)'. (Online). (https://repository.ipb.ac.id/jspui/bitstream/123456789/51192/4/F11dfa_Abstract.pdf). Diakses 6 November 2018 pukul 22.00).

Greenwood, D., Barer, M., Slack, R., Irving, W. 2012. *A Guide to Microbial Infections: Pathogenesis, Immunity, Laboratory Investigation and Control Medical Microbiology, 18th Edition.*, Elsevier, UK, p. 623-625.

Hargono, Pradhita, F., Aulia, M. P. 2013. 'Pemisahan Gingerol dari Rimpang Jahe Segar melalui Proses Ekstraksi secara Batch'. *Momentum*, 9 (2): 16-21.

Harmono, STP, Andoko, A. 2005. *Budi Daya dan Peluang Bisnis Jahe, Edisi 1.*, PT Media Pustaka, Tangerang, p. 1-2.

Jiwintarum, Y., Urip, Wijaya, A. F., Diarti, M. W. 2017. 'Media Alami Untuk Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Penyebab Kandidiasis dari Tepung Biji Kluwih (*Artocarpus communis*). *Jurnal Kesehatan Prima*, 11 (2): 158-170.

Kalista, K. F., Chen, L. K., Wahyuningsih, R., Rumende, C. M. 2017. 'Karakteristik Klinis dan Prevalensi Pasien Kandidiasis Invasif di Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo'. *Jurnal Penyakit Dalam Indonesia*, 4 (2): 56-61.

Khalili, S., Lorigooini, Z., Malekpour, A., Soureshjani, S. H. 2017. 'The Effect of Vaginal Cream Containing Ginger in Users of Clotrimazole Vaginal Cream on Vaginal Candidiasis'. *Jurnal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*, 8(2): 80-84.

Liu, S., Cui, M., Liu, Z., Song, F. 2004. 'Structural Analysis of Saponins from Medicinal Herbs Using Electrospray Ionization Tandem Mass Spectrometry'. *Journal of American Society for Mass Spectrometry*, 15 (1): 133.

Medappa, N. 2003. 'Ginger: Its Role in Xenobiotic Metabolism'. *ICMR Bulletin*, 33 (6): 57-61.

Mert, F. 2005. 'Saponins Versus Plant Fungal Pathogens'. *Journal of Cell and Molecular Biology*, 5 (1): 13.

Mukhriani. 2014. 'Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif'. *Jurnal Kesehatan*, 7 (1): 361-363.

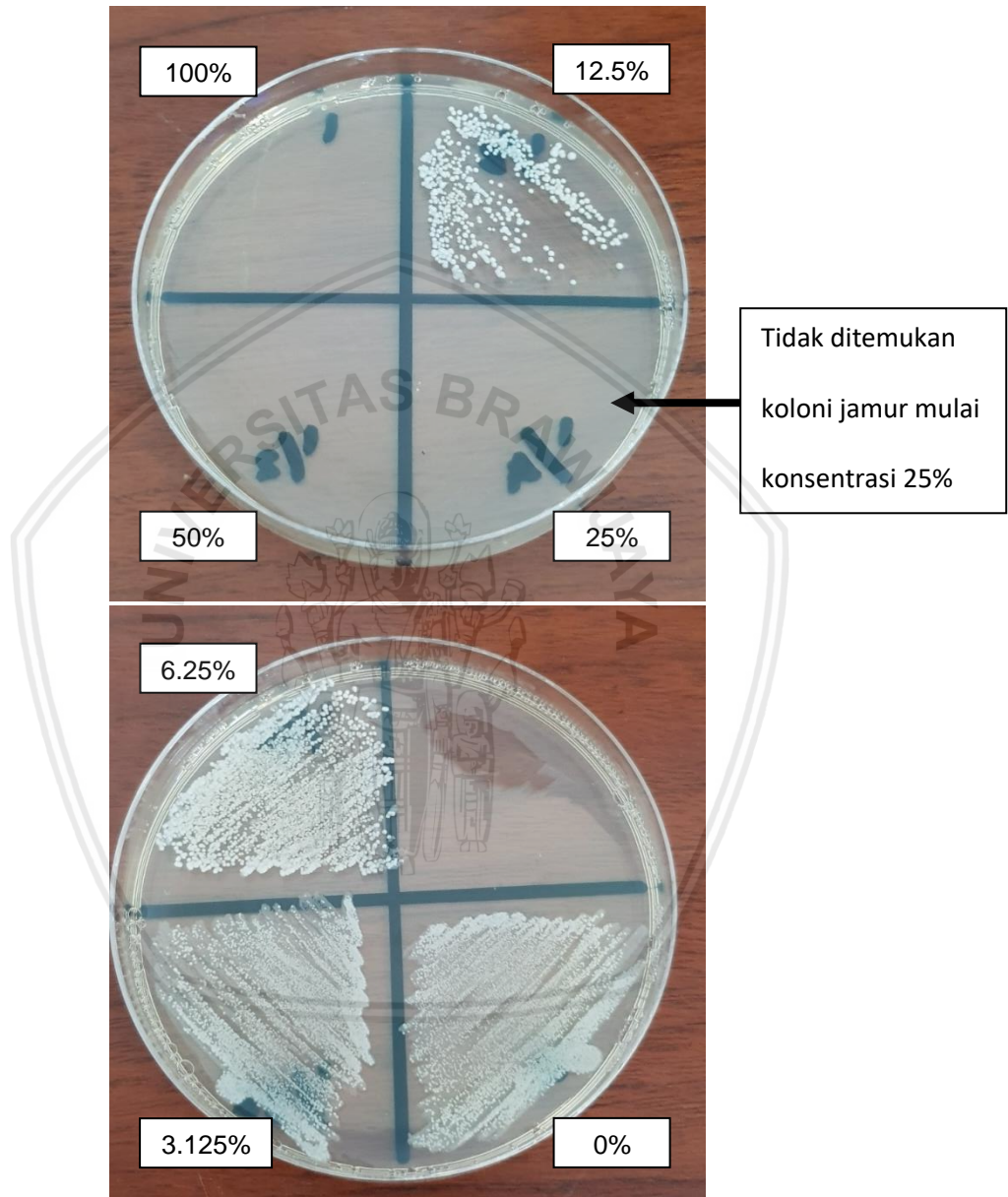
Murray, P. R., Rosenthal, K. S., Pfaller, M. A. 2013. *Medical Microbiology, 7th Edition*, Elsevier, p. 632; 639-640.

- Murugesan, A., Sivapathasundharam, B. 2016. 'Inhibitory Effects of Ginger Extract on *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*, and *Lactobacillus acidophilus*'. *International Dental & Medical Journal of Advanced Research*, 2: 1-5.
- NCBI. 2018. *Candida albicans: Lifemap NCBI version*. (Online). (<http://lifemap-ncbi.univ-lyon1.fr/?tid=5476>). Diakses 25 Oktober 2018 pukul 02.47).
- Noorhamdani, Santoso, S., Sumarno, Winarsih, S., Yuni, D., Mulyastuti, Y., Erikawati, D., Rahayu, S. I. 2017. *Student Guidance for Practical Work. The Biology of Microbes*. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang, hal 15 – 37.
- Nugraha, A. P., Ernawati, D. S., Endah, A., Soebadi, B., Triyono, E. A., Prasetyo, R. A., Budi, S. 2017. 'Correlation Linear Gingival Erythema, *Candida* Infection and CD4+ Counts in HIV/AIDS Patients at UPIPI RSUD Dr. Soetomo Surabaya, East Java, Indonesia'. *Journal of International Dental and Medicine Research*, 10 (2): 322-326.
- Podolak I., Galanty, A., Sobolewska, D. 2010. 'Saponins as Cytotoxic Agents: a Review'. *Phytochem Rev*, 9 (1): 426.
- Reza, N. R., SHW, Tantari, Basuki, S. 2017. 'Uji Kepekaan In Vitro Flukonazol terhadap Spesies *Candida* Penyebab Kandidiasis Oral pada Pasien HIV/AIDS dengan Vitek II'. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*, 29 (3): 234-242.
- Rodrigues, M. L. 2018. 'The Multifunctional Fungal Ergosterol'. *Journal of American Society for Microbiology*, 9 (5): 1-5.
- Ryan, K. J., et Ray, C. G. 2004. *Sherris medical microbiology, 4th Ed*. Sherris medical microbiology. McGraw-Hill Education, New York, p. 660-665.
- Santoso, H. D., Budiarti L. Y., Carabelly A. N. 2014. 'Perbandingan Aktivitas Antijamut Ekstrak Etanol Jahe Putih Kecil (*Zingiber officinale* var. *amarum*) 30% dengan Chlorhexidine glukonat 0,2% terhadap *Candida albicans* In Vitro'. *Dentino Jurnal Kedokteran Gigi*, 2 (2): 125-129.
- Solimun. 2001. *Diktat Metodologi Penelitian LKIP dan PKM Kelompok Agrokompleks*. Malang: Universitas Brawijaya.

- Supreetha, S., Mannur, S., Simon, S. P., Jain, J., Tikare, S., Mahuli, A. 2011. 'Antifungal Activity of Ginger Extract on *Candida albicans*: An In-vitro Study'. *Journal of Dental Sciences and Research*, 2: 1-5.
- Suryani, L. 2012. 'Optimasi Metode Ekstraksi Fenol dari Rimpang Jahe Emprit (*Zingiber officinale* var. *rubrum*)'. *Jurnal AgriSains*, 3 (4): 63-70.
- Tasik, N. L., Kapantow, G. M., Kandou, R. T. 2016. 'Profil Kandidiasis Vulvovaginalis di Poliklinik Kulit dan Kelamin RSUP Prof. Dr. R. D. Kandou Manado periode Januari-Desember 2013'. *Jurnal e-Clinic (eCL)*, 4 (1): 207-214.
- Vikrant, P., Priya, J., Nirichan, K. B. 2015. 'Plants with Anti-*Candida* Activity and Their Mechanism of Action: A Review'. *Journal of Environmental Research and Development*, 9 (4): 1189-1196.
- Wahyuningtyas, S.E.P., Permana, D.G.M., Wiadnyani, A.A.I.S. 2017. Pengaruh Jenis Pelarut Terhadap Kandungan Senyawa Kurkumin dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Kunyit (*Curcuma domestica* Val.). *Jurnal ITEPA*, 6(2): 61-70.
- WHO. 2009. *Laboratory Manual for Diagnosis of Fungal Opportunistic Infections in HIV/AIDS Patients*. p. 81.
- Wong, P.J. 2018. Efektivitas Pelarut Etanol 96% dan Aquadest pada Ekstrak Jahe Merah terhadap Jamur *Candida albicans*. (Online). (<http://repositori.usu.ac.id/bitstream/handle/123456789/3485/130600203.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Diakses 6 November 2018 pukul 21.00).

LAMPIRAN

Lampiran 1. Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* pada Uji Eksplorasi



Berdasarkan hasil dari uji eksplorasi yang dilakukan, ditentukan dosis perlakuan untuk penelitian sebagai berikut: 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, dan 27.5%.

Lampiran 2. Alat dan Bahan Penelitian



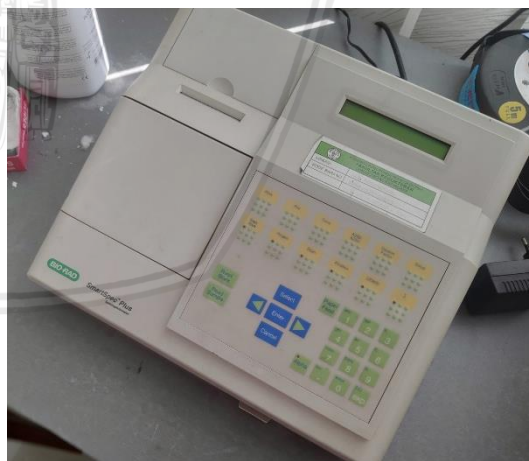
Kulkas penyimpanan ekstrak



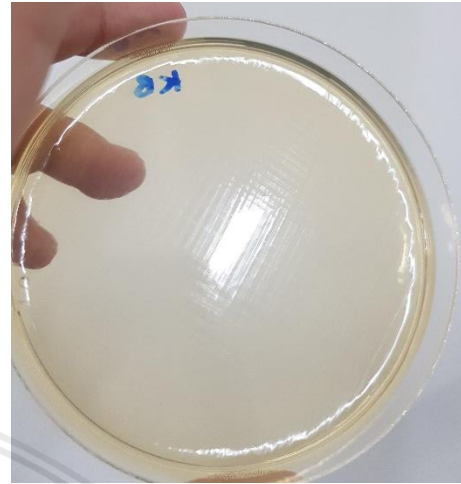
Inkubator



Vortex

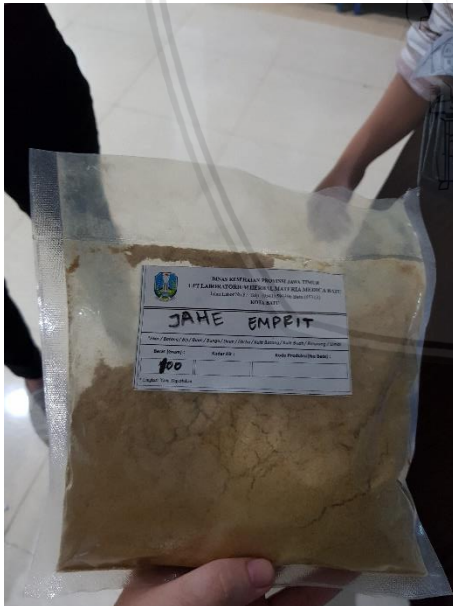


Spektrofotometer



Rak tabung dan tabung reaksi berisikan ekstrak jahe putih

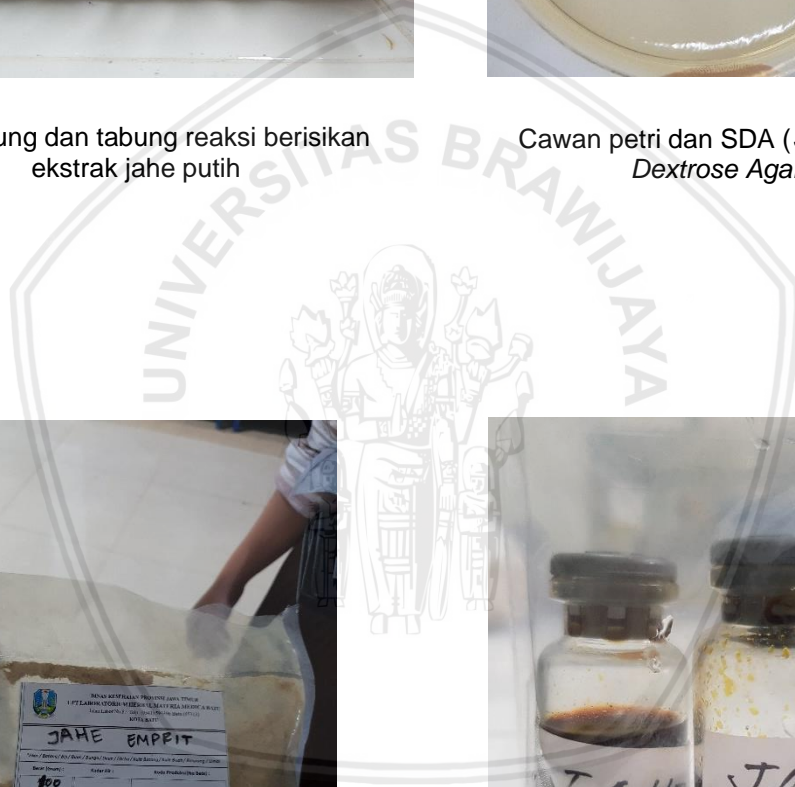
Cawan petri dan SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*)



Serbuk jahe putih



Ekstrak etanol jahe putih





Pipet mikro



Ose



Pembakar bunsen



Korek api



Alat pewarnaan Gram
(kristal violet, lugol, alkohol 96%, safranin)



Minyak imersi

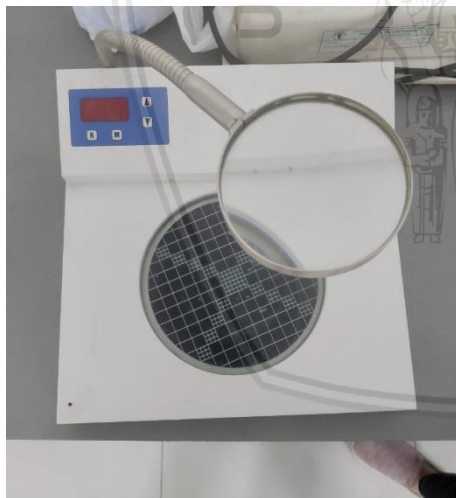




Slide mikroskop



Mikroskop



Colony counter



Lampiran 3. Uji Normalitas dan Homogenitas

3.1 Uji Normalitas Sebaran Data untuk Jumlah Koloni

Tests of Normality^b

| | Konsentrasi | Kolmogorov-Smirnov ^a | | | Shapiro-Wilk | | |
|--------|-------------|---------------------------------|----|------|--------------|----|------|
| | | Statistic | df | Sig. | Statistic | df | Sig. |
| Koloni | 17.5% | .148 | 4 | . | .996 | 4 | .984 |
| | 20% | .240 | 4 | . | .961 | 4 | .785 |
| | 22.5% | .230 | 4 | . | .974 | 4 | .869 |
| | 25% | .204 | 4 | . | .950 | 4 | .717 |

a. Lilliefors Significance Correction

b. Koloni is constant when Konsentrasi = 27.5%. It has been omitted.

Keterangan:

Nilai signifikansi < 0.05 yang berarti bahwa data memiliki distribusi normal.

3.2 Uji Homogenitas Variansi Data Untuk Jumlah Koloni

Test of Homogeneity of Variances

Koloni

| Levene Statistic | df1 | df2 | Sig. |
|------------------|-----|-----|------|
| 2.912 | 4 | 15 | .057 |

Keterangan:

Nilai signifikansi = 0.057 ($p > 0.05$) yang berarti data bersifat homogen.

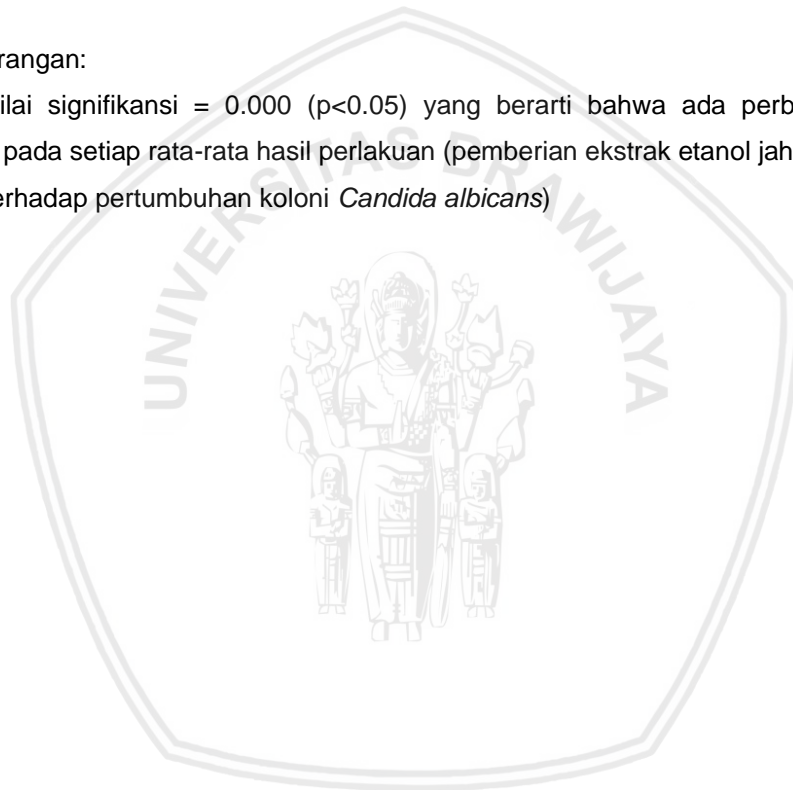
Lampiran 4. Uji One Way ANOVA**ANOVA**

Koloni

| | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|----------------|----------------|----|-------------|----------|------|
| Between Groups | 4553652.700 | 4 | 1138413.175 | 2056.754 | .000 |
| Within Groups | 8302.500 | 15 | 553.500 | | |
| Total | 4561955.200 | 19 | | | |

Keterangan:

Nilai signifikansi = 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa ada perbedaan yang signifikan pada setiap rata-rata hasil perlakuan (pemberian ekstrak etanol jahe putih dosis tertentu terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*)



Lampiran 5. Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Koloni

Tukey HSD

| (I) Konsentrasi | (J) Konsentrasi | Mean Difference (I- J) | Std. Error | Sig. | 95% Confidence Interval | |
|--------------------|--------------------|------------------------------|------------|------|-------------------------|----------------|
| | | | | | Lower Bound | Upper Bound |
| 17.5% | 20% | 424.750* | 16.636 | .000 | 373.38 | 476.12 |
| | 22.5% | 888.500* | 16.636 | .000 | 837.13 | 939.87 |
| | 25% | 1176.750* | 16.636 | .000 | 1125.38 | 1228.12 |
| | 27.5% | 1268.500* | 16.636 | .000 | 1217.13 | 1319.87 |
| 20% | 17.5% | -424.750* | 16.636 | .000 | -476.12 | -373.38 |
| | 22.5% | 463.750* | 16.636 | .000 | 412.38 | 515.12 |
| | 25% | 752.000* | 16.636 | .000 | 700.63 | 803.37 |
| | 27.5% | 843.750* | 16.636 | .000 | 792.38 | 895.12 |
| 22.5% | 17.5% | -888.500* | 16.636 | .000 | -939.87 | -837.13 |
| | 20% | -463.750* | 16.636 | .000 | -515.12 | -412.38 |
| | 25% | 288.250* | 16.636 | .000 | 236.88 | 339.62 |
| | 27.5% | 380.000* | 16.636 | .000 | 328.63 | 431.37 |
| 25% | 17.5% | -1176.750* | 16.636 | .000 | -1228.12 | -1125.38 |
| | 20% | -752.000* | 16.636 | .000 | -803.37 | -700.63 |
| | 22.5% | -288.250* | 16.636 | .000 | -339.62 | -236.88 |
| | 27.5% | 91.750* | 16.636 | .000 | 40.38 | 143.12 |
| 27.5% | 17.5% | -1268.500* | 16.636 | .000 | -1319.87 | -1217.13 |
| | 20% | -843.750* | 16.636 | .000 | -895.12 | -792.38 |
| | 22.5% | -380.000* | 16.636 | .000 | -431.37 | -328.63 |
| | 25% | -91.750* | 16.636 | .000 | -143.12 | -40.38 |

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Keterangan:

Uji Post Hoc Tukey dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan rata-rata dari setiap kelompok perlakuan dengan lebih spesifik, dimana akan terlihat kelompok mana yang berbeda secara signifikan dan tidak signifikan. Hasil analisis menunjukkan nilai signifikansi <0.05 pada setiap kelompoknya, hal ini berarti setiap kelompok perlakuan memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan.

Koloni

Tukey HSD

| Konsentrasi | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
|-------------|---|-------------------------|-------|--------|--------|---------|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 27.5% | 4 | .00 | | | | |
| 25% | 4 | | 91.75 | | | |
| 22.5% | 4 | | | 380.00 | | |
| 20% | 4 | | | | 843.75 | |
| 17.5% | 4 | | | | | 1268.50 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Keterangan:

Rata-rata setiap kelompok berada pada kolom *subset* yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan.



LAMPIRAN 6. Uji Korelasi *Pearson*

| | | Konsentrasi | Koloni |
|-------------|---------------------|-------------|---------|
| Konsentrasi | Pearson Correlation | 1 | -.974** |
| | Sig. (2-tailed) | | .000 |
| | N | 20 | 20 |
| Koloni | Pearson Correlation | -.974** | 1 |
| | Sig. (2-tailed) | .000 | |
| | N | 20 | 20 |

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

Keterangan:

- Nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) menunjukkan adanya korelasi yang signifikan antara perlakuan pemberian berbagai dosis ekstrak etanol jahe putih dan jumlah koloni *Candida albicans*.
- Nilai koefisiensi korelasi (r) yang negatif (-) menunjukkan korelasi berlawanan, dimana peningkatan dosis ekstrak etanol jahe putih yang diberikan akan mengakibatkan penurunan pada jumlah koloni *Candida albicans*.
- Nilai koefisien korelasi (r) 0.974 mendekati 1, hal ini berarti korelasi/hubungan antar 2 variabel adalah hubungan yang kuat.

Lampiran 7. Uji Regresi

Variables Entered/Removed^a

| Model | Variables Entered | Variables Removed | Method |
|-------|--------------------------|-------------------|--------|
| 1 | Konsentrasi ^b | . | Enter |

- a. Dependent Variable: Koloni
 b. All requested variables entered.

Model Summary

| Model | R | R Square | Adjusted R Square | Std. Error of the Estimate |
|-------|-------------------|----------|-------------------|----------------------------|
| 1 | .974 ^a | .948 | .946 | 114.248 |

- a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

ANOVA^a

| Model | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
|-------|------------|----------------|----|-------------|---------|-------------------|
| 1 | Regression | 4327008.400 | 1 | 4327008.400 | 331.505 | .000 ^b |
| | Residual | 234946.800 | 18 | 13052.600 | | |
| | Total | 4561955.200 | 19 | | | |

- a. Dependent Variable: Koloni
 b. Predictors: (Constant), Konsentrasi

Coefficients^a

| Model | | Unstandardized Coefficients | | Standardized Coefficients | t | Sig. |
|-------|-------------|-----------------------------|------------|---------------------------|---------|------|
| | | B | Std. Error | Beta | | |
| 1 | (Constant) | 3476.900 | 164.573 | | 21.127 | .000 |
| | Konsentrasi | -131.560 | 7.226 | -.974 | -18.207 | .000 |

- a. Dependent Variable: Koloni

Keterangan:

- Nilai R^2 0.948 menunjukkan bahwa variabel independen (ekstrak etanol jahe putih) mempengaruhi variabel dependen (jumlah koloni *Candida albicans*) sebesar 94.8%.
- Nilai variabel dependen (jumlah koloni *Candida albicans*) yang diakibatkan variabel independen (ekstrak etanol jahe putih) dapat diestimasi dengan persamaan $Y = 3476.900 - 131.560X$, dimana Y adalah jumlah koloni *Candida albicans* dan X adalah konsentrasi ekstrak etanol jahe putih.

Lampiran 8. Surat Determinasi Jahe Putih



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT LABORATORIUM HERBAL MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp. (0341) 593396
KOTA BATU 65313

Nomor : 074/221A/102.7/2019
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Jahe Emprit**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : NICA SAVERO
 NIM : 165070100111028
 Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN, UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman jahe
 - Kingdom : Plantae
 - Divisi : Spermatophyta
 - Sub divisi : Angiospermae
 - Kelas : Monocotyledonae
 - Bangsa : Zingiberales
 - Suku : Zingiberaceae
 - Marga : Zingiber
 - Jenis : *Zingiber officinale* var. *amarum*
 - Nama Umum : Halia, helia (Melayu); jahe sunthi, jahe emprit (Jawa).
 - Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14a-15a-109a-110b-111b-112a-113b-116a-119b-120b-128b-129a-130b-132a
2. Morfologi : Tanaman herba semusim, tegak, tinggi 40-50 cm. Batang semu, beralur, membentuk rimpang, warna hijau. Daun tunggal, bentuk lanset, tepi rata, ujung runcing, pangkal tumpul, warna hijau tua. Bunga majemuk, bentuk bulir, sempit, ujung runcing, panjang 3.5-5 cm, lebar 1.5-2 cm, mahkota bunga bentuk corong, panjang 2-2.5 cm, warna ungu. Buah kotak, bulat panjang, warna cokelat. Ciri utama jahe emprit terletak pada bentuk rimpangnya yang kecil, rata cenderung pipih dan tidak mengembung. Jahe jenis ini bisa ditemukan dalam warna putih, kuning dan dalam kondisi tertentu berwarna merah. Serat jahe emprit bertekstur lembut dengan aroma yang tidak tajam.
3. Nama Simplisia : Zingiberis Rhizoma/ Rimpang Jahe Emprit.
4. Kandungan kimia : Gingerol, zingeron, 1-dehidrogingerdione, shogaol, karbohidrat, asam palmitat, asam oleat, asam caprilat, asam caprik, asam laurat, asam myristat, asam heptadecanoat, asam stearat, lesitin, ginglycolipids (A,B,C), asam amino (seperti arginin, glycin, sistein, isoleucin, leusin, serine, threonin, valine), protein, resin, diterpen, saponin dan vitamin A. Minyak atsiri mengandung zingiberene, b-bisabolena, singiberol, ar-curcumene, geraniol, linalool, champenen, dan phellandrenen.
5. Daftar Pustaka
 - Anonim. <http://www.iptek.net.id/Jahe>, diakses tanggal 22 Oktober 2010.
 - Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Hutapea, Johny Ria. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
 - Van Steenis, C.G.G.J. 2008. *FLORA, untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

Demikian surat keterangan determinasi ini kami buat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Batu, 25 Maret 2019
 Kepala UPT Lab. Herbal Materia Medica Batu



Lampiran 9. Surat Keterangan Ekstrak Jahe Putih

**POLITEKNIK NEGERI MALANG**
JURUSAN TEKNIK KIMIA
UNIT PRODUKSI

Jl. Soekarno - Hatta No. 09 Telp (0341) 404420 - 404424 Malang, 65101
Contact Person : Zulriadi (0341) 9158610 HP. 0813 3456 8567

No : 622 / UP-TK / EK / VII /2019
Perihal : Surat Keterangan
Lampiran : 1 Lembar

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Ir. Sri Rullanah, MTP
NIP : 196302111988032001
Jabatan : Ketua Unit produksi
Jurusan Teknik Kimia
Politeknik Negeri Malang

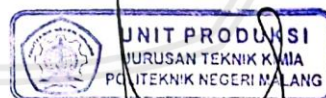
Dengan ini menerangkan bahwa :

Nama : Nico Savero
Nim : 165070100111028
Jurusan : Program Studi Kedokteran
Instansi : Fakultas Kedokteran
Universitas Brawijaya

Benar telah melakukan Ekstrak Jahe Putih dengan Metode Maserasi pada tanggal 22 - 26 April 2019 di Laboratorium Teknik Kimia, Jurusan Teknik Kimia - Politeknik Negeri Malang

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 19 Juli 2019
Ketua Unit Produksi,



Ir. Sri Rullanah, M.TP
NIP.196302111988032001

