



**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) SEBAGAI ANTIFUNGI
TERHADAP PERTUMBUHAN JAMUR *Candida albicans*
Secara *In Vitro***

**SKRIPSI
UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN
MEMPEROLEH GELAR SARJANA**

**OLEH:
DARA AYU PUTERI ASHSHIYAMI
NIM. 155070401111029**

**PROGRAM STUDI PENDIDIKAN DOKTER GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2019

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN
TEMPUYUNG (*Sonchus arvensis* L.) SEBAGAI ANTIFUNGI
TERHADAP PERTUMBUHAN JAMUR *Candida albicans*
Secara *In Vitro***

Oleh:

DARA AYU PUTERI ASHSHIYAMI
155070401111029

Telah diujikan di depan Majelis Penguji pada tanggal 25 Maret
2019 dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana dalam Bidang Kedokteran Gigi

Menyetujui,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso,

drg. Viranda Sutanti, M.Si

DTM&H, Sp. MK(K)

NIP. 194812201980021002

NIP. 198408272018032001

Mengetahui,

**Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya**

drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG

NIP. 198004092008122004

PERNYATAAN ORISINALITAS SKRIPSI

Saya menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya, di dalam naskah skripsi ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu perguruan tinggi, dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka. Apabila ternyata di dalam naskah disertasi ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia skripsi ini digugurkan dan gelar akademik yang telah saya peroleh SARJANA dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku (UU No.20 Tahun 2003, Pasal 25 ayat 2 dan Pasal 70).

Malang, 20 Maret 2019

Yang menyatakan,

Dara Ayu Puteri Ashshiyami

NIM. 155070401111029



ABSTRAK

Dara Ayu Puteri Ashshiyami, NIM: 155070401111029, Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya Malang, 20 Maret 2019, “**Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Sebagai Antifungi Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara *In Vitro***”, Tim Pembimbing: Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso DTM&H, Sp. MK (K) dan drg. Viranda Sutanti, M.Si

Kandidiasis oral merupakan salah satu infeksi fungal yang sering ditemukan di mukosa oral disebabkan oleh jamur *Candida albicans*. Hingga saat ini, perawatan kandidiasis oral dilakukan dengan pemberian obat antifungi baik dalam bentuk topikal maupun sistemik. Daun tempuyung merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang mudah ditemukan serta tumbuh liar di sekitar kita terutama di tempat yang terlindungi sinar matahari dan dekat dengan aliran air. Adapun, senyawa aktif yang terkandung dalam daun tempuyung yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis* L.) memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. Pada penelitian ini, metode yang digunakan yaitu uji dilusi tabung dengan konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung yang digunakan yaitu 60%, 70%, 80%, 90%, dan 100%. Kemudian dilakukan penghitungan koloni dengan menggunakan *colony counter*. Berdasarkan hasil pengamatan, Kadar Hambat Minimum (KHM) berada pada konsentrasi 80%, sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun tempuyung terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* berada pada konsentrasi 100%. Data dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* dan didapatkan hasil yang signifikan. Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pemberian



ekstrak daun tempuyung (*Sonchus Arvensis* L.) berpengaruh terhadap terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans*.

Kata Kunci: Ekstrak Etanol Daun Tempuyung, *Candida albicans*, Uji Dilusi Tabung.



ABSTRACT

Dara Ayu Puteri Ashshiyami, NIM: 155070401111029, Dentistry Study Programs, Faculty of Dentistry University of Brawijaya Malang, 20 March 2019, “**Effectiveness Test of Ethanol Extract of Tempuyung Leaves (*Sonchus arvensis* L.) as Antifungal on the Growth of *Candida albicans* In Vitro**” Supervisor: Prof. Dr. dr. Sanarto Santoso DTM&H, Sp. MK (K) dan drg. Viranda Sutanti, M.Si

Oral candidiasis is one of the fungal infections that is often found in the oral mucosa caused by *Candida albicans*. Until now, the treatment of oral candidiasis is done by administering antifungal drugs in both topical and systemic forms. Tempuyung leaves are one of the traditional medicinal plants that are easy to find and grow wild around us, especially in places that are protected by sunlight and close to the flow of water. Meanwhile, the active compounds contained in tempuyung leaves are flavonoids, alkaloids, saponins, and tannins. The purpose of this study was to determine whether the ethanol extract of tempuyung leaves (*Sonchus arvensis* L.) has an antifungal effect on the growth of *Candida albicans in vitro*. In this study, the method used was tube dilution test with the concentration of ethanol extract of tempuyung leaves used, namely 60%, 70%, 80%, 90%, and 100%. Then the colony is calculated using a *Colony counter*. Based on the results of the observation, the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) was at a concentration of 80%, while the Minimum Bactericidal Concentration (MBC) of the ethanol extract of tempuyung leaves on the growth of *Candida albicans* was at a concentration of 100%. Data were analyzed using *One Way ANOVA* test and obtained significant results. From this study it can be concluded that the administration of tempuyung leaves extract (*Sonchus Arvensis* L.) has an effect on the number of fungi colonies of *Candida albicans*.

Keywords: ethanol extract of tempuyung leaves, *Candida albicans*, tube dilution test.



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT sang maha pencipta dan pengatur alam semesta, karena atas rahmat, karunia, serta ridho-Nya penulis dapat menyelesaikan proposal skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) sebagai Antifungi Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*”. Skripsi ini diajukan untuk memenuhi tugas mata kuliah Metodologi Penelitian Ilmiah 2.

Dalam proses penyusunan skripsi ini penulis menyadari bahwa banyak rintangan dan hambatan yang dialami penulis, namun berkat dorongan, bantuan, semangat serta bimbingan dari dosen pembimbing serta orang-orang terdekat sehingga penulis dapat menyelesaikannya. Oleh karena itu, penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya.
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp. KG selaku Kepala Program Studi Pendidikan Dokter Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya
3. Prof. dr. Dr. Sanarto Santoso, DTM&H, Sp. MK (K) selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal tugas akhir ini dapat terselesaikan.
4. drg. Viranda Sutanti, M.Si selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal tugas akhir ini dapat terselesaikan.
5. drg. Miftakhul Cahyati, Sp. PM selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan masukan dan bimbingan kepada penulis sehingga proposal tugas akhir ini dapat terselesaikan.
6. Kedua orang tua serta kakak dan adik yang selalu memberikan doa, kasih sayang, semangat, serta dorongan setiap harinya kepada penulis.



7. Teman-teman penulis (Michelle Agustin Indrawan, Brilian Tita Putri, Varella Awang Wangi, Syifa Aziza, Aisyah Ardani Ramadhanti) yang selalu memberi semangat, masukan, dan doa bagi penulis.

8. Teman-teman kelompok proposal departemen mikrobiologi (Khansa, Hana, Arum, Felicia, dan Shabrina) yang memberikan semangat dan menjadi partner yang sangat saling membantu, serta teman-teman Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya angkatan 2015.

Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan rahmat-Nya dan membalas

semua amal kebaikan mereka semua. Penulis sadar bahwa penulisan proposal tugas akhir ini masih jauh dari kata sempurna, karena keterbatasan kemampuan dan pengalaman penulis.

Malang, 25 Maret 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

ABSTRAK iv

ABSTRACT vi

KATA PENGANTAR vii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR GAMBAR xii

DAFTAR TABEL xiii

DAFTAR SINGKATAN xiv

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang 1

1.2 Rumusan Masalah 3

1.3 Tujuan Penelitian 3

1.3.1 Tujuan umum 3

1.3.2 Tujuan khusus 4

1.4 Manfaat Penelitian 4

1.4.1 Manfaat Akademik 4

1.4.2 Manfaat Praktis 4

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans* 5

2.1.1 Taksonomi *Candida albicans* 5

2.1.2 Morfologi *Candida albicans* 6

2.1.3 Identifikasi *Candida albicans* 7

2.1.4 Koloni *Candida albicans* 8

2.1.5 Patogenitas dan Virulensi *Candida albicans* 10

2.1.6 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan

Candida albicans pada Rongga Mulut 12

2.2 *Oral Candidiasis* 13

2.2.1 Kandidiasis Pseudomembranosa 14

2.2.2 Kandidiasis Eritematosa 15

2.2.3 Kandidiasis Atropik Kronik 15

2.2.4 Kandidiasis Hiperplastik 16

2.2.5 *Median Rhomboid Glossitis* 17

2.2.6 Angular Cheilitis 17



2.3	Pengobatan Infeksi <i>Candida albicans</i>	18
2.4	Antifungi	18
2.5	Uji Aktivitas Antifungi	20
2.5.1	Metode Dilusi	20
2.5.1.1	Metode Dilusi Tabung	20
2.5.1.2	Metode Dilusi Agar	22
2.5.2	Metode Difusi	22
2.5.2.1	Metode Difusi Cakram	22
2.5.2.2	Cara Sumuran	23
2.5.2.3	E-Test	23
2.6	Daun Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.)	23
2.6.1	Taksonomi Daun Tempuyung	24
2.6.2	Morfologi Daun Tempuyung	25
2.6.3	Senyawa Fitokimia	25
2.7	Daya Antijamur Daun Tempuyung	26
2.8	Ekstraksi Etanol Daun Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.)	29

BAB 3. KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1	Kerangka Konsep Penelitian	31
3.2	Hipotesis Penelitian	33

BAB 4. METODE PENELITIAN

4.1	Rancangan Penelitian	35
4.2	Tempat dan Waktu Pelaksanaan	35
4.3	Sampel Penelitian	35
4.4	Estimasi Pengulangan Sampel	35
4.5	Variabel Penelitian	36
4.5.1	Variabel Bebas	36
4.5.2	Variabel Terikat	36
4.6	Definisi Operasional	36
4.7	Alat dan Bahan Penelitian	38
4.7.1	Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.)	38
4.7.2	Alat Dan Bahan Kultur <i>Candida albicans</i>	39
4.7.3	Alat Dan Bahan Pewarnaan Gram	39
4.7.4	Alat Dan Bahan Uji <i>Germinating Tube</i>	39
4.7.5	Alat Dan Bahan Dilusi Tabung	39
4.7.6	Alat Dan Bahan Uji Agar Plate	40



4.8	Prosedur Penelitian	40
4.8.1	Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.)	40
4.8.2	Kultur <i>Candida albicans</i>	41
4.8.3	Identifikasi <i>Candida albicans</i>	41
4.8.3.1	Pewarnaan Gram	41
4.8.3.2	Uji <i>Germinating Tube</i>	42
4.8.4	Persiapan Uji <i>Candida albicans</i>	43
4.8.5	Uji Antifungi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (<i>Sonchus arvensis</i> L.) Terhadap Jamur <i>Candida</i> <i>albicans</i>	44
4.8.5.1	Uji Dilusi Tabung	44
4.8.5.2	Uji Agar Plate	46
4.9	Analisa Data	47
4.10	Alur Penelitian	48

BAB 5. HASIL DAN PEMBAHASAN

5.1	Hasil Penelitian	51
5.1.1	Identifikasi <i>Candida albicans</i>	51
5.1.2	Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (<i>Sonchus</i> <i>arvensis</i> L.)	52
5.1.3	Hasil Uji Dilusi Tabung	52
5.1.4	Hasil Penghitungan Jumlah Koloni <i>Candida</i> <i>albicans</i>	54
5.2	Hasil Analisa Data	55
5.2.1	Uji Normalitas dan Uji Homogenitas	56
5.2.2	Uji <i>One Way</i> ANOVA	56
5.2.3	Uji Korelasi-Regresi	57
5.3	Pembahasan	59

BAB 6. PENUTUP

6.1	Kesimpulan	67
6.2	Saran	67

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

Lampiran 1	Alat dan Bahan	79
Lampiran 2	Analisa Data	81
Lampiran 3	Surat Determinasi Tanaman Tempuyung	85



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1. Pewarnaan Gram *Candida albicans*: termasuk dalam sel jamur gram positif dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x..... 5

Gambar 2. SEM-image Ilustrasi morfologi *Candida* (a) bentuk spora, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa 6

Gambar 3. (a) SEM-image (b) Representasi skema Lapisan dinding sel *Candida* 9

Gambar 4. Kandidiasis Pseudomembranosa 14

Gambar 5. Kandidiasis Eritematososa 15

Gambar 6. Kandidiasis Atropik Kronik 15

Gambar 7. Kandidiasi Hiperplastik 16

Gambar 8. *Median Rhomboid Glossitis* 17

Gambar 9. Angular Cheilitis 17

Gambar 10. Dilusi Tabung untuk Menentukan KHM dengan bantuan garis hitam dibelakang tabung 21

Gambar 11. Daun Tempuyung 24

Gambar 12. Hasil Skinning Fitokimia terhadap Simplisia Serbuk dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung 26

Gambar 13. Struktur Flavonoid 27

Gambar 14. Kerangka Konsep 31

Gambar 15. Hasil Pewarnaan Gram *Candida albicans* 51

Gambar 16. Hasil Uji *Germinating Tube Candida albicans* 52

Gambar 17. Hasil Pengamatan KHM dengan Metode Dilusi Tabung 53

Gambar 18. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni Jamur dengan *Colony Conter* 55



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 1. Definisi Operasional.....	36
Tabel 2. Data Hasil Perhitungan Koloni dengan 4 kali Pengulangan Menggunakan <i>Colony Counter</i>	59
Tabel 3. Hasil Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	57
Tabel 4. Hasil Perhitungan Nilai Y Pada Uji Regresi Linear.....	59



DAFTAR SINGKATAN

µg	: mikro gram
µl	: mikro liter
µm	: mikro meter
°C	: <i>Celcius</i>
CFU	: <i>Colony Forming Unit</i>
cm	: centimeter
Da	: Dalton
g	: gram
IgA	: Immunoglobulin A
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
Kkal	: Kilo kalori
L	: liter
mg	: milligram
ml	: millimeter
mdpl	: meter di atas permukaan laut
NCCLS	: <i>National Committee for Clinical Laboratory Standard</i>
OD	: <i>optical density</i>
OI	: <i>Original Inoculum</i>
Pl	: <i>phospholipase</i>
rpm	: rotasi per menit
sap	: <i>secreted aspartyl proteinase</i>



BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kandidiasis oral merupakan salah satu infeksi fungal yang sering ditemukan di mukosa oral disebabkan oleh jamur *Candida albicans* (Laskaris, 2013). *Candida albicans* pada rongga mulut merupakan flora normal yang dapat berubah menjadi patogen jika terjadi perubahan dalam diri pejamu (Hakim dan Ramadhian, 2015). Adapun faktor etiologi kandidiasis di dalam rongga mulut yaitu kelainan endokrin, gangguan nutrisi, keganasan, gangguan hematologi, gangguan imunitas, xerostomia, obat-obatan seperti pemakaian kortikosteroid atau antibiotik spektrum luas dalam jangka waktu yang lama, pemakaian *denture*, serta merokok (Nur'any *et. al.*, 2017). *Candida albicans* dalam dua dekade terakhir, dilaporkan mengalami perubahan dari jamur yang jarang menyebabkan infeksi menjadi jamur oportunistis yang paling sering menyebabkan infeksi (Laskaris, 2013). Prevalensi *Candida albicans* rongga mulut orang dewasa sehat terdapat sekitar 30-40%, 50-65% pada pasien yang menggunakan gigi tiruan lepas, 65-88% pada orang yang mengonsumsi antibiotik berspektrum luas dalam jangka panjang, dan 95% pada penderita HIV/AIDS (Akpan dan Morgan, 2002). Menurut penelitian Murwaningsih (2012) di RSUP Dr. Sarjito *Candida albicans* ditemukan pada 40% rongga mulut penderita HIV yang terinfeksi kandidiasis (Murwaningsih, 2012).

Hingga saat ini, perawatan kandidiasis oral dilakukan dengan pemberian obat antifungi yang umumnya berasal dari golongan *azole*.

Peningkatan jumlah kasus infeksi yang disebabkan oleh jamur



Candida albicans mengakibatkan terjadinya peningkatan pada penggunaan agen antifungi khususnya dari golongan *azole*. Hal ini menimbulkan konsekuensi klinis tertentu yaitu ditemukannya isolat yang resisten terhadap *azole* sebagai akibat penggunaan *azole* secara luas (Cowen *et.al.*, 2015). Pengobatan akibat resistensi jamur belum terlalu banyak dikembangkan, sedangkan jumlah kasus infeksi semakin meningkat. Sehingga perlu dilakukan eksplorasi bahan baku untuk pengobatan penyakit ini dengan menggunakan bahan alam.

Indonesia merupakan salah satu negara yang memiliki laboratorium tanaman obat terbesar di dunia, sekitar 80% tanaman herbal dunia tumbuh di Indonesia salah satunya yaitu daun tempuyung. Daun tempuyung termasuk dalam famili *asteracea*. Daun tempuyung merupakan salah satu tanaman obat tradisional yang mudah ditemukan serta tumbuh liar di sekitar kita terutama di tempat yang terlindungi sinar matahari dan dekat dengan aliran air (Winarto, 2004). Dikalangan masyarakat, daun tempuyung dipercaya memiliki banyak khasiat diantaranya yaitu untuk mengobati asam urat, penghancur batu ginjal, demam, peradangan, serta memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Wardani, 2008). Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh peneliti lainnya, daun tempuyung memiliki aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dan *Salmonella typhi* (Fariha, 2010; Yanuarisa *et.al.*, 2016). Adapun, senyawa aktif yang terkandung dalam daun tempuyung yaitu flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Hapsari *et. al.*, 2018).

Flavonoid yang terkandung dalam daun tempuyung merupakan senyawa fenolik yang diyakini memiliki aktivitas antimikroba yang



bekerja dengan mengganggu fungsi membran sitoplasma (Tapas *et al.*, 2008). Alkaloid sendiri merupakan suatu golongan senyawa organik terbanyak yang dapat ditemukan di alam dan diketahui memiliki aktivitas antimikroba dengan menghambat ersterase DNA dan juga RNA polimerase, respirasi sel serta interkalasi DNA (Gholib, 2009). Saponin pada daun tempuyung bekerja sebagai antimikroba dengan cara mengganggu kestabilan membran sel bakteri yang menyebabkan sel lisis (Fahrunnida dan Pratiwi, 2015). Sedangkan tanin pada daun tempuyung sebagai antijamur menyebabkan gangguan sintesis komponen penting dinding sel yaitu kitin (Dinastutie *et. al.*, 2015).

Berdasarkan latar belakang yang telah dipaparkan di atas, maka peneliti ingin melakukan penelitian dengan tujuan untuk membuktikan efektivitas ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) sebagai antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas, maka dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

Apakah ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) efektif sebagai antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum dari penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.



1.3.2 Tujuan Khusus

Tujuan khusus dari penelitian ini adalah:

1. Menentukan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.
2. Menentukan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) terhadap jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.
3. Mengetahui hubungan antara pemberian konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) dengan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademis

1. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat sebagai sumber informasi ilmiah mengenai efektivitas ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) terhadap jamur *Candida albicans*.
2. Dapat menjadi bahan pertimbangan bagi penulisan karya ilmiah atau penelitian selanjutnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

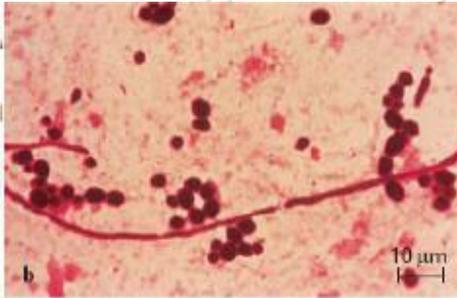
Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat digunakan oleh masyarakat sebagai bahan pertimbangan untuk menggunakan ekstrak etanol daun tempuyung (*Shoncus arvensis L.*) sebagai alternatif obat antifungi khususnya *Candida albicans* pada rongga mulut yang berasal dari bahan alami.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

Gambar 1 Pewarnaan Gram *Candida albicans*: termasuk dalam sel jamur gram positif dilihat menggunakan mikroskop dengan perbesaran 400x.



Sumber: Simatupang, 2009

Candida albicans merupakan jamur yang hidup di dalam tubuh manusia sebagai flora normal dan dapat berubah menjadi jamur yang pathogen bila terdapat faktor resiko. *Candida albicans* pada tubuh manusia banyak tersebar di dalam tubuh terutama pada kulit, saluran genital, saluran napas bagian atas dan saluran pencernaan termasuk rongga mulut (Sardi *et. al.*, 2013).

2.1.1 Taksonomi *Candida albicans*

Taksonomi *Candida* menurut C.P. Robin Berkhout 1923, sebagai berikut (Komariah, 2012):

- Kingdom : Fungi
- Phylum : Ascomycota
- Subphylum : Saccharomycotina
- Class : Saccharomycetes
- Ordo : Saccharomycetales
- Family : Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

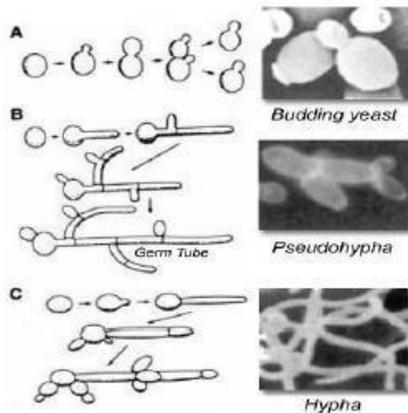
Spesies : *Candida albicans*

Sinonim : *Candida stellatoide* atau *Oidium albicans*

2.1.2 Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans bersifat dimorfik, selain ragi dan pseudohifa, *candida* juga dapat menghasilkan hifa sejati. *Candida* berkembang biak dengan *budding*. *Candida* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang terus memanjang dan membentuk pseudohifa (Simatupang, 2009).

Gambar 2. SEM-image Ilustrasi morfologi *Candida* (a) bentuk spora, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa



Sumber: Henriques, 2006

Candida merupakan jamur yang pertumbuhannya cepat yaitu sekitar 48-72 jam. *Candida* tumbuh optimum pada pH 2,5-7,5 dan temperature berkisar 20°C-38°C. Spesies yang pathogen tumbuh secara mudah pada suhu 25°C-37°C, sedangkan spesies yang saprofit kemampuan tumbuhnya menurun pada suhu yang semakin tinggi.

Candida tumbuh baik pada media padat, namun kecepatan pertumbuhannya lebih tinggi pada media cair. Pertumbuhan *Candida*

juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Kusumaningtyas, 2014).

Morfologi *Candida* pada medium padat agar saboraud dekstrosa dalam 24 jam dengan suhu 37°C menghasilkan koloni lunak berwarna krem yang memiliki bau seperti ragi. Umumnya koloni tersebut berbentuk bulat dengan ukuran $(3,5 - 6) \times (6 - 10) \mu\text{m}$ dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin, kadang sedikit berlipat terutama pada koloni yang telah tua. Besar kecilnya koloni dipengaruhi oleh umur biakan (Brooks *et. al.*, 2008).

2.1.3 Identifikasi *Candida albicans*

Identifikasi spesies dapat dilakukan secara makroskopik dan mikroskopik. Secara makroskopik dapat dilakukan pada media chromogenik (CHROMagar). Pada medium tersebut spesies *Candida* akan membentuk warna koloni yang berbeda. *Candida albicans* membentuk koloni berwarna hijau, *Candida tropicalis* berwarna ungu muda dengan puncak ungu tua, *Candida parasilopsis* berwarna putih, *Candida krusei* berwarna merah muda sampai putih pucat dengan puncak merah muda pucat (Komariah, 2012).

Identifikasi secara mikroskopik morfologik dapat dilakukan dengan menanam jamur pada media tertentu seperti agar tepung jagung, agar tajin, dll. Pada medium tersebut *Candida albicans* membentuk klamidospora terminal yaitu sel ragi yang berukuran besar berdinging tebal dan terletak di ujung hifa. Sedangkan pada medium yang mengandung protein seperti putih telur, pada suhu 37°C selama 1 - 2 jam terjadi pembentukan kecambah dari blastopora.

Karakteristik pembentukan klamidospora dan *germ tube* dapat digunakan untuk membantu identifikasi (Brooks *et. al.*, 2008).

Sedangkan pada identifikasi *Candida albicans* melalui pewarnaan gram, didapatkan sel *Candida albicans* berbentuk *budding yeast cell* berwarna ungu dan bersifat gram positif (Hermiliasari, 2012).

2.1.4 Kolonisasi *Candida albicans*

Kolonisasi *Candida albicans* dalam rongga mulut dibagi dalam beberapa tahapan, yaitu:

a. Tahap Akuisisi

Tahap akuisisi merupakan tahap masuknya sel jamur ke dalam rongga mulut melalui beberapa jalur, misalnya melalui minuman dan makanan yang terkontaminasi oleh *Candida*. *Candida* dapat ditemukan dalam rongga mulut pada saliva dengan kolonisasi dan konsentrasi 300 – 500 sel/ml. Pada saliva, *Candida* menjadikan saliva untuk berperan sebagai media transmisi (Sabila *et. al.*, 2017).

b. Tahap Stabilitas Pertumbuhan

Tahap stabilitas merupakan tahap ketika *Candida* yang telah masuk melalui tahap akuisisi dapat menetap, berkembang, dan membentuk populasi dalam rongga mulut. Hal tersebut berkaitan erat dengan interaksi sel jamur dengan sel epitel rongga mulut hospes. Pergerakan saliva yang terjadi secara terus-menerus mengakibatkan sel *Candida* tertelan bersama saliva dan keluar dari rongga mulut. Jika penghilangan lebih besar dari akuisisi, maka tidak terjadi kolonisasi. Jika penghilangan sama banyak dengan akuisisi, maka untuk terjadi kolonisasi diperlukan faktor predisposisi. Jika penghilangan lebih kecil dari akuisisi, maka *Candida* akan melekat dan bereplikasi (Sabila *et. al.*, 2017).

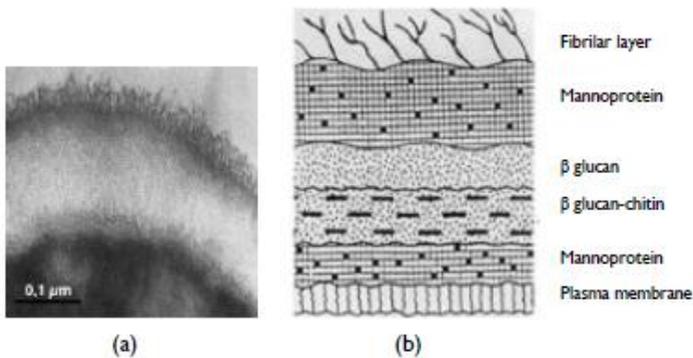


c. Tahap Adesi dan Penetrasi

Adesi yaitu interaksi antara sel *Candida* dengan sel pejamu yang merupakan syarat terjadinya kolonisasi. Interaksi *Candida* dengan hospes dapat terjadi dengan sel epitel, sel endotel, dan sel fagosit.

Kemampuan melekat pada sel inang merupakan tahapan penting dalam kolonisasi dan penetrasi ke dalam sel inang. Dinding sel merupakan bagian pertama *Candida* yang berinteraksi dengan sel inang. Dinding sel *Candida* memiliki enam lapis. Lapisan yang paling luar adalah *fibrillar layer*, kemudian mannoprotein, β -glucan, β -glucan-chitin, mannoprotein dan membran plasma (Kusumaningtyas, 2014). Struktur dinding sel tersebut memiliki peran untuk melindungi sel ragi dari lingkungan yang tidak menguntungkan dan rigiditas yang memberikan bentuk khas yang merupakan karakteristik jamur.

Gambar 3. (a) SEM-image (b) Representasi skema Lapisan dinding sel *Candida*



Sumber: Henriques, 2006

Interaksi *Candida* dengan sel inang dapat terjadi secara spesifik maupun non-spesifik. Interaksi spesifik berhubungan dengan adesi pada permukaan epitel yang kemudian menyebabkan invasi *Candida* ke berbagai permukaan jaringan. Sedangkan interaksi non-spesifik



meliputi hidrofilik atau hidrofobik. Sel *Candida* dapat bersifat hidrofilik atau hidrofobik, tergantung pada komposisi struktur protein pada dinding sel. Ketika sel *Candida* bersifat hidrofobik, maka *Candida* akan bersifat virulen dengan mengikat secara difus di permukaan sel hospes (Komariah, 2012).

2.1.5 Patogenitas dan Virulensi *Candida albicans*

Virulensi *Candida* meliputi semua faktor yang mempengaruhi interaksi dengan hospes. Bentuk jamur di dalam tubuh di anggap dapat dihubungkan dengan sifat jamur, yaitu sebagai saprofit tanpa menyebabkan kelainan. Bentuk blastopora diperlukan untuk memperbanyak populasi dan memulai suatu lesi pada jaringan, sesudah terjadi lesi dibentuklah hifa yang dapat melakukan penetrasi lebih dalam. Dengan proses tersebut terjadilah reaksi radang. Adapun faktor yang berperan pada patogenitas dan virulensi adalah (Henriques, 2006):

a. Dinding Sel

Dinding sel merupakan komponen yang berperan penting pada virulensi karena merupakan bagian yang berinteraksi langsung dengan sel hospes dan mampu berperan sebagai immunomodulator. Immunomodulator yaitu kemampuan potensial *Candida* merangsang sistem imun hospes dengan jalan meningkatkan atau menurunkan reaksi imun pejamu. Zat yang terdapat dalam dinding sel *Candida* seperti kitin, glukon, dan mannoprotein mampu merangsang respons imun rongga mulut (Henriques, 2006).

b. Sekresi Protein

Protein yang ditemukan pada medium pertumbuhan disebut protein ekstraselular. Pada *Candida*, protein ekstraselular yang



penting adalah *secreted aspartyl proteinase* (SAP) dan *phospholipase* (pl). SAP menekan produksi protein hospes yang berperan pada imunitas seperti albumin, hemoglobin, keratin, dan sekresi IgA. Terdapat 10 gen SAP yang telah diidentifikasi pada *Candida* dan aktivitas proteolitik dari enzim ini dihubungkan dengan invasi ke dalam jaringan. Enzim *phospholipase* merupakan salah satu faktor yang memberikan kontribusi dalam mempertahankan infeksi (Henriques, 2006).

c. Sifat dimorfik *Candida*

Sifat dimorfik yaitu kemampuan *Candida* berubah menjadi bentuk pseudohifa. Sifat morfologis yang dinamis merupakan cara untuk beradaptasi dengan keadaan sekitar. *Candida* memiliki dua bentuk utama yaitu bentuk ragi (blastopora) dan bentuk pseudohifa/hifa. Dalam keadaan patogen, bentuk pseudohifa dan hifa memiliki peran penting pada proses penetrasi dibandingkan dengan bentuk spora karena bentuk pseudohifa dan hifa memiliki kemampuan penetrasi yang lebih tinggi dibandingkan dengan bentuk spora (Henriques, 2006).

d. Pembentukan Biofilm

Biofilm adalah kesatuan dari permukaan sel mikroba yang dilingkupi oleh matriks substansi polimerik ekstraseluler (Homonta, 2016). Biofilm merupakan kelanjutan dari tahap adhesi yang melekat pada permukaan gigi atau permukaan struktur keras lain di rongga mulut. Infeksi biofilm dapat disebabkan oleh mikroba tunggal maupun campuran bakteri dan jamur. Pada rongga mulut, plak merupakan deposit lunak yang melekat pada permukaan gigi dan gusi serta permukaan keras lainnya. Bentuk sel *Candida* baik bentuk yang ragi



maupun hifa memiliki kemampuan untuk membentuk formasi biofilm. Formasi biofilm *Candida* pada rongga mulut terjadi dalam tiga fase perkembangan yaitu fase awal terjadi selama 0-11 jam, fase intermedia 12-30 jam dan fase matur terjadi selama 38-72 jam (Komariah, 2012).

2.1.6 Faktor yang Mempengaruhi Pertumbuhan *Candida albicans* pada Rongga Mulut

Pertumbuhan *Candida* dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya (Scully, 1994):

a. Saliva

Kualitas, kuantitas, dan unsur yang terkandung dalam saliva memiliki peran penting dalam modulasi populasi *Candida* dalam rongga mulut. Menurunnya kadar saliva dan tidak adanya antifungal dalam saliva seperti laktoferin dan lisosim dapat berpotensi meningkatkan jumlah *Candida* dalam rongga mulut pada pasien xerostomia.

b. Keasaman/pH

Kondisi pH yang menurun mendukung pertumbuhan dan kolonisasi *Candida*, hal tersebut disebabkan karena jamur tumbuh efektif dalam keadaan asam dengan 2,5 – 7,5.

c. Bakteri Rongga Mulut

Keberadaan flora normal rongga mulut merupakan bagian penting dalam menghambat pertumbuhan jamur. Interaksi mikroorganisme berupa kompetisi nutrisi, perubahan dalam lingkungan mikro, pengembangan toksin dan hasil produk metabolik. Flora normal bakteri dapat menurunkan kolonisasi *Candida* dengan jalan kompetisi untuk melekat pada sel epitel rongga mulut.

d. Temperatur

Suhu lingkungan diketahui memiliki pengaruh dalam pertumbuhan jamur dimorfik termasuk *Candida*. Kemampuan *Candida* untuk tumbuh pada suhu 37°C menunjukkan bahwa *Candida* dapat bersifat patogen.

e. Glukosa

Keberadaan karbohidrat dalam jumlah besar merupakan salah satu penyebab kolonisasi jamur. Glukosa merupakan bahan dasar pembentukan mannoprotein yang merupakan bagian dari dinding sel *Candida* yang dapat meningkatkan daya adhesi dan produksi asam yang menurunkan pH rongga mulut.

2.2 Oral Candidiasis

Oral candidiasis merupakan infeksi oportunistik yang paling sering dijumpai di rongga mulut disebabkan oleh infeksi jamur *Candida albicans*. Prevalensi oral candidiasis pada manusia yang sehat tanpa gejala yaitu sekitar 20%-75% sebagai karier organisme. *Candida albicans* merupakan mikroorganisme normal yang berada di mulut dan umumnya tidak menyebabkan masalah pada manusia yang sehat. Namun, pertumbuhan *Candida* yang berlebihan dapat menyebabkan ketidaknyamanan serta sensasi rasa yang berubah pada rongga mulut penderita (Akpan dan Morgan, 2002). Secara umum presentasi klinis dari oral candidiasis terbagi menjadi beberapa macam yang berbeda yaitu kandidiasis pseudomembranosa, kandidiasis atropik, kandidiasis hiperplastik, kandidiasis eritematosa, dan angular cheilitis (Hakim dan Ramadhian, 2015).



2.2.1 Kandidiasis Pseudomembranosa

Gambar 4. Kandidiasis Pseudomembranosa



Sumber: Greenberg *et. al.*, 2008

Kandidiasis pseudomembranosa secara umum dikenal sebagai *thrush*. Infeksi sering kali terjadi pada pasien dengan penggunaan obat antibiotik, obat immunosupresan, atau penyakit yang menghambat sistem imun (Greenberg *et. al.*, 2008). Secara klinis kandidiasis pseudomembranosa tampak bercak putih seperti krim dengan sedikit menonjol dan dapat diseset. Sering ditemukan pada mukosa pipi, palatum mole, lidah, dan bibir. Adapun gejala yang sering timbul pada pasien yaitu xerostomia, sensasi terbakar, dan gangguan pengecapan (Laskaris, 2013).

2.2.2 Kandidiasis Eritematosa

Gambar 5. Kandidiasis Eritematosa



Sumber: Neville *et. al.*, 2002

Kandidiasis eritematosa dikenal juga sebagai kandidiasis atropik akut (Neville *et.al.*, 2002). Berbeda dengan bentuk kandidiasis pseudomembran, penderita kandidiasis eritematosa tidak ditemui adanya plak putih. Lesi ini dapat terjadi dimana saja dalam rongga mulut, namun daerah yang paling sering terkena yaitu lidah, mukosa bukal, dan palatum (Hakim dan Rahadhian, 2015). Pada pasien yang mengalami kandidiasis eritematosa biasanya disertai dengan sensasi terbakar pada mulut atau lidah, dapat juga disertai dengan hilangnya papilla filiformis pada dorsal lidah (Greenberg *et. al.*, 2008).

2.2.3 Kandidiasis Atropik Kronik

Gambar 6. Kandidiasis Atropik Kronik



Sumber: Neville *et. al.*, 2002

Kandidiasis atropik dikenal juga sebagai *denture stomatitis* ditandai dengan eritema kronis lokal dari jaringan yang tertutup oleh gigi tiruan (Akpan dan Morgan, 2002). Lesi sering ditemukan pada pasien dengan penggunaan gigi tiruan secara terus-menerus dalam jangka waktu yang lama dan biasanya terdapat pada palatum. Lesi biasanya asimtomatik (Laskaris, 2013).

2.2.4 Kandidiasis Hiperplastik

Gambar 7. Kandidiasis Hiperplastik



Sumber: Akpan dan Morgan, 2002

Kandidiasis hiperplastik dikenal juga sebagai leukoplakia *candida*. Biasanya ditandai dengan adanya plak putih yang tidak dapat dibersihkan (Hakim dan Ramadhian, 2015). Kandidiasis hiperplastik sering ditemui pada mukosa bukal atau perbatasan ujung lidah sebagai lesi putih berbintik-bintik (*speckled*) atau homogen (Akpan dan Morgan, 2002). Lesi ini merupakan lesi pra kanker. Adapun faktor predisposisi yang penting pada lesi yaitu tembakau dan alkohol (Laskaris, 2013).

2.2.5 Median Rhomboid Glossitis

Gambar 8. Median Rhomboid Glossitis



Sumber: Greenberg *et. al.*, 2008

Median rhomboid glossitis merupakan daerah berbentuk rhomboid atau oval yang berwarna merah di lidah yang berasal dari infeksi *Candida albicans* yang kronis (Langlais *et. al.*, 2013). *Median rhomboid glossitis* memiliki ciri sebagai eritema halus berbatas jelas di pertemuan dua pertiga anterior dan sepertiga posterior lidah (Lewis dan Jordan, 2015). *Median rhomboid glossitis* mudah dikenali melalui gambaran klinisnya, lesi yang khas, dan sifatnya yang asimtomatik (Langlais, *et. al.*, 2013).

2.2.6 Angular Cheilitis

Gambar 9. Angular Cheilitis



Sumber: Greenberg *et. al.*, 2008

Angular cheilitis merupakan infeksi pada sudut bibir ditandai dengan eritema, maserasi, fisura, erosi, dan krusta. (Laskaris, 2013). Kekurangan zat besi dan Vitamin B12 serta kehilangan dimensi vertikal diduga dapat menyebabkan angular cheilitis (Greenberg *et. al.*, 2008). Pada pasien yang mengalami angular cheilitis sering kali mengalami rasa terbakar dan rasa kering pada sudut bibir (Laskaris, 2013).

2.3 Pengobatan Infeksi *Candida albicans*

Terapi untuk mengobati infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans* yaitu dengan menghilangkan faktor predisposisi, lokal, dan sistemik. Infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* juga dapat diobati dengan *nystatin* topikal, gentian violet, ketokonazol atau *fluconazole*. Kebersihan mulut dapat dijaga dengan menyikat gigi maupun menyikat daerah bukal dan lidah dengan sikat yang lembut. Pada pasien yang memakai gigi tiruan harus direndam dalam larutan pembersih seperti klorheksidin, hal ini lebih efektif dibandingkan dengan hanya menyikat gigi tiruan, karena permukaan gigi tiruan yang tidak rata dan porus menyebabkan *Candida* mudah melekat, dan jika hanya menyikat gigi tiruan tidak dapat menghilangkannya (Akpan dan Morgan, 2002). Pada kandidiasis mukokutan kronis merespon ketokonazol dan azol-azol lainnya dengan baik, tetapi pasien mengalami defek genetik dan sering membutuhkan pengobatan jangka panjang.

2.4 Antifungi

Antifungi merupakan suatu senyawa yang dapat digunakan untuk mengobati penyakit yang disebabkan oleh jamur atau fungi. Biasanya antifungi diberikan secara topikal meskipun ada kalanya



diberikan secara oral ataupun infus. Menurut mekanisme kerjanya antifungi dapat dibedakan menjadi beberapa golongan, diantaranya yaitu (Katzung *et. al.*, 2012):

a. Golongan Polyene

Golongan polyene merupakan antibiotik yang diproduksi oleh *Streptomyces nodosus* yang secara aktif menghambat organisme yang membran selnya mengandung sterol. Antibiotik ini bekerja dengan mengikat sterol pada membran plasma fungi, sehingga membran plasma sel menjadi sangat permeabel dan sel menjadi mati. Contoh antifungi golongan ini yaitu amphotericin B, *nystatin*, *candicin*.

b. Golongan Azol

Merupakan antifungi yang paling banyak ditemukan di Indonesia, golongan azol berhubungan dengan sintesis sterol, bekerja dengan cara menghambat α -lanosterol 14 demethylase. Contoh obat jamur golongan azol yaitu imidazol dan triazol. Contoh dari imidazol yaitu klotrimazol, mikonazol, dan ketokonazol, sementara contoh triazol adalah itrakonazol dan *fluconazole*.

c. Golongan Echinocandins

Bekerja dengan menghambat sintesa *glucan* dalam dinding sel. Contoh obat jamur golongan echinocandins yaitu caspofugin.

d. Griseofulvin

Griseofulvin merupakan antifungi yang diproduksi oleh *Penicillium*. Griseofulvin mengikat keratin pada kulit, folikel rambut, dan kuku dengan cara mengblok penggabungan mikrotubul pada mitosis sehingga menghambat reproduksi fungi. Griseofulvin efektif terhadap berbagai jenis jamur dermatofit. Terhadap sel muda yang



sedang berkembang, griseofulvin bersifat fungisidal. Obat ini tidak efektif terhadap bakteri, jamur lain dan ragi.

2.5 Uji Aktivitas Antifungi

Uji aktivitas antifungi sama seperti uji antimikroba lainnya, dalam bidang kedokteran digunakan untuk mengetahui antimikroba yang tepat dalam mengobati infeksi. Uji kepekaan terhadap antimikroba dapat dilakukan secara *in vitro* dengan salah satu dari dua metode utama, yaitu dilusi dan difusi (Brooks *et. al.*, 2008).

2.5.1 Metode Dilusi

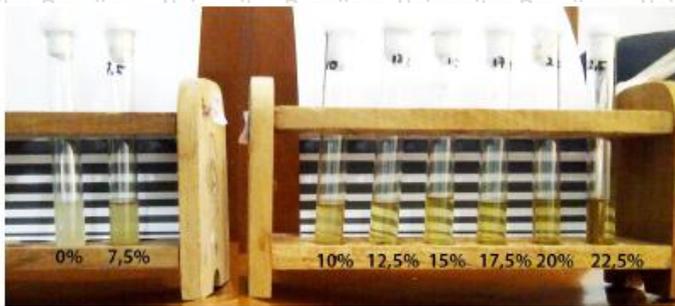
Metode dilusi bertujuan untuk mengetahui seberapa banyak jumlah zat antimikroba yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba yang di uji (Brooks *et. al.*, 2008). Metode dilusi terdiri dari dua teknik yaitu dilusi tabung dan agar.

2.5.1.1 Metode Dilusi Tabung

Metode ini bertujuan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) suatu antimikroba menggunakan media cair (Brooks *et. al.*, 2008). Dilusi tabung terdiri dari makrodilusi dan mikrodilusi. Pada prinsipnya, pengerjaan keduanya sama yaitu dengan menggunakan satu seri tabung reaksi dan sejumlah sel mikroba yang di uji. Kemudian masing-masing tabung diisi antimikroba yang telah di encerkan secara serial, selanjutnya seri tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam dan diamati kekeruhannya pada tabung, yang membedakan hanya pada volume cairan yang digunakan. Makrodilusi menggunakan volume lebih dari 1 ml, sedangkan mikrodilusi menggunakan volume 0,05 – 0,1 ml (Soleha, 2015).



Gambar 10. Dilusi Tabung untuk Menentukan KHM dengan bantuan garis hitam dibelakang tabung



Sumber: Noorhamdani *et. al.*, 2017

Pada dilusi tabung, pengamatan untuk menentukan KHM dilakukan dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diletakkan tepat dibelakang tabung (Noorhamdani *et. al.*, 2017). Tabung reaksi yang mulai tampak jernih dengan konsentrasi antimikroba terendah merupakan KHM (Kadar Hambat Minimum) dari antimikroba tersebut (Dzen, 2010). Biakan dari semua tabung yang jernih kemudian ditanam pada media agar, lalu diinkubasi semalam pada suhu 37°C dan keesokan harinya dilakukan penghitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dengan *colony counter*. KBM (Kadar Bunuh Minimum) dari suatu antimikroba adalah ketika konsentrasi terendah antimikroba pada biakan padat tidak menunjukkan adanya pertumbuhan mikroba atau memenuhi syarat KBM yaitu $< 0,1\%$ dari *Original Inoculum*. *Original Inoculum* didapatkan dari biakan bakteri yang tidak diberikan perlakuan. (Noorhamdani *et. al.*, 2017).

2.5.1.2 Metode Dilusi Agar

Pada prinsipnya metode ini sama dengan metode dilusi tabung, hanya saja yang membedakan yaitu pada dilusi agar menggunakan medium padat. Antibakteri dimasukkan ke dalam cawan yang berisi agar kemudian dimasukkan ke dalam kulkas pada suhu 5°C hingga siap digunakan. Pada hari perlakuan, agar ditetesi inokulum bakteri sebanyak 0,001 ml dengan pipet. Kemudian cawan petri di inkubasi dengan suhu 35°C. Pertumbuhan bakteri dapat diamati setelah 16-18 jam (Forbes *et. al.*, 2007). Kekurangan dari metode ini yaitu hanya dapat digunakan pada kondisi tertentu yang spesifik dan membutuhkan waktu yang lama (Brooks *et. al.*, 2008).

2.5.2 Metode Difusi

2.5.2.1 Metode Difusi Cakram

Prinsip dari metode difusi cakram yaitu sejumlah antimikroba tertentu dibubuhkan ke cakram kertas. Kemudian cakram kertas yang telah mengandung antimikroba ditanam pada medium padat yang telah ditanami mikroba yang diuji. Lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18 – 24 jam. Selanjutnya diamati adanya zona jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen, 2010). Adapun untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut, dapat dilakukan dengan cara dua cara yaitu:

a. Cara Kirby Bauer

Cara Kirby bauer yaitu dengan membandingkan diameter dari area jernih disekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (*National Committee for Clinical Laboratory Standard*)



untuk dapat mengetahui kriteria sensitif, sensitif intermediet, dan resisten.

b. Cara Joan-Stokes

Cara Joan-Stokes yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang telah diketahui sensitivitasnya terhadap suatu antimikroba dengan isolat bakteri yang diuji.

2.5.2.2 Cara Sumuran

Metode ini serupa dengan metode Kirby-Bauer, setelah bakteri dioleskan pada permukaan media agar hingga merata, dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu, lalu kemudian di dalamnya ditetaskan larutan uji, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, lalu diamati zona hambatnya (Misna dan Diana, 2016).

2.5.2.3 E-Test

Metode ini digunakan untuk mengetahui KHM. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroorganismenya. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganismenya pada media agar (Myrna, 1998).

2.6 Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Tempuyung merupakan tumbuhan yang bergetah dan tumbuh liar di tempat terbuka yang terlindungi atau sedikit terkena sinar matahari dan perkembangbiakannya menyebar. Tanaman tempuyung termasuk ke dalam tanaman tema tahunan dari suku *asteraceae* dan tumbuh baik pada ketinggian 20-1.600 mdpl. Selain itu, tempuyung dapat hidup di daerah yang terbuka atau sedikit tertutup. Daerah yang memiliki iklim hujan yang merata sepanjang tahun atau yang beriklim



kemarau juga dapat sebagai tempat tumbuh tanaman tempuyung (Winarto, 2004).

2.6.1 Taksonomi Daun Tempuyung

Gambar 11. Daun Tempuyung



Sumber: Muhlisah, 2007

Tanaman tempuyung diklasifikasikan sebagai berikut

(Winarto, 2004):

- Kingdom : Plantae (tumbuh-tumbuhan)
- Divisi : Spermatophita (tumbuhan berbiji)
- Subdivisi : Angiospermae (berbiji tertutup)
- Kelas : Angiospermae (biji tertutup)
- Ordo : Asterales
- Famili : Asteraceae (aster-asteran)
- Genus : *Sonchus* L
- Spesies : *Sonchus arvensis* L

2.6.2 Morfologi Daun Tempuyung

Tanaman tempuyung merupakan jenis tanaman terna menahun yang memiliki tinggi sekitar 0,6-2 m. Tempuyung memiliki dua jenis yaitu tempuyung yang berukuran kecil disebut tempung, sedangkan tempuyung yang berukuran besar disebut rayana. Batang tempuyung berbentuk bulat, berongga, berusuk, dan bergetah putih. Daunnya berupa daun tunggal dan berbentuk lonjong. Memiliki panjang daun sekitar 6-48 cm dan lebarnya 3-12 cm. bagian daun yang mengarah ke pangkal mempunyai lekuk-lekuk yang menyempit. Bunganya merupakan bunga majemuk yang berbentuk bonggol yang bertangkai panjang dan berukuran kecil. Memiliki warna kuning cerah yang akan berubah menjadi merah kecoklatan. Buahnya ber tekstur keras, pipih, dan berwarna kecoklatan. Selain itu, tanaman tempuyung memiliki akar tunggang yang kokoh (Muhlisah, 2007).

2.6.3 Senyawa Fitokimia

Berdasarkan hasil skrinning fitokimia yang dilakukan oleh Hapsari dan kawan-kawan (2018) diperoleh hasil bahwa pada serbuk simplisia daun tempuyung dan ekstrak etanol daun tempuyung mengandung senyawa alkaloid, saponin, tanin, dan flavonoid. Senyawa tersebut telah diteliti memiliki kemampuan sebagai antibakteri, antijamur, dan antivirus (Tapas *et. al.*, 2008).



Gambar 12. Hasil Skrining Fitokimia terhadap Simplisia Serbuk dan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung

No.	Pemeriksaan	Hasil	
		Serbuk Simplisia	Ekstrak Etanol
1	Alkaloid	+	+
2	Flavonoid	+	+
3	Glikosida	+	+
4	Saponin	+	+
5	Tanin	+	+
6	Steroid/triterpenoid	+	+

Sumber: Hapsari *et. al.*, 2018

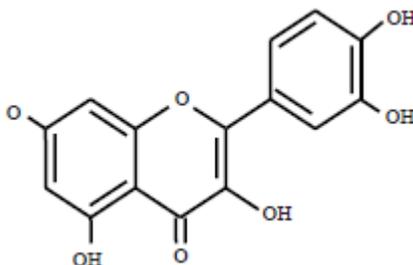
2.7 Daya Antijamur Daun Tempuyung

Flavonoid merupakan senyawa polar yang mudah larut dalam pelarut polar seperti etanol, methanol, butanol, dan aseton (Markham, 2006). Flavonoid merupakan suatu kelompok senyawa fenol terbesar yang dapat ditemukan di alam. Senyawa tersebut dapat ditemukan pada batang, daun, bunga, dan buah. Pada tumbuhan, senyawa flavonoid tidak hanya memiliki peran sebagai pigmen pemberi warna pada bunga, daun, dan buah saja, namun juga sangat penting bagi pertumbuhan, perkembangan, dan pertahanan tumbuhan, misalnya sebagai enzim inhibitor, prekursor bahan toksik, melindungi tumbuhan dari bakteri, virus, radikal bebas, dan radiasi sinar ultraviolet (Sabir, 2003).

Senyawa Flavonoid tidak hanya penting untuk tumbuhan, namun juga untuk manusia. Senyawa flavonoid diketahui memiliki manfaat sebagai antioksidan, antiinflamasi, antialergi, antitrombotik, antivirus, dan antikarsinogenik (Tapas *et. al.*, 2008). Senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun tempuyung merupakan senyawa fenolik yang mampu berinteraksi dengan protein membran sel, sehingga menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein

membran sel. Kerusakan pada membran sel tersebut menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur (Setyowati *et. al.*, 2013).

Gambar 13. Struktur Flavonoid



Sumber: Redha, 2010

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik terbanyak yang dapat ditemukan di alam. Alkaloid berasal dari tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan. Umumnya, alkaloid dapat ditemukan pada biji, daun, ranting, dan kulit batang (Lenny, 2006). Alkaloid bersifat polar, sehingga dapat terikat dalam pelarut etanol (Titis, 2013). Menurut Aniszewski (2007) senyawa alkaloid diketahui memiliki aktivitas antimikroba dengan menghambat esterase juga DNA dan RNA polimerase, respirasi sel serta interkalasi DNA (Gholib, 2009). Sebagai antijamur, alkaloid menyebabkan kerusakan membran sel. Alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang yang menyebabkan kebocoran membran sel. Hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel (Mycek dan Setiabudy dalam Bhaskara, 2012).

Saponin merupakan senyawa semi polar yang dapat larut dalam lipid dan air. Menurut Katzung dalam Hartini (2012), saponin



memiliki tegangan permukaan yang kuat yang berperan sebagai antimikroba dengan mengganggu kestabilan membran sel bakteri yang menyebabkan sel lisis (Fahrunnida dan Pratiwi, 2015). Sebagai antifungi, saponin menghambat atau membunuh jamur dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Saponin menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel, sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat menyebabkan cairan intraseluler yang lebih pekat seperti nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, serta protein dalam sel tertarik keluar dan jamur mengalami kematian (Hardiningtyas dalam Silvia, 2015).

Tanin merupakan suatu senyawa fenol yang memiliki bobot molekul mulai dari 500 sampai 3000 Da yang dapat ditemukan pada daun, kulit, buah, batang dan juga akar (Hassanpour *et. al.*, 2011). Tanin terdiri dari dua jenis yaitu tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Kedua jenis tanin tersebut terdapat dalam tumbuhan, namun yang paling dominan dalam tanaman yaitu tanin terkondensasi (Hayati *et. al.*, 2010). Menurut Hayati (2009), tanin memiliki sifat antibakteri terhadap bakteri *Escheria coli*, *Staphylococcus aureus*. Sebagai antijamur, tannin bekerja dengan cara menghambat sintesis komponen penting yang terdapat dalam dinding sel yaitu kitin. Gangguan tersebut menyebabkan ikut rusaknya sifat permeabilitas membran sel karena dinding sel sebagai pelindung telah rusak yang menyebabkan masuknya nutrisi dan enzim yang tidak terseleksi (Dinastutie *et.al.*, 2015).



2.8 Ekstraksi Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Ekstraksi merupakan sebuah proses penarikan senyawa metabolit sekunder dengan bantuan pelarut. Adapun, metode ekstraksi yang digunakan yaitu metode maserasi. Keuntungan penggunaan metode maserasi yaitu lebih praktis, tidak memerlukan pemanasan, tetapi waktu yang dibutuhkan relative lama (Putra *et. al.*, 2014). Metode maserasi merupakan cara sederhana yang dapat dilakukan dengan cara merendam simplisia dalam pelarut. Kemudian, hasil rendaman dimaserasi dan disaring dengan kertas penyaring. Remaserasi dilakukan hingga ekstrak tampak jernih. Maserat yang dihasilkan kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* dan diuapkan hingga menjadi ekstrak yang diinginkan (Sa'adah *et. al.*, 2017).

Pelarut yang dapat digunakan dalam metode maserasi diantaranya yaitu etanol, methanol, n-heksanam dan aseton (Marnoto *et. al.*, 2012). Etanol yaitu pelarut yang bersifat non polar dan OH merupakan gugus yang bersifat polar, sehingga pelarut etanol dapat menarik kandungan kimia yang bersifat polar maupun non polar (Aziz *et. al.*, 2009). Selain itu, ekstraksi dengan menggunakan pelarut etanol lebih baik dibandingkan dengan methanol, n-heksana, dan juga aseton karena etanol tidak beracun, netral, serta absorpsinya baik (Sa'adah dan Nurhasnawati, 2015).



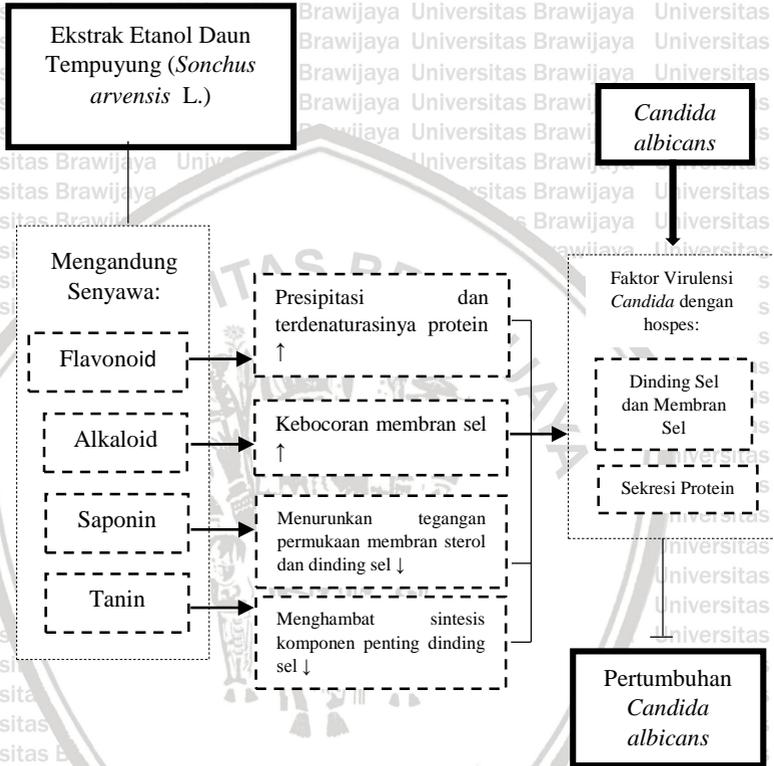


BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

3.1 Kerangka Konsep

Gambar 14. Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:

- : Diteliti
- : Tidak diteliti
- : Mempengaruhi
- : Dipengaruhi
- : Menghambat

Oral candidiasis merupakan suatu penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur *Candida albicans*. *Candida albicans* berinteraksi

dengan hospes melalui ikatan adhesi pada permukaan epitel. Adapun faktor yang berperan penting dalam virulensi *Candida* dengan hospes yaitu dinding sel, membran sel dan sekresi protein. Ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) diketahui memiliki kandungan senyawa yang dapat berfungsi sebagai antifungi seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tannin. Flavonoid bekerja sebagai antifungi dengan cara berinteraksi dengan protein membran sel melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen dengan cara terikat pada bagian hidrofilik dari membran sel. Kompleks protein-senyawa fenolik membentuk ikatan yang lemah, sehingga akan segera mengalami peruraian yang diikuti penetrasi senyawa fenolik ke dalam membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel. Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur (Setyowati *et.al.*, 2013).

Alkaloid bekerja sebagai antifungi dengan cara berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang yang menyebabkan kebocoran membran sel. Hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel (Mycek dan Setiabudy dalam Bhaskara, 2012). Saponin menghambat atau membunuh jamur dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Kemudian saponin menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel, sehingga permeabilitasnya meningkat. Permeabilitas yang meningkat menyebabkan cairan intraseluler yang lebih pekat seperti nutrisi, zat-zat metabolisme, enzim, serta protein dalam sel tertarik keluar dan jamur mengalami kematian (Hardiningtyas dalam Silvia, 2015).

Sedangkan tanin bersifat menghambat sintesis komponen penting

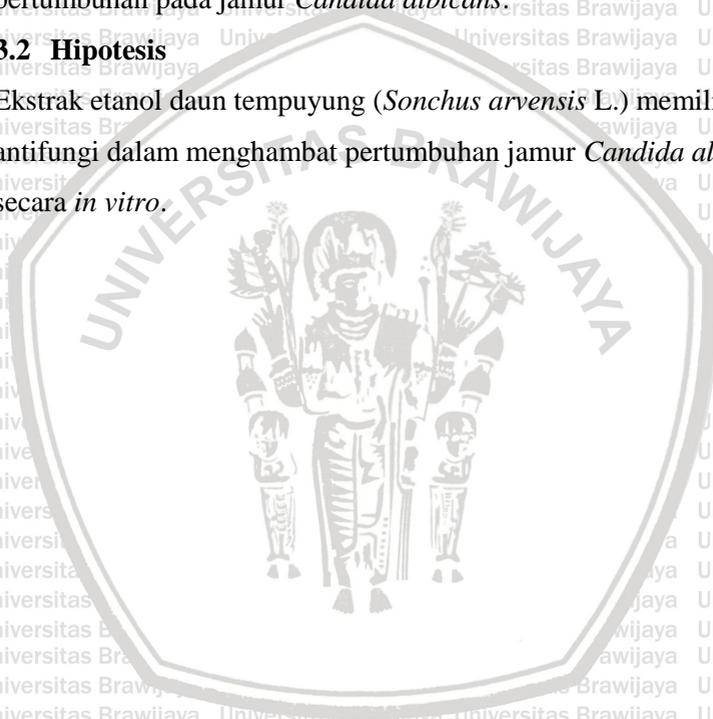


dinding sel yaitu kitin. Gangguan sintesis kitin dapat menyebabkan ikut rusaknya sifat permeabilitas membran sel karena dinding sel sebagai pelindung telah rusak yang menyebabkan masuknya nutrisi dan enzim yang tidak terseleksi (Dinastutie *et. al.*, 2015).

Candida albicans dengan pemberian ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) akan menyebabkan hambatan pertumbuhan pada jamur *Candida albicans*.

3.2 Hipotesis

Ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki efek antifungi dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.





BAB IV METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Desain yang digunakan dalam penelitian ini adalah *post test only control group design*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorik, penelitian yang dilakukan adalah *true* eksperimental yaitu menguji efektivitas antifungi dari ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.

4.2 Tempat dan Waktu Pelaksanaan

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan November 2018 sampai Januari 2019.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel mikroba yang digunakan pada penelitian ini adalah *Candida albicans* yang diambil dari isolat di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Adapun, sampel daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) didapatkan dari UPT, Matera Medika, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur.

4.4 Estimasi Pengulangan Sampel

Dasar penghitungan menggunakan rumus Federer (Candrasari *et. al.*, 2012), sebagai berikut:

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

Keterangan:

n = Jumlah pengulangan

t = Jumlah perlakuan



Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), satu kontrol bahan dan satu kontrol jamur, maka didapatkan jumlah pengulangan sebagai berikut:

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

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21 ; n \geq 3,5 \approx 4$$

Berdasarkan penghitungan di atas, maka dalam penelitian ini akan diberikan 7 macam perlakuan dan 4 kali pengulangan.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan konsentrasi ekstrak yaitu 60%, 70%, 80%, 90%, 100%.

4.5.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan jamur *Candida albicans* setelah pemberian ekstrak etanol daun tempuyung.

4.6 Definisi Operasional

Tabel 1. Definisi Operasional

No.	Variabel	Definisi Operasional	Metode	Skala Data
1.	Ekstrak etanol daun tempuyung	Hasil ekstraksi daun tempuyung dengan metode	didapat dari metode maserasi yaitu cara	Rasio



	(<i>Sonchus arvensis</i> L.),	maserasi menggunakan pelarut etanol 96%.	ekstraksi sederhana dengan merendam serbuk yang disatukan dengan bahan pengekstraksi selama beberapa hari lalu kemudian di evaporasi. Konsentrasi awal ekstrak etanol daun tempuyung yang digunakan yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%.	
2.	Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> .	Isolat <i>Candida albicans</i> adalah <i>Candida albicans</i> yang ditanam pada agar miring SDA (tempat untuk memperbanyak biakan) dan selanjutnya isolat tersebut ditanam pada SDA <i>plate</i> untuk	Metode yang digunakan yaitu dilusi tabung untuk menentukan KHM dan KBM. Pengamatan KHM dilakukan dengan cara mengamati tingkat kekeruhan pada masing-masing	Ordinal



<p>digunakan dalam penelitian. Pada pewarnaan gram <i>Candida albicans</i> tercat ungu (Gram Positif) dan uji <i>germinating tube</i> memiliki bentuk khas yaitu pseudohifa.</p>	<p>tabung yang dibantu dengan kertas putih bergaris-garis hitam yang diletakkan tepat dibelakang tabung. Sedangkan pengamatan KBM dilakukan dengan penghitungan jumlah koloni pada masing-masing konsentrasi dengan <i>colony counter</i>.</p>
--	--

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Daun

Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Alat ekstraksi daun tempuyung yaitu:

1. Toples bertutup
2. Corong
3. Gelas Timbangan analitik
4. Gelas ukur
5. Botol Waterbath
6. Erlenmeyer



7. Rotary Evaporator Beaker Glass

8. Alkoholmeter

9. Shaker Digital

Bahan ekstraksi daun tempuyung, yaitu:

1. Daun Tempuyung

2. Etanol 96%

3. Penyaring

4.7.2 Alat dan Bahan Kultur *Candida albicans*

Alat: lampu spiritus, korek api, ose inkubator, lemari pendingin. Bahan: biakkan *Candida albicans* pada agar miring SDA No. 91% Spt. Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, SDA Plate.

4.7.3 Alat dan Bahan Pewarnaan Gram

Alat: gelas obyek, gelas penutup, lampu spiritus, korek api, ose, mikroskop. Bahan: suspense *Candida albicans*, kertas penghisap atau tissue, bahan pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, alcohol 96%, dan safranin).

4.7.4 Alat dan Bahan Uji Germinating Tube

Alat: gelas obyek, gelas penutup, lampu spiritus, korek api, ose, tabung reaksi, mikroskop, inkubator. Bahan: isolat jamur *Candida albicans*, plasma.

4.7.5 Alat dan Bahan Uji Dilusi Tabung

Alat: rak kayu, tabung reaksi, pipet steril, ukuran 1 ml dan 10 ml, karet penghisap, inkubator, lampu spiritus, vortex. Bahan: ekstrak daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.), korek api, kapas steril, inoculum *Candida albicans*, aquadest steril.



4.7.6 Alat dan Bahan Uji Agar Plate

Alat: ose, lampu spiritus, colony counter, *Saboraud Dextrose* Agar (SDA).

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) (Sa'adah *et. al.*, 2017)

Prosedur ekstraksi daun tempuyung menurut Laboratorium:

1. Menimbang serbuk daun tempuyung sebanyak 238 gram.
2. Setelah itu lakukan pembasahan dengan menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 500ml.
3. Masukkan serbuk yang sudah dibasahi dengan pelarut ke dalam toples lalu diratakan dan ditambahkan pelarut etanol 96% sampai terendam (pelarut yang digunakan minimal 2 kali berat atau lebih). Jumlah pelarut yang ditambahkan ke dalam toples yaitu sebanyak 1.5 L, setelah itu tutup toples dengan rapat selama 24 jam lalu dishaker di atas shaker digital dengan kecepatan 50 rpm.
4. Saring ekstrak cair dengan menggunakan penyaring kain lalu ekstrak ditampung di dalam Erlenmeyer.
5. Ampas akan dimasukkan lagi ke dalam toples dan ditambahkan pelarut sampai terendam (minimal pelarut 5cm di atas permukaan) dalam hal ini digunakan 1L.
6. Didiamkan selama 24 jam di atas shaker dengan kecepatan 50rpm.
7. Remaserasi dilakukan sampai filtrat/ekstrak lebih jernih dengan menggunakan 1L pelarut.

8. Hasil ekstrak cair pertama sampai dengan yang terakhir dijadikan satu kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dan diperlukan waktu 5 jam untuk evaporasi.
9. Ekstrak yang dihasilkan lalu dievaporasi/diuapkan di atas *waterbath* selama 2 jam.

4.8.2 Kultur *Candida albicans* (Harriot dan Noverr, 2009)

Dilakukan pembuatan kultur *Candida albicans* pada SDA plate, dengan cara:

1. Koloni jamur yang berasal dari biakkan persediaan kultur Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya diambil dengan menggunakan ose steril.
2. Koloni pada ose ditanamkan ke SDA plate.
3. Pada suhu 37° C, SDA plate tadi diinkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam.
4. Koloni *Candida albicans* yang telah tumbuh pada SDA plate diperhatikan karakteristiknya kemudian dilakukan pewarnaan Gram dan uji germinating tube terhadap koloni *Candida albicans*.
5. Kultur jamur *Candida albicans* siap digunakan sebagai bahan penelitian.

4.8.3 Identifikasi *Candida albicans*

4.8.3.1 Pewarnaan Gram (Claus, 1991)

1. Gelas objek dibersihkan terlebih dahulu dengan menggunakan kapas, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak yang terdapat di atas permukaan gelas objek, lalu kemudian dibiarkan dingin sebelum digunakan.



2. Satu ose (1ul) aquadest steril diteteskan di atas permukaan gelas objek, kemudian ditambah sedikit biakan jamur *Candida albicans* yang di ambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan dengan aquadest pada gelas obejek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquadest.
3. Sediaan dikeringkan di udara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan di atas api.
4. Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% selama 5 – 10 detik atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan ditetesi safranin selama 30 detik. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap.
9. Sediaan dilihat di bawah mikroskop dengan pembesaran 100-400x dengan intensitas sinar rendah. Bila positif (+) maka ditemukan sel berbentuk oval atau budding.
10. Hasil positif: *Candida albicans* tercat ungu (Gram positif).

4.8.3.2 Uji *Germinating Tube* (Mulyati *et.al.*, 2002)

1. Isolat jamur diambil dari perbenihan dengan menggunakan ose yang sudah disterilisasi dengan cara pembakaran.



2. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi serum mamalia atau putih telur atau dapat juga menggunakan plasma 0,5 ml.
3. Diinkubasi ke dalam inkubator pada suhu 37°C selama 1,5 sampai 2 jam.
4. Kultur di dalam serum di ambil menggunakan ose dan diletakkan di atas gelas objek, lalu ditutup dengan gelas tutup.
5. Diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 400x.
6. Dicari pembentukan germ tube atau pseudohifa khas *Candida albicans*.

4.8.4 Persiapan Uji *Candida albicans* (Murray *et.al.*, 2007)

1. Dipersiapkan jamur *Candida albicans* dari SDA yang telah di uji konfirmasi.
2. Ambil 5 koloni ($d \geq 1\text{mm}$) dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0.85% steril. Kemudian diukur *optical density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda = 530\text{ nm}$. Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi sel yang mengandung 10^6 CFU/mL dengan rumus $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$ (Murray *et. al.*, 2007).
3. Untuk mendapatkan suspensi sel yang mengandung 10^3 CFU/mL dilakukan dengan mengambil 1ml (dari tabung yang mengandung 10^6 CFU/mL) untuk dicampur 9 ml NaCl 0.85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi 10^5 CFU/mL . proses dilanjutkan hingga mencapai konsentrasi suspensi jamur yang digunakan untuk tes, yaitu 10^3 CFU/mL .

4.8.5 Uji Antifungi Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* (Kuykendall dan Lockhart, 2016)

4.8.5.1 Uji Dilusi Tabung

1. Menyiapkan 6 buah tabung steril dengan rincian, 2 tabung berisi kontrol yaitu kontrol bahan dan kontrol jamur, lalu 5 tabung reaksi lainnya diisikan konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang berbeda konsentrasi di setiap tabungnya. Masing-masing tabung reaksi diberi label dengan ketentuan:

- Tabung 1: Kontrol bahan.
- Tabung 2: Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) 100%.
- Tabung 3: Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) 90%.
- Tabung 4: Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) 80%.
- Tabung 5: Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung ((*Sonchus arvensis* L.) 70%.
- Tabung 6: Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) 60%.
- Tabung 7: Kontrol jamur.

2. Konsentrasi dari ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dibuat dengan metode pengenceran seri yaitu dengan membandingkan volume ekstrak dan aquadest. Masing-masing tabung reaksi diisi dengan ketentuan:



- Tabung 1: ekstrak etanol daun tempuyung sebanyak 2 ml sebagai kontrol bahan.
- Tabung 2: ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan konsentrasi 100% didapatkan dari 1 ml ekstrak etanol daun tempuyung.
- Tabung 3: ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan konsentrasi 90% didapatkan dari 0,9 ml ekstrak etanol daun tempuyung dan 0,1 ml aquadest.
- Tabung 4: ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan konsentrasi 80% didapatkan dari 0,8 ml ekstrak etanol daun tempuyung dan 0,2 ml aquadest.
- Tabung 5: ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan konsentrasi 70% didapatkan dari 0,7 ml ekstrak etanol daun tempuyung dan 0,3 ml aquadest.
- Tabung 6: ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan konsentrasi 60% didapatkan dari 0,6 ml ekstrak etanol daun tempuyung dan 0,4 ml aquadest.
- Tabung 7: inokulum *Candida albicans* sebanyak 2ml sebagai kontrol jamur.

3. Menambahkan 1 ml inokulum *Candida albicans* (dari nutrient broth yang telah diinkubasi sebelumnya) pada tabung

no 2 – 6 hingga didapati semua tabung berisi larutan sebanyak

2 ml.

4. Semua tabung ditutup dengan kapas steril dan di vortex, kemudian diinkubasikan ke dalam inkubator selama 18 – 24

jam pada suhu 37°C.

5. Pada hari kedua, semua tabung diambil dari inkubator.

Kemudian dilakukan pengamatan untuk membandingkan

kekeruhan antar tabung reaksi dengan melihat kejernihan dari

masing-masing tabung dibantu tiga garis hitam dengan

ketebalan yang berbeda sebagai latar belakang. KHM

ditentukan berdasarkan konsentrasi satu tingkat sebelum

konsentrasi yang memiliki kekeruhan lebih jernih (Fitriani *et*,

al., 2012).

4.8.5.2 Uji Agar Plate

1. Melakukan pengambilan larutan sebanyak 1 ose dari setiap

tabung yang tampak jernih. Setiap larutan dioleskan pada

masing-masing SDA plate yang sudah diberi label tabung

reaksinya dan tabung yang berisi kontrol negatif sebagai

Original Inoculum.

2. Semua SDA plate diinkubasikan ke dalam inkubator selama

18-24 jam pada suhu 37°C.

3. Pada hari ketiga, semua SDA plate dikeluarkan dan

dilanjutkan dengan penghitungan jumlah koloni *Candida*

albicans pada setiap SDA plate dengan menggunakan *colony*

counter. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah koloni

yang tumbuh pada SDA atau jumlah koloninya kurang dari

0,1% jumlah koloni di *Original Inoculum* (Lorian, 1980).

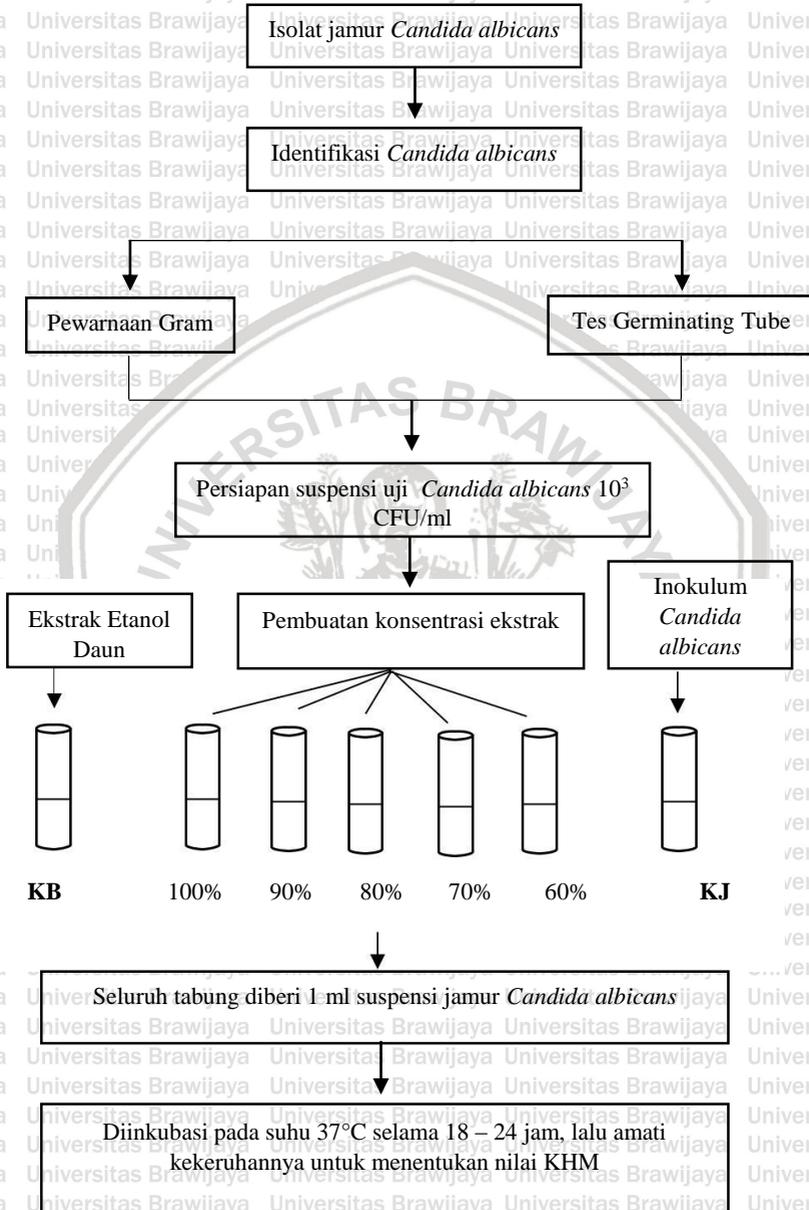


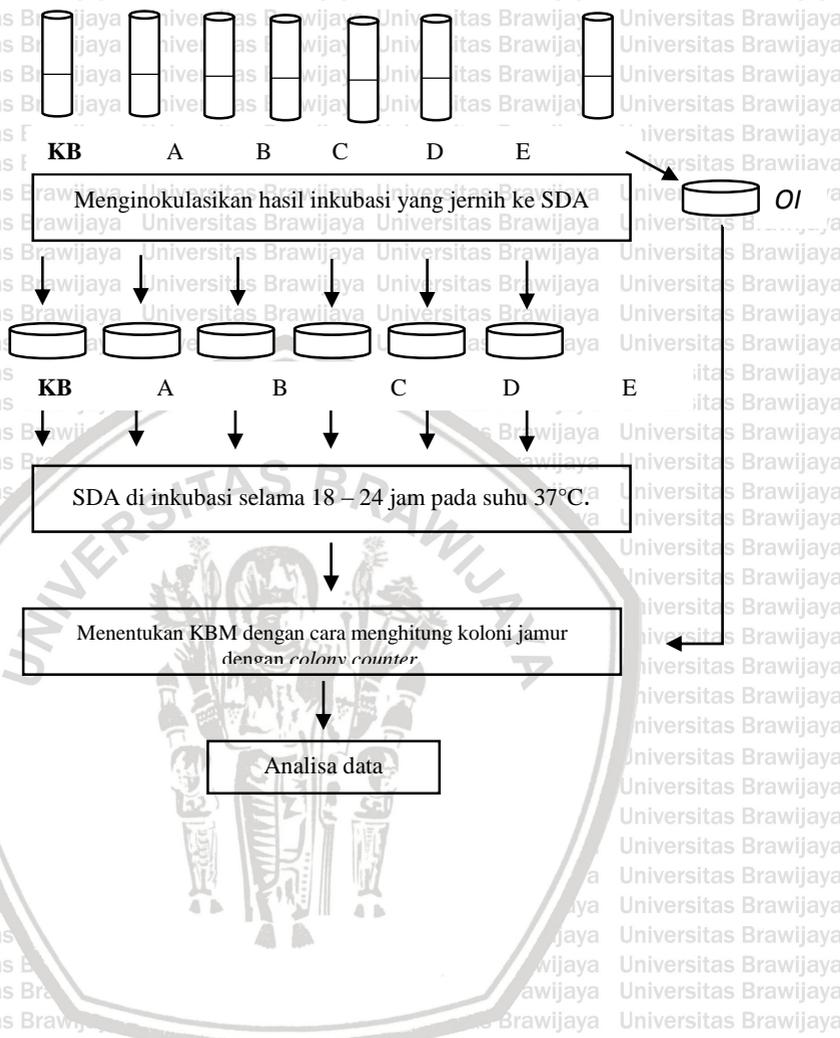
4.9 Analisa Data

Data terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dengan menggunakan *Saphiro Wilk* dan homogenitas varian menggunakan *Levene test* untuk menentukan jenis analisis data yang akan digunakan. Apabila data berdistribusi normal, analisis data yang digunakan adalah uji statistik *one way* ANOVA dan uji statistik korelasi-regresi. Apabila data berdistribusi tidak normal, maka analisis data yang digunakan yaitu uji statistik Kruskall Wallis.

Uji statistik *one way* ANOVA dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans*. Selanjutnya, untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* dilakukan uji korelasi-regresi (Selvia *et. al.*, 2014).

4.10 Alur Penelitian







BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Identifikasi *Candida albicans*

Isolat jamur *Candida albicans* yang digunakan diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Sebelum jamur digunakan untuk penelitian, dilakukan uji identifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa jamur tersebut adalah *Candida albicans*. Isolat jamur dikultur pada media SDA plate untuk kemudian dilanjutkan uji identifikasi pewarnaan Gram dan uji *Germinating Tube*.

Gambar 15. Hasil Pewarnaan Gram *Candida albicans*



Pada pewarnaan Gram, jamur *Candida albicans* diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, didapatkan gambaran jamur *Candida albicans* berupa budding cell jamur berwarna ungu, bulat, dan membentuk rantai seperti terlihat pada Gambar 5.1. Hal ini menunjukkan bahwa jamur yang diidentifikasi merupakan jamur Gram positif.



Gambar 16. Hasil Uji *Germinating Tube Candida albicans*

Pada uji *Germinating Tube* didapatkan hasil positif, dimana terlihat gambaran seperti kecambah yang memanjang (*germ tube*) yang tidak dapat ditemukan pada spesies *Candida* lainnya. Hal ini menunjukkan bahwa jamur tersebut adalah *Candida albicans*.

5.1.2 Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (*Sonchus arvensis* L.)

Simplisia daun tempuyung yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari UPT Materia Medika Batu, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Sebanyak 500 gram daun tempuyung kemudian diekstrak melalui proses ekstraksi dan evaporasi hingga didapatkan ekstrak etanol daun tempuyung sebanyak 60 ml. kemudian dilakukan uji sterilisasi ekstrak etanol daun tempuyung dengan melakukan *streaking* pada SDA plate dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada hasil uji sterilisasi, tidak didapatkan adanya pertumbuhan mikroba. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) sudah steril.

5.1.3 Hasil Uji Dilusi Tabung

Penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung dengan konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, kontrol bahan, dan 0%

sebagai kontrol jamur. Setelah seluruh tabung di inkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C, kemudian seluruh tabung diamati kekeruhannya, tabung yang mulai tampak terlihat kejernihannya merupakan KHM. KHM (Kadar Hambat Minimum) yaitu kadar terendah dari suatu antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan mikroba yang diamati dengan cara melihat perbedaan tingkat kekeruhan pada setiap tabung menggunakan kertas yang telah diberi garis hitam dengan ketebalan yang berbeda dan diletakkan dibelakang tabung reaksi untuk membantu melihat kekeruhan dari setiap tabung. Hasil uji dilusi tabung disajikan pada Gambar 5.3.

Berdasarkan Gambar 5.3 dapat dilihat perbedaan kekeruhan antar konsentrasi, pada konsentrasi 80% tampak suspensi mulai jernih. Untuk menghindari hasil yang subjektif, peneliti dibantu oleh tiga peneliti lainnya untuk menentukan tabung yang mulai tampak jernih dengan konsentrasi terendah. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa konsentrasi 80% sebagai nilai KHM.

Gambar 17. Hasil Pengamatan KHM dengan Metode Dilusi Tabung



Keterangan (kiri-kanan):

Kontrol Jamur (KJ) dilusi tabung

- Dilusi tabung dengan konsentrasi 60%

Dilusi tabung dengan konsentrasi 70%

Dilusi tabung dengan konsentrasi 80%

Dilusi tabung dengan konsentrasi 90%

Dilusi tabung dengan konsentrasi 100%

Setelah dilakukan penentuan KHM, tabung dengan konsentrasi 80%, 90%, 100%, kontrol bahan, dan kontrol jamur di *streaking* pada media SDA *plate* dengan pengulangan sebanyak 4 kali. Tabung dengan konsentrasi 60% dan 70% tidak dilakukan *streaking* dikarenakan nilai KHM berada pada konsentrasi 80%. Kemudian setiap *plate* dimasukkan ke dalam inkubator selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dilakukan penghitungan koloni jamur pada setiap *plate* dengan menggunakan *colony counter*.

5.1.4 Hasil Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans*

Tabel 2. Data Hasil Perhitungan Koloni dengan 4 kali Pengulangan Menggunakan *Colony Counter*

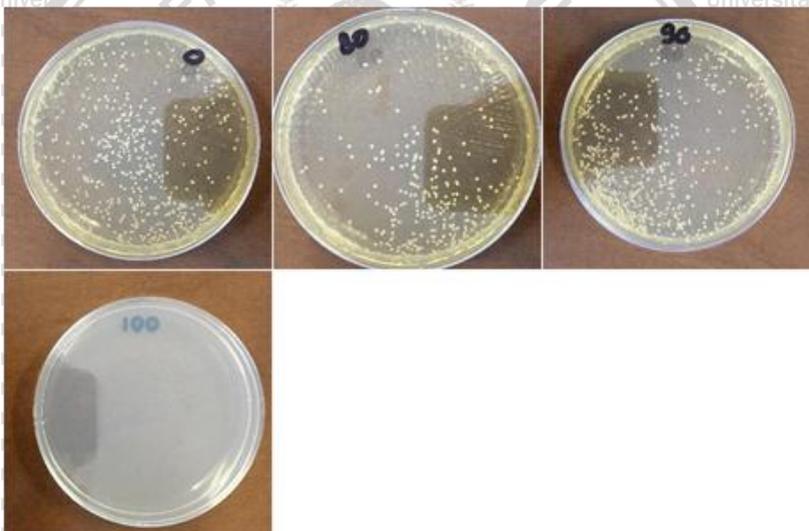
Konsentrasi	Jumlah Koloni				Total x		Rerata
					Total	Pengenceran	
	I	II	III	IV			
K. Bahan	0	0	0	0	0	0	0
K. Jamur	528	689	739	599	2555	2555000	638750
80%	170	208	228	372	978	97800	24450
90%	480	669	475	319	1943	1943	485,75
100%	0	0	0	0	0	0	0

KBM (Kadar Bunuh Minimum) yaitu kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh suatu mikroba ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan koloni jamur pada media SDA *plate* atau



pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni *original inoculum* (OI). Hasil *streaking* dapat dilihat pada Gambar 5.4 Berdasarkan hasil perhitungan jumlah koloni pada Tabel 5.1, dapat diperoleh bahwa ekstrak etanol daun tempuyung dengan konsentrasi 100% ditetapkan sebagai nilai KBM. Pada konsentrasi 80% dan 90% didapatkan pertumbuhan koloni jamur pada media SDA *plate* dan hasil perhitungan koloni tidak memenuhi syarat KBM yaitu pertumbuhan koloni kurang dari 0,1% dari jumlah koloni pada OI, sehingga konsentrasi 100% ditetapkan sebagai nilai KBM.

Gambar 18. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni Jamur dengan *Colony Counter*



5.2 Hasil Analisa Data

Analisis data dilakukan berdasarkan jumlah koloni jamur yang tumbuh pada media SDA *plate*. Analisis data menggunakan program *IBM SPSS Statistic for Windows* versi 22. Data yang didapat terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas varian

data. Uji normalitas dilakukan dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* dikarenakan data yang diuji kurang dari 50 data. Sedangkan uji homogenitas dilakukan dengan menggunakan uji *Levene*. Dari uji normalitas dan homogenitas didapatkan hasil data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$), sehingga dilanjutkan dengan uji parametrik *One Way ANOVA* serta uji Korelasi *Pearson* dan uji Regresi Linear.

5.2.1 Hasil Uji Normalitas dan Uji Homogenitas

Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk menentukan uji selanjutnya menggunakan uji parametrik atau uji non parametrik. Adapun uji normalitas yang digunakan yaitu uji *Shapiro Wilk* dikarenakan jumlah data dari hasil penelitian ini adalah 20 data. Berdasarkan pengujian normalitas data dengan menggunakan uji *Shapiro Wilk* didapatkan bahwa data kelompok memiliki $p = 0,70$ ($p > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data kelompok memiliki sebaran yang normal.

Kemudian, setelah dilakukan uji normalitas, maka data dilanjutkan dengan uji homogenitas menggunakan uji *Levene* untuk mengetahui apakah data homogen atau tidak. Berdasarkan pengujian homogenitas data menggunakan uji *Levene* didapatkan bahwa data memiliki sebaran yang homogen $p = 0,195$ ($p > 0,05$). Dengan hasil data normal dan homogen, maka syarat pengujian *One Way ANOVA* terpenuhi.

5.2.2 Uji *One Way ANOVA*

Syarat menggunakan uji *One Way ANOVA* yaitu data terdistribusi normal dan homogen yaitu apabila nilai signifikansi $p > 0,05$. Berdasarkan hasil uji *One Way ANOVA*, diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti efek pemberian berbagai



konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans* terdapat perbedaan signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

Berdasarkan hasil uji *Post Hoc Tukey* diketahui bahwa jika nilai signifikansi kurang dari 0,05 ($p < 0,05$) maka antar rerata konsentrasi memiliki perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni jamur yang tumbuh, sedangkan jika nilai signifikansi lebih dari 0,05 ($p > 0,05$) maka antar rerata konsentrasi tidak memiliki perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni yang tumbuh.

Tabel 3. Hasil Uji *Post Hoc Tukey*

	KJ	KB	80%	90%	100%
KJ		0,000*	0,000*	0,000*	0,000*
KB	0,000*		0,920	1,000	1,000
80%	0,000*	0,925		0,920	0,920
90%	0,000*	0,925	1,000		1,000
100%	0,000*	0,920	1,000		1,000

5.2.3 Uji Korelasi-Regresi

Uji korelasi digunakan untuk mengetahui hubungan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans*.

Berdasarkan hasil uji Korelasi *Pearson* menunjukkan nilai signifikansi 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti terdapat hubungan bermakna antara ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans*. Besarnya koefisien korelasi



antara -1 s/d 1. Bila nilainya mendekati nilai -1 atau 1, maka kedua hubungan variabel tersebut sangat kuat, sedangkan bila nilainya mendekati 0 berarti tidak terdapat hubungan kedua variabel tersebut.

Besar koefisien korelasi *Pearson* adalah $R = -0,978$. Tanda negatif menunjukkan hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni jamur. Nilai 0,978 menunjukkan bahwa terdapat hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan jamur. Besar koefisien korelasi yang mendekati -1 menunjukkan bahwa terdapat hubungan kedua variabel kuat negatif.

Uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dalam menghambat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Berdasarkan hasil uji Regresi, nilai R^2 adalah 0,957 menunjukkan bahwa kontribusi pemberian ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dalam menurunkan jumlah koloni jamur *Candida albicans* sebesar 95,7%.

Pada hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) sehingga model regresi dapat dipakai untuk



mengetahui pengaruh besarnya konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) (X) terhadap rerata jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh (Y). Hubungan antara pemberian ekstrak etanol daun tempuyung dengan jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh dengan rumus berikut:

$$Y = a+bX$$

$$Y = 626309,8 + (-6820,569)X$$

Nilai Y adalah jumlah koloni jamur yang tumbuh dan nilai X adalah besarnya konsentrasi. Hasil dari penghitungan Y lalu dibandingkan dengan range pada tabel *One Way ANOVA* pada kolom *95% Confidence Interval for Mean*, jika lebih rendah dari *Lower Bound* pada kontrol negatif (0%) maka ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki perbedaan cukup efektif pada setiap pemberian konsentrasinya terhadap pertumbuhan koloni jamur.

Tabel 4. Hasil Perhitungan Nilai Y Pada Uji Regresi Linear

Nilai X	Nilai Y	<i>Lower Bound</i> Kontrol Negatif
80%	80664,28	545645,52
90%	12458,59	545645,52
100%	-55747,1	545645,52

5.3 Pembahasan

Peneitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* untuk mengetahui apakah ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memiliki aktivitas antijamur



terhadap jamur *Candida albicans*. Metode yang digunakan yaitu dilusi tabung. Metode dilusi tabung dapat digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) suatu antimikroba. Penelitian ini menggunakan media *Nutrient Broth* untuk menentukan nilai KHM dan menggunakan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) untuk menilai KBM.

Isolat jamur *Candida albicans* yang digunakan oleh peneliti diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya, Malang. Sebelum digunakan dalam penelitian, jamur *Candida albicans* diidentifikasi terlebih dahulu untuk memastikan bahwa jamur tersebut benar *Candida albicans*. Adapun tes yang dilakukan untuk identifikasi yaitu tes pewarnaan Gram dan uji *Germinating Tube*. Setelah dilakukan pewarnaan Gram, preparat jamur *Candida albicans* diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000x. Hasilnya menunjukkan bahwa koloni jamur *Candida albicans* berupa *budding cell* jamur berwarna ungu, bulat, dan membentuk rantai. Warna ungu menunjukkan bahwa *Candida albicans* merupakan jamur Gram positif karena kompleks zat warna kristal violet tetap dipertahankan meskipun diberi larutan pemucat aseton alkohol (Fitri dan Yasmin, 2011). Pada hasil uji *Germinating Tube* didapatkan hasil positif, dimana terlihat gambaran seperti kecambah yang memanjang (*germ tube*) yang tidak dapat ditemukan pada spesies *Candida* lainnya. Hal ini dikarenakan jamur *Candida albicans* memiliki kemampuan untuk membentuk kecambah yang memanjang dalam serum atau dengan terbentuknya spora besar berdinding tebal yang dinamakan klamidospora. Formasi



klamidospora baru terlihat tumbuh pada suhu 30-37°C yang memberi reaksi positif pada pemeriksaan *germ tube* (Mutiawati, 2016).

Ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang digunakan merupakan hasil maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% yang didapatkan dari UPT Materia Medika Batu, Dinas Kesehatan Provinsi Jawa Timur. Kemudian dilakukan pemisahan prosedur pemisahan antara etanol dan ekstrak, sehingga hanya tersisa senyawa aktif yang dapat membunuh *Candida albicans*.

Konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan berdasarkan penelitian pendahuluan yaitu, konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan disertai dua kontrol yaitu Kontrol Jamur (KJ) dan Kontrol Bahan (KB). Pada konsentrasi 50% masih terlihat adanya pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*, sedangkan pada konsentrasi 100% tidak terlihat adanya pertumbuhan jamur. Oleh karena itu, dilakukan perapatan konsentrasi ekstrak dimana konsentrasi akhir ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang digunakan pada penelitian ini yaitu konsentrasi 60%, 70%, 80%, 90%, 100%, KJ, dan KB. Perapatan konsentrasi dilakukan untuk dapat menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang lebih tepat.

Penentuan nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan menggunakan uji dilusi tabung. Hasil uji dilusi tabung menunjukkan bahwa tabung dengan konsentrasi 60% dan 70% memiliki kekeruhan yang sama dan tidak jauh berbeda dengan kontrol jamur (KJ). Dengan demikian, nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jamur



Candida albicans terdapat pada konsentrasi 80%. Sedangkan, penelitian yang dilakukan oleh Fariha (2010), menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tempuyung memiliki daya hambat terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 60%. Adanya perbedaan nilai Kadar Hambat Minimum pada bakteri dan jamur dikarenakan jamur *Candida albicans* tersusun dari polisakarida (mannan, glukukan, kitin) protein dan lipid dengan membran sel dibawahnya yang mengandung sterol (Nuryani dan Jhunnison, 2016). Kitin dan glukukan bertanggung jawab terhadap mekanisme dinding sel jamur (Haniah, 2008). Sedangkan pada bakteri tersusun atas kandungan lipid yang tinggi dengan lapisan dinding sel yang tipis (Pelczar *et. al.*, 2008)

Penentuan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan mengambil satu ose pada setiap tabung, kemudian di *streaking* pada SDA plate dan di inkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu, jumlah koloni jamur pada setiap *plate* dihitung dengan menggunakan *colony counter* (Rahmawati *et.al.*, 2014). Hasilnya didapatkan nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 100%.

Kemampuan ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dalam menghambat dan membunuh jamur *Candida albicans* diperkirakan oleh senyawa aktif yang terkandung didalamnya seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin (Hapsari *et. al.*, 2018). Senyawa aktif tersebut mampu mempengaruhi struktur dan fungsi dari bagian sel *Candida albicans* seperti pada dinding sel dan membran sel. Dinding sel pada *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung sel ragi dari lingkungan dan memberi bentuk pada sel ragi



(Seydel *et. al.*, 2009). Sedangkan membran sel memiliki fungsi menjaga kestabilan dan permeabilitas membran, adapun struktur utama dari membran sel yaitu ergosterol (Iwaki *et. al.*, 2008).

Senyawa flavonoid dalam ekstrak etanol daun tempuyung bekerja sebagai antifungi dengan cara denaturasi protein sehingga meningkatkan permeabilitas membran sel. Denaturasi protein menyebabkan gangguan dalam pembentukan sel sehingga merubah komposisi komponen protein (Yordanov *et. al.*, 2008). Alkaloid bekerja sebagai antifungi dengan cara berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang yang menyebabkan kebocoran membran sel. Hal tersebut dapat menyebabkan kerusakan yang tetap pada sel dan kematian sel (Mycek dan Setiabudy dalam Bhaskara, 2012). Kerja saponin hampir sama dengan alkaloid yaitu dengan cara mengikat ergosterol, sehingga terjadi peningkatan permeabilitas membran sel yang memicu terjadinya kebocoran sel. Keluarnya komponen penting jamur ke luar sel mengakibatkan sel jamur lebih mudah mati (Dinastutie *et. al.*, 2015). Tanin merupakan senyawa lipofilik sehingga mudah terikat pada dinding sel dan mengakibatkan kerusakan dinding sel jamur. Tanin bekerja dengan cara menghambat sintesis kitin yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada jamur dan merusak membran sel sehingga pertumbuhan jamur terhambat (Watson dan Preedy, 2007).

Dari hasil penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada setiap konsentrasi dilakukan analisis data menggunakan program *IBM SPSS Statistic for Windows* versi 22. Data di uji normalitas dan homogenitas terlebih dahulu dan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,70 ($p>0,05$) dan 0,195 ($p>0,05$) sehingga dapat disimpulkan bahwa



data terdistribusi normal dan homogen. Kemudian pengolahan data dilanjutkan dengan uji *One Way* ANOVA dikarenakan data telah terbukti normal dan homogen. Uji *One Way* ANOVA dilakukan untuk mengetahui adanya perbedaan rata-rata dari setiap konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung yang digunakan terhadap rata-rata jumlah koloni jamur yang tumbuh. Berdasarkan hasil uji *One Way* ANOVA didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$) yang berarti bahwa terdapat pengaruh signifikan dari pemberian ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans*.

Setelah itu, dilanjutkan dengan uji *Post Hoc Tukey* untuk mengetahui kelompok mana yang memiliki perbedaan rata-rata jumlah koloni yang bermakna. Berdasarkan hasil *Post Hoc Tukey*, diketahui bahwa antara kontrol jamur dengan konsentrasi 80%, 90%, 100% didapatkan nilai signifikansi 0,000. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian setiap pasangan konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) memberikan perbedaan efek yang bermakna terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Sedangkan pada konsentrasi 80% dengan 90% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,925; konsentrasi 80% dengan 100% didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,920; konsentrasi 80% dengan kontrol bahan didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,920. Hasil ini menunjukkan bahwa pemberian kedua konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) tersebut tidak memberikan perbedaan efek yang bermakna terhadap pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Perbedaan signifikan antara kontrol negatif dengan berbagai konsentrasi coba dikarenakan pada kontrol negatif tidak diberikan



konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung. Sedangkan tidak adanya perbedaan signifikan antar konsentrasi coba dapat disebabkan oleh beberapa hal yaitu jenis antimikroba yang digunakan dan konsentrasi senyawa bahan ekstrak yang diberikan serta terbentuk jumlah koloni yang tidak berbeda signifikan (Taliningrum, 2015).

Hasil uji Korelasi *Pearson* didapatkan bahwa terdapat korelasi atau hubungan yang bermakna antara konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang diberikan terhadap rerata jumlah koloni jamur yang tumbuh dengan nilai signifikansi sebesar 0,000 ($p < 0,05$). Kekuatan korelasi bernilai -0,978 yang menunjukkan bahwa kekuatan korelasinya termasuk ke dalam kategori korelasi sangat kuat dengan arah korelasi negatif atau berlawanan arah (Santoso, 2012). Arah korelasi negatif berarti bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*.

Hasil uji Regresi Linear didapatkan koefisien determinasi *R square* (R^2) sebesar 0,957 yang berarti pengaruh pemberian ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) terhadap penurunan jumlah koloni jamur *Candida albicans* sebesar 95,7% sedangkan sisanya 4,3% dapat dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diteliti.

Pada penelitian ini terdapat kelemahan yaitu hasil ekstrak etanol daun tempuyung yang didapatkan masih terdapat ampas daun tempuyung, sehingga pada saat dilakukan pengambilan ekstrak harus dilakukan penyaringan terlebih dahulu untuk memisahkan ampas dengan ekstrak etanol daun tempuyung. Pada saat dilakukan penentuan Kadar Hambat Minimum dengan metode dilusi tabung



hasil yang didapatkan masih berupa hasil yang subjektif karena penentuan nilai Kadar Hambat Minimum dilakukan dengan pengamatan secara visual serta hasil uji yang keruh juga mempengaruhi penentuan nilai KHM.



BAB VI PENUTUP

6.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil analisis dan pembahasan dalam penelitian ini, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jamur *Candida albicans* adalah konsentrasi 80%.
2. Nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) terhadap jamur *Candida albicans* adalah konsentrasi 100%.
3. Adanya korelasi sangat kuat dengan arah negatif yaitu semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) yang diberikan, maka jumlah koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh akan menurun.

6.2 Saran

Dengan mempertimbangkan adanya keterbatasan pada penelitian ini, maka perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai:

1. Perlu dilakukan pengujian toksisitas lebih lanjut yaitu toksisitas subkronis serta uji toksisitas kronik untuk melihat efek ekstrak etanol daun tempuyung selama jangka waktu yang cukup lama.
2. Mengidentifikasi senyawa aktif dan mekanisme kerja yang spesifik dari ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) sebagai antimikroba.
3. Perlu dilakukan perbandingan potensi antijamur pada ekstrak etanol daun tempuyung (*Sonchus arvensis* L.) dengan obat



antijamur lainnya terhadap *Candida albicans* contohnya seperti *fluconazole*.



DAFTAR PUSTAKA

- Akpan A, Morgan R. 2002. *Oral Candidiasis (review)*. Postgrad Med J 78:255-259.
- Aziz, T., Ratih, CKN., Fresca A. 2009. Pengaruh pelarut heksana dan etanol volume pelarut, dan waktu ekstraksi terhadap hasil ekstraksi minyak kopi. *J Teknik Kimia* 16(1): 1-8.
- Bhaskara GY. 2012. *Uji Daya Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polianthum [Wight] Walp.) terhadap Candida albicans ATCC 10231 Secara In Vitro*. Fakultas Kedoktera Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Brooks GF., Butel JS., Omston LN. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Jakarta: EGC, hal 627-629.
- Candrasari, A., Romas, MA., Hasbi, M., Astuti, OR., 2012. *Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan Staphylococcus aureus ATCC 6538, Escheria coli ATCC 11229 dan Candida albicans ATCC 10231 Secara In Vitro*. Biomedika 4(1): 9-16.
- Claus, Dieter. 1991. A Standardized Gram Staining Procedure. UNESCO.
- Cowen, LE., Sanglard, D., Howard, SJ., Rogers, PD., Perlin, DS. 2015. *Mechanism of Antifungal Drug Resistance*. Cold Spring Harb Perspect: 1-25.
- Dinastutie, R., Sri Poeranto YS., Dwi YNH. 2015. *Uji Efektivitas Antifungal Ekstrak Kulit Pisang Kepok (Musa acuminata*



x. balbisiana) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro. *Majalah Kesehatan FKUB* 2(3): 173-180.

Dzen SM, Roekistingisih S, Santoso S, dan Winarsih S. 2010.

Bakteriologi Medik. Malang: Banyumedia Publishing, hal 122-123.

Fahrnunda dan Pratiwi R. 2015. *Kandungan Saponin Buah, Daun, dan Tangkai Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.)*. Seminar Nasional Konservasi dan Pemanfaatan Sumber Daya Alam. Universitas Negeri Surakarta.

Fariha, Y. 2010. *Pengaruh Ekstrak Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.) Terhadap Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri Shigella dysenteriae dan Escherichia coli Secara In Vitro*. Malang: Universitas Muhammadiyah.

Fitriani, A., Yanti, H., Ria, E. 2012. *Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (Syzygium polyanthum (Wight) Walp.) terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans secara In Vitro*. *Biosfera* 29(2): 71-79.

Fitri, L dan Yasmin, Y. 2011. *Isolasi dan Pengamatan Morfologi Koloni Bakteri Kinolitik*. *Jurnal Imiah Pendidikan Biologi* 2(3): 20-25.

Forbes, B., Sahm, D., Weissfeld A. 2007. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology 12th Edition*. United States: Mosby.

Gholib, D. 2009. *Uji Daya Hambat Daun Senggani (Melastoma malabathricum L.) Terhadap Trichophyton*



mentagrophytees dan Candida albicans [Inhibitor Potential of Melastoma malabathricum L.) Leaves Against Trichophyton mentagrophytees and Candida albicans]. Berita Biologi 9(5): 523-527.

Greenberg, MS., Glick, M., Ship, JA. 2008. *Burket's Oral Medicine 11th ed.* Canada: BC Decker Inc Hamilton.

Hakim, L. dan Ramadhian, M. 2015. *Kandidiasis Oral.* Jurnal Majority 4(8): 53-57.

Haniah, M. 2008. *Isolasi Endofit dari Daun Sirih (Piper betle L.) Sebagai Antimikroba Terhadap Escherichia coli, Staphylococcus aureus, dan Candida albicans.* Malang: Universitas Islam Negeri.

Hapsari, AM., Masfria, MS., Dalimunthe, A. 2018. *Pengujian Kandungan Total Fenol Ekstrak Etanol Daun Tempuyung (Sonchus arvensis L.).* TM Conference Series: 284-290.

Harriot, MM., Noverr, MC. 2009. *Candida albicans and Staphylococcus aureus Form Polymicrobial Biofilms: Effects on Antimicrobial Resistance.* Antimicrobial Agents and Chemotherapy 53: 3914-3922.

Hassanpour, S., Maheri-Sis N., Eshratkha B., Mehmandar, FB. 2011. *Plants and Secondary Metabolites (Tannin): A Review.* Int. J. Forest, Soil and Erosion 1(1): 47-53.

Hayati, EK., Jannah A., Mukhlisoh W. 2009. *Aktivitas Antibakteri Komponen Tanin Ekstrak Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L) Sebagai Pengawet Alami.* Penelitian Kompetitif Depag Malang. UIN: Malang.

Hayati, EK., Fasyah, AG., Sa'adah L. 2010. *Fraksinasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa blimbi L.)*. Jurnal Kimia 4(2):193-200.

Henriques, MCR. 2006. *Candida dubliniensis versus Candida albicans adhesion and biofilm formation*. Department of Biological Engineering (dissertation). University of Minho Department of Biological Engineering.

Hermiliasari RD., Winarsih S., dan Rosita R. 2012. *Efektivitas Ekstrak Etanol Rimpang Kencur (Kaempferia galangal Linn.) dalam Menghambat Pertumbuhan Candida albicans Isolat 218-SV secara In Vitro*. Universitas Brawijaya.

Homenta, H. 2016. *Infeksi Biofilm Bakterial*. Jurnal e-Biomedik 4(1): 1-11.

Ikatan Apoteker Indonesia. 2017. *Informasi Spesialite Obat Indonesia*. Juni. PT ISFI. Jakarta.

Iwaki *et. al.* 2008. *Function of Ergosterol in The Fussion Yeast Scizosacchomyces pombe*. Microbiology 154: 830-841.

Katzung, BG., Masters, SB., Trevor, AJ. 2012. *Basic and Clinical Pharmacology 12th ed.* United States: McGraw-Hill Companies. P 849.

Komariah, RS. 2012. *Kolonisasi Candida dalam Rongga Mulut*. Majalah Kedokteran FK UKI 28(1): 39-47.

Kusumaningtyas, E. 2007. *Mekanisme Infeksi Candida albicans*.

Lokakarya Nasional Penyakit Zoonosis: 304-16.



- Kuykendall, R.J., Lockhart, S.R. 2016. *Microbroth Dilution Susceptibility Testing of Candida Species*. New York: Humana Press. P.173-181.
- Laskaris, G. 2013. *Atlas Saku Penyakit Mulut*. Jakarta: EGC.
- Langlais, R.P., Miller, C.S., Nield-Gehrig JS. 2013. *Atlas Berwarna Lesi Mulut yang Sering Ditemukan 4th ed*. Indonesia: EGC.
- Lenny, S. 2006. *Senyawa Flavonoida, Fenilpropanida dan Alkaloid*. Karya Ilmiah Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatera Utara.
- Lewis, MAO dan Jordan, RCK. 2015. *Penyakit Mulut Diagnosis dan Terapi Edisi 2*. Jakarta: EGC.
- Lorian, V. 2005. *Antibiotics in Laboratory Medicine 5th Ed*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. P 130-132.
- Markham, K.R. 2006. *Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications*. US: Taylor & Francis Group.
- Marnoto, T., Haryono G., Gustinah D., Putra FA. 2012. *Ekstraksi Tannin Sebagai Bahan Pewarna Alami Dari Tanaman Putrimalu (Mimosa pudica) Menggunakan Pelarut Organik*. Reaktor 14(1): 39-45.
- Misna dan Diana, K. 2016. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Bawang Merah (Allium cepa L.) Terhadap Bakteri Staphylococcus aureus*. Galenika Journal of Pharmacy 2(2): 138-144.
- Mulyati, Wahyuningsih R., Widiastuti, Sjarifuddin PK. 2002. *Isolasi Spesies Candida Dari Tinja Penderita HIV/AIDS*. Makara Kesehatan 6(2): 50-54.



Nuryani, S dan Jhunnison. 2016. *Daya Antifungi Infusa Daun Kenikir (Cosmos caudatus k.) Terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans Secara In Vitro*. Jurnal Teknologi Laboratorium 1(5): 5-11.

Nur'aeny N, Hidayat, W., Dewi, TS., Herawati, E., Wahyuni, IS. 2017. *Profil Oral Candidiasis di Bagian Ilmu Penyakit Mulut RSHS Bandung Periode 2010-2014*. Majalah Kedokteran Gigi Indonesia 3(1): 23-28.

Pelczar, MJ dan Chan, ECS. 2008. *Dasar-dasar Mikrobiologi Jilid I*. Jakarta: UI Press. P 489-493.

Putra, AAB., Bogoriani, Diantariani, BNP., Sumadewi, NLU. 2014. *Ekstraksi Zat Warna Alam Dari Bonggol Tanaman Pisang (Musa paradisiaca L.) Dengan Metode Maserasi, Refluks, dan Sokletasi*. Jurnal Kimia 8(1): 113-119.

Redha, A. 2010. *Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis*. Jurnal Belian 9(2): 196-202.

Sa'adah H, Nurhasnawati H. 2015. *Perbandingan Pelarut Etanol dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (Eleutherine Americana Merr) Menggunakan Metode Maserasi*. Jurnal Ilmiah Hanunting 1(2): 149-153.

Sa'adah H., Nurhasnawati H., Permatasari, V. 2017. *Pengaruh Metode Ekstraksi Terhadap Kadar Flavonoid Ekstrak Etanol Umbi Bawang Dayak (Eleutherine palmifolia (L.) Merr) dengan Metode Spektrofotometri*. Jurnal Borneo Of Pharmascientech 01(01): 1-9.



- Sabila AA, Ismail A, Mujayanto R. 2017. *Oral Hygiene Buruk Pasien Rawat Inap Tidak Berkaitan dengan Pertumbuhan Oral Candidiasis*. *Odonto Dental Journal* 4(1): 56-60.
- Sabir, A. 2003. *Pemanfaatan Flavonoid di Bidang Kedokteran Gigi*. *Majalah Kedokteran Gigi*. Edisi khusus Temu Ilmiah Nasional III. Surabaya: FKG Unair, 81-87.
- Santoso, S. 2012. *Aplikasi SPSS Pada Statistik Parametrik*. Jakarta: Media Komputindo.
- Sardi, Scorzoni, Bernadi, *et. al.* 2013. *Candida Species: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products and New Therapeutic Options*. *Journal of Medical Microbiology* 62: 10-24.
- Scully C, El-kabir M, Samaranyake LP. 1994. *Candida and Oral Candidosis*. *Crit Rev Ord Biol Med* 5(2): 125-57.
- Setyowati, H., Hanifah, HZ., Nugraheni, RP. 2013. *Krim Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus L.*) Sebagai Obat Herbal Pengobatan Infeksi Jamur *Candida albicans**. *Media Farmasi Indonesia* 8(2): 1-7.
- Seydel, J dan Wiese KM. 2009. *Drug-Membrane Interactions: Analysis, Drug Distribution, Modelling Methods and Principles in Medicinal Chemistry*. Germany: John Wiley & Sons.
- Silvia, Arreneuz S., Wibowo, MA. 2015. *Aktivitas Antimikroba Ekstrak Daun Soma (*Ploiarium alternifolium Meich*) Terhadap Jamur *Malassezia furfur* dan Bakteri *Staphylococcus aureus**. *JKK* 4(3): 84-93.



- Simatupang, MM. 2009. *Candida albicans*. Sumatera Utara: Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran USU.
- Soleha, TU. 2015. *Uji Kepekaan terhadap Antibiotik*. Juke Unila 5(9): 119-123.
- Taliningrum, KK, 2015. *Perbedaan Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (Averrhia blimbi L.) Sebagai Bahan Obat Kumur Terhadap Hambatan Pertumbuhan Bakteri Streptococcus sanguis*. Semarang: Universitas Muhammadiyah Semarang.
- Tapas, Sakarkar, Kakde. 2008. *Flavonoid as Nutraceuticals: A Review*. Tropical Journal of Pharmaceutical Research 7(3): 1089-1099.
- Titis, M., Fachriyah, E., Kusrini, D. 2013. *Isolasi, Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Alkaloid Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis)*. Chem Info 1(1): 196-201.
- Wardani, CGT. 2008. *Potensi Ekstrak Tempuyung dan Meniran sebagai Antiasam urat: Aktivitas Inhibitor terhadap xantin Oksidase*. Skripsi. Bogor: Institut Pertanian Bogor.
- Watson, RR dan Predy VR. 2007. *Bioactive Foods in Promoting Health: Probiotics and Prebiotics*. USA: Academic Press.
- Winarto, WP. 2004. *Tempuyung: Tanaman Penghancur Batu Ginjal*. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hal 1-3.
- Yordanov, M., Dimitrova, P., Patkar, S., Saso, L., Ivanovska, N. 2008. *Inhibition of Candida albicans Extracellular Enzyme Activity*



*by Selected Natural Substances and Their Application in
Candida Infection.* Can J Microbiol 54(6). 435-440.

