

**EFEK EKSTRAK ETANOL JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var.
Rubrum) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA
IN VITRO**

**Tugas Akhir
Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Umum**



**Oleh :
MOH. ARIE ARIFIN
0910713019**

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

MALANG

2012

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

EFEK EKSTRAK ETANOL JAHE MERAH (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* secara *IN VITRO*

Oleh:

Moh. Arie Arifin

NIM : 0910713019

Telah diuji pada :

Hari : Kamis

Tanggal : 20 Desember 2012

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Djoko Santoso, M.Kes, DAHK
NIP. 000848051

Penguji II / Pembimbing I

Penguji III / Pembimbing II

Prof.Dr.dr. Noorhamdani AS, DMM, SpMK(K)
NIP. 1951110 198002 1 001

dr. Dian Hasanah, M.Biomed
NIP. 19790411 200912 2 002

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kedokteran

Prof.Dr.dr. Teguh Wahyu Sardjono, DTMH, M.Sc, Sp. Park(K)
NIP.19520410 198002 1001

KATA PENGANTAR

Segala puji hanya bagi Allah SWT yang telah memberi petunjuk dan hidayah-nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir dengan judul “Efek Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* secara *In Vitro*”

Ketertarikan penulis pada topik ini didasari oleh fakta bahwa Jamur *Candida albicans* merupakan salah satu fungi patogen yang umum menjangkiti manusia baik secara oral, genital, maupun sistemik yang dapat mengancam jiwa yang disebut kandidiasis. Disisi lain, banyak penduduk Indonesia yang lebih memilih bahan alami untuk mengatasi kandidiasis. Salah satu alternatif terapi adalah dengan bahan alami, yaitu jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). Kandungan aktif jahe merah yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah flavonoid, alkaloid, tannin, saponin dan terpenoid. Penelitian ini akan menjadi langkah awal untuk membuktikan efek antifungi ekstrak jahe merah terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

Proses penulisan Tugas Akhir ini merupakan sebuah pengalaman yang sangat berharga. Pengalaman yang memberikan tantangan dalam segi keilmuan dan juga sarat ujian mental dan fisik yang mungkin akan sangat berat jika tidak ada pihak-pihak yang bersedia meluangkan waktu, tenaga, dan pikirannya untuk membantu saya. Melalui kesempatan ini, penulis ingin mengucapkan terima kasih yang tak terhingga kepada:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat dan hidayahnya sehingga penulis dapat menyelesaikan tugas akhir ini.

2. Dr.dr. Karyono Mintaroem, SpPA, dekan Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya yang telah memberikan saya kesempatan menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
3. Prof.Dr.dr. Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK (K) sebagai dosen pembimbing pertama dan dr. Dian Hasanah, M.Biomed sebagai dosen pembimbing kedua yang dengan sabar membimbing penulis untuk bisa menyelesaikan tugas akhir ini dengan baik.
4. Dr. Djoko Santoso, M.Kes, DAHK selaku dosen penguji atas saran dan kritik yang telah diberikan sehingga dapat menyempurnakan tugas akhir ini
5. Dr. Dra. Sri Winarsih, Apt., MSi, dr Soemardini M.Pd dan segenap anggota Tim Pengelola Tugas Akhir FKUB yang telah memberikan banyak informasi, bantuan dan dukungan.
6. Staff di Mikro, mas Slamet, mbak Uci yang tidak lelah memberikan masukan dan selalu membantu penulis dalam menjalani penelitian di lab.
7. Yang tercinta ibu dan bapak dan kedua kakakku, kak Djabar, dan kak Dessy, sahabat hidupku putri, sahabat terbaikku kache, mucis, dhany, rifky, nanda, beny, amar, adam, koko, dan wildan terima kasih atas segala pengertian, dukungan moral dan kasih sayangnnya selama ini.
8. Teman-teman jurusan Pendidikan Dokter angkatan 2009 khususnya PDB 2009 atas persahabatannya selama ini.
9. Teman - teman seangkatan yang sama-sama mengerjakan tugas akhir di Lab. Mikrobiologi terimakasih telah mendukung satu sama lain selama proses pembuatan tugas akhir ini.

10. Semua pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan tugas akhir ini yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Penulis menyadari bahwa penulisan ini masih jauh dari sempurna, oleh karena itu penulis membuka diri untuk segala saran dan kritik yang membangun. Akhirnya, semoga Tugas Akhir ini dapat bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, 20 Desember 2012

Penulis



ABSTRAK

Arifin, Moh Arie. 2012. Efek Ekstrak Etanol Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara *In Vitro*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK(K) (2) dr. Dian Hasanah, M.Biomed.

Candida albicans merupakan salah satu fungi patogen yang umum menjangkiti manusia baik secara oral, genital, maupun sistemik yang dapat mengancam jiwa. Jamur ini penyebab sekitar setengah dari seluruh mikosis akibat genus *Candida* yang disebut kandidiasis. Pada studi penelitian pada masyarakat, menemukan angka prevalensi kandidiasis yang sangat tinggi 75% dibanding dengan penyebab infeksi saluran reproduksi lainnya. Meskipun pilihan terapi yang tersedia terbukti efektif, banyak penduduk Indonesia yang lebih memilih bahan alami untuk mengatasi kandidiasis. Salah satu alternatif terapi adalah dengan bahan alami, yaitu jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). Kandungan aktif jahe merah yang diduga bermanfaat sebagai antimikroba adalah flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin, dan saponin. Penelitian ini akan menjadi langkah awal untuk membuktikan efek antifungi ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. Studi eksperimental berupa *post test only control group design* dilakukan terhadap *Candida albicans* dengan metode dilusi tabung dan dilusi agar. Kelompok perlakuan yaitu kelompok jamur yang diberi ekstrak jahe merah dengan dosis 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, 27,5% dan 30%. Kelompok kontrol yaitu kelompok jamur yang tidak diberi ekstrak (dosis 0%) Dari hasil penelitian, didapatkan bahwa KHM dan KBM ekstrak jahe merah adalah 25% dan 27,5%. Berdasarkan uji statistik, diperoleh bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antara dosis ekstrak jahe merah dengan pertumbuhan koloni *Candida albicans* (signifikansi 0.000, $p < 0.05$). Selanjutnya, dari uji regresi korelasi didapatkan bahwa ada hubungan yang sangat erat dan berkebalikan antara konsentrasi ekstrak jahe merah dengan jumlah koloni yang tumbuh (nilai korelasi(r) = -0.884). Pada penelitian ini bisa disimpulkan bahwa ekstrak jahe merah memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans*. Namun, penelitian lanjutan masih sangat dibutuhkan untuk mengembangkan potensi jahe merah secara *in vivo*.

Kata kunci: *Candida albicans*, ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*), antimikroba

ABSTRACT

Arifin, Moh Arie. 2012. The Effect of Red Ginger Extract (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) on the Growth of *Candida albicans* *In Vitro*. Final Paper, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani AS, DMM, Sp.MK(K) (2) dr. Dian Hasanah, M.Biomed.

Candida albicans is one amongst fungal pathogens that commonly causes human oral, genital, even systemic and life-threatening infections. It causes about half of all mycoses due to *Candida* genus which are called *candidiasis*. In experiment on society, prevalence of candidiasis was very high, as much as 75% of all most common reproduction disease. Although the treatment available shown to be effective, many Indonesian people still prefer to use natural ingredients to overcome candidiasis. One natural alternative therapy that can be used is red ginger extract (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*). The active compositions of red ginger which allegedly useful as antimicrobial are flavonoid, alkaloid, terpenoid, tannin dan saponin. This experiment will be the first step to prove the antifungal effect of red ginger in growth of *Candida albicans* in vitro. An experimental study using the post test control design only is conducted to *Candida albicans* with tube dilution method and dilution agar. The treated groups are given red ginger extract on variable doses, such as 17.5%, 20%, 22.5%, 25%, 27.5% dan 30%. The control groups are group with 0%. The results indicated that red ginger extract have antifungal effect properties with MIC and MBC are 25% and 27.5%, respectively. From the statistical analysis, it was shown that there were significant differences between the doses of red ginger extract and the growth of *Candida albicans*. (significance 0.000 $p < 0.05$). The regression correlation test shows a strong correlation between two variables, doses of extract and the growth of fungi (correlation(r) = -0.884). This experiment brought up a conclusion that red ginger seed extract has an antifungal effect on *Candida albicans* shown by the inhibition of their growth. Another research is still necessary to explore the potential of red ginger extract in vivo.

Keywords: *Candida albicans*, red ginger extract (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*), antimicroba

DAFTAR ISI

Halaman Judul.....	i
Halaman Persetujuan	ii
Kata Pengantar.....	iii
Abstrak	vi
Abstract.....	vii
Daftar Isi	viii
Daftar Gambar	xii
Daftar Tabel.....	xiii
Daftar Lampiran.....	xiv
Daftar Singkatan.....	xv
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	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat Ilmu Akademik	3
1.4.2 Manfaat Medis / Praktis	4
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Candida albicans</i>	5
2.1.1 Taksonomi <i>Candida albicans</i>	5
2.1.2 Morfologi <i>Candida albicans</i>	5

2.1.3 Reproduksi <i>Candida albicans</i>	6
2.1.4 Struktur Fisik.....	8
2.1.5 Struktur Genetik	9
2.2 Kandidiasis.....	10
2.2.1 Definisi Kandidiasis.....	10
2.2.2 Patogenesis dan Temuan Patologis.....	11
2.2.3 Diagnonis Kandidiasis Vulvavaginal.....	12
2.3 Jahe (<i>Zingiber officinale</i>).....	14
2.3.1 Taksonomi dan Karakteristik jahe (<i>Zingiber officinale</i>).....	15
2.3.2 Morfologi jahe (<i>Zingiber officinale</i>).....	15
2.3.3 Kandungan kimia.....	17
2.3.4 Manfaat	23
2.3.5 Distribusi dan Habitat	25
2.4 Ekstraksi.....	25
2.4.1 Pengertian Ekstraksi.....	25
2.4.2 Jenis – jenis Proses Ekstraksi.....	25
2.5 Etanol.....	28
2.6 Antifungi	29
2.6.1 Mekanisme Antifungi	29
2.6.2 Resisten Terhadap Antifungi	33
2.7 Uji Kepekaan Antifungi secara <i>in vitro</i>	35
2.7.1 Metode Dilusi Tabung	35
2.7.2 Metode Difusi Agar	36

BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian.....	37
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep.....	38
3.3 Hipotesis Penelitian	39

BAB 4 METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian	40
4.2 Tempat Penelitian	40
4.3 Sampel Penelitian	40
4.4 Teknik Sampling	41
4.5 Variabel Penelitian	41
4.5.1 Variabel Tergantung	41
4.5.2 Variabel Bebas.....	41
4.6 Defenisi Operasional.....	42
4.7 Alat dan Bahan Penelitian.....	42
4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak jahe merah	42
4.7.2 Alat dan Bahan Kultur <i>Candida albicans</i>	43
4.7.3 Alat dan Bahan Pewarnaan Gram.....	43
4.7.4 Alat dan Bahan Uji Germinating Tube.....	43
4.7.5 Alat dan Bahan Original inoculum <i>Candida albicans</i>	43
4.7.6 Alat dan Bahan Uji Dilusi Tabung	43
4.7.7 Alat dan Bahan Uji Streaking Plate	44
4.8 Prosedur Penelitian	44
4.8.1 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	44
4.8.2 Persiapan Suspensi <i>Candida albicans</i>	45
4.8.3 Pembuatan Ekstrak Rimpang Jahe Merah	46

4.8.4 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Jahe Merah (<i>Zingiber officinale</i> var. <i>Rubrum</i>) terhadap <i>Candida albicans</i>	47
4.9 Analisis Data	50
4.10 Diagram Alur Penelitian	51

BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Pengamatan	52
5.1.1 Hasil Identifikasi Jamur.....	52
5.1.2 Gambaran Ekstrak Jahe Merah.....	53
5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis Terhadap KHM.....	53
5.1.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM	55
5.2 Analisis Data	59
5.2.1 Analisis Data dengan Metode <i>One-way</i> Anova.....	59
5.2.2 Analisis Data dengan Uji Korelasi dan Regresi Linier.....	60

BAB 6 PEMBAHASAN

6.1 <i>Candida albicans</i>	61
6.2 Jahe merah (<i>Zingiber officinale</i> var <i>Rubrum</i>).....	61
6.3 Metode dilusi tabung (<i>tube dilution test</i>).....	63
6.4 Hasil penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM).....	63
6.5 Hasil penentuan Kadar Bunuh minimum (KBM)	65
6.6 Implikasi Terhadap Bidang Kedokteran	65

BAB 7 PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	68
7.2 Saran	68

DAFTAR PUSTAKA	69
-----------------------------	-----------

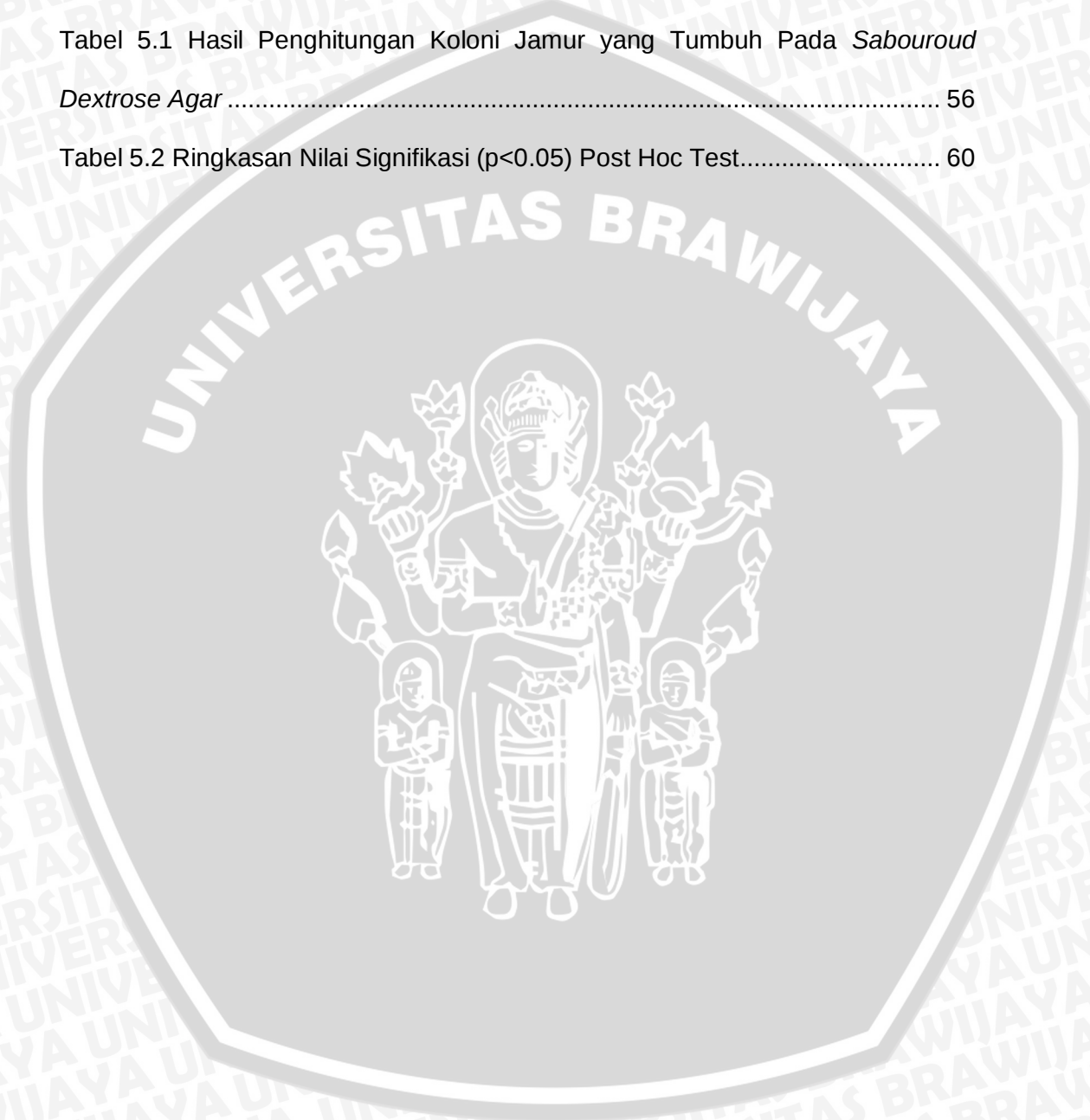
LAMPIRAN	78
-----------------------	-----------

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Perubahan Morfologi <i>Candida albicans</i>	6
Gambar 2.2 Skema Dinding sel <i>Candida albicans</i>	8
Gambar 2.3 Tanaman dan Rimpang Jahe	15
Gambar 2.4 Representasi Skematik Interaksi antara Amphotericin B dan Kolesterol dalam Phospolipid Bilayer	30
Gambar 2.5 Jalur Biosintesis Ergosterol dan Lokasi Aktifitas Inhibitori Berbagai Antifungi	32
Gambar 2.6 Mekanisme Resistensi Sel terhadap Azole.....	34
Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian	37
Gambar 4.1 Diagram Alur Penelitian	51
Gambar 5.1 Morfologi Koloni dan Sel <i>Candida albicans</i>	52
Gambar 5.2 Pseudohifa <i>Candida albicans</i> pada Uji Geminating Tube Test	53
Gambar 5.3 Tingkat Kekeruhan pada Uji Dilusi Tabung.....	54
Gambar 5.4 Grafik Konsentrasi Jahe Merah terhadap jumlah koloni <i>Candida albicans</i>	56
Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni <i>Candida albicans</i> pada medium <i>Sabouraud Dextrose Agar Candida albicans</i>	57
Gambar 5.6 Grafik pertumbuhan <i>Candida albicans</i> pada medium <i>Sabouroud Detrose Agar</i> dengan Konsentrasi tertentu Ekstrak Jahe Merah..	58

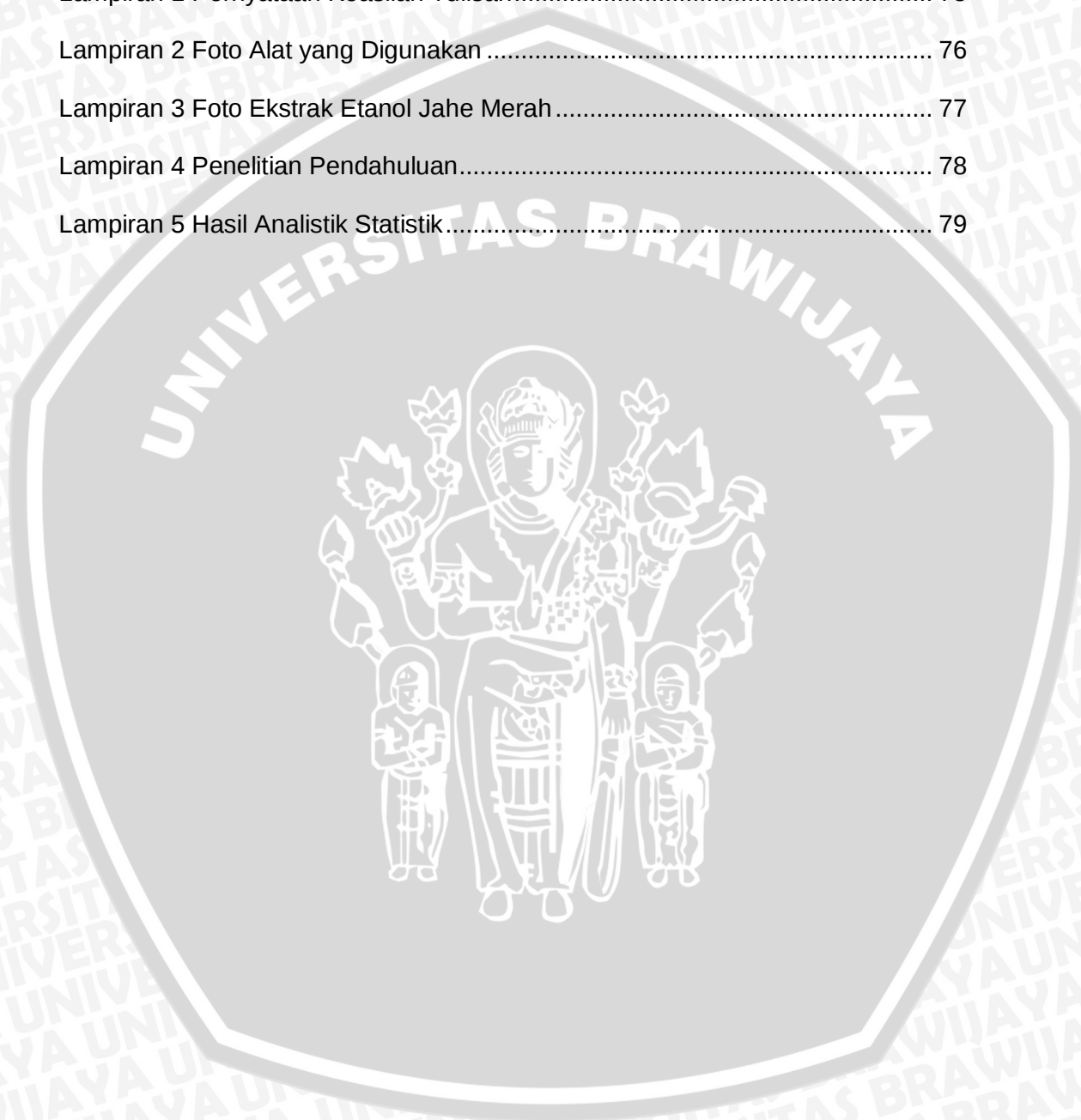
DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Keuntungan dan Kerugian Prinsip Soxhletasi.....	27
Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Jamur yang Tumbuh Pada <i>Sabouroud Dextrose Agar</i>	56
Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikasi ($p < 0.05$) Post Hoc Test.....	60



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Pernyataan Keaslian Tulisan.....	75
Lampiran 2 Foto Alat yang Digunakan	76
Lampiran 3 Foto Ekstrak Etanol Jahe Merah	77
Lampiran 4 Penelitian Pendahuluan.....	78
Lampiran 5 Hasil Analistik Statistik.....	79



DAFTAR SINGKATAN

ATP	: Adenosine-5'-triphosphate
CFU	: Colony Forming Unit
DNA	: Deoxyribonucleic acid
DPPH	: Diphenyl picril hydrazil hydrate
FUMP	: Fluorouridylic acid
FRAP	: Fluorescence recovery after photobleaching
IUPAC	: International Union Of Pure Acid Applied Chemistry
KBM	: Kadar Bunuh Minimum
KHM	: Kadar Hambat Minimum
KJ	: Kontrol Jamur
KOH	: Kalium hidroksida
Mbp	: Myelin basic protein
NaCl	: Natrium klorida
OD	: Optical density
OI	: Original inoculum
PMN	: Polymorphonuclear
SDA	: Sabouroud Dextrose Agar
SPSS	: Statistical Product of Service Solution
UV	: Ultraviolet



BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Candida albicans merupakan agen infeksi oportunistik yang menarik untuk dijadikan topik penelitian. Organisme yang menetap di dalam saluran atau bagian tubuh yang berhubungan dengan lingkungan luar pada 80% manusia ini merupakan salah satu jamur patogen yang umum menjangkiti manusia, baik yang bersifat lokal maupun yang bersifat sistemik. Bahkan, *Candida albicans* sendiri bertanggung jawab terhadap sekitar setengah dari seluruh mikosis akibat genus *Candida* yang dikenal dengan istilah kandidiasis (Hazen, 1995).

Candida albicans dapat menjadi agen infeksius ketika terdapat beberapa perubahan pada lingkungan tubuh yang menyebabkan pertumbuhan *Candida albicans* menjadi tidak terkontrol (The Health Central Network, 2009). Karena itu, meningkatnya prevalensi infeksi *Candida albicans* dapat diamati pada kelompok penderita AIDS, resipien transplantasi organ, dan pasien yang menjalani kemoterapi (Segal, 1994). Dalam dua dekade terakhir, *Candida albicans* telah menjadi salah satu penyebab infeksi nosokomial pada pasien di rumah sakit (Vazquez, 2005). Selain itu, penyakit infeksi nosokomial akibat jamur juga disebabkan oleh spesies lain yaitu, *Candida glabrata* dan *Candida parapsilosis* (Silviana, 2006). Tidak hanya itu, sekitar 75% wanita usia subur pernah mengalami infeksi *Candida albicans* pada traktus genitalis setidaknya satu kali selama hidupnya (Dwikarya, 2004). Infeksi ini ditandai dengan gejala utama rasa gatal dan rasa panas pada vagina. Sering juga dijumpai keputihan yang banyak seperti putih susu atau putih keju yang berbau asam dan pada

dinding vagina sering dijumpai gumpalan keju sedangkan pada vagina sering terdapat tanda radang, maserasi, pseudomembran, fissura, lesi satelit papulopostular. Prinsip penyakit ini adalah jika seseorang mempunyai faktor predisposisi untuk terjadinya pertumbuhan yang berlebihan dari *Candida albicans*. Faktor predisposisi tersebut meliputi penggunaan obat kontrasepsi dengan kadar estrogen yang tinggi, kehamilan, pemakaian antibiotik, kelembaban vagina, pakaian yang ketat, dan penyakit menular seksual (Silvina, 2006).

Jahe merupakan tanaman obat yang telah lama dikenal dan dimanfaatkan dalam masyarakat. Ekstrak jahe putih (*Zingiber officinale* var. *amarum*) banyak mengandung komponen oleoresin dan minyak atsiri. Komponen dalam oleoresin terdiri senyawa gingerol, gingerdiol, zingerone dan shogaol yang memiliki efek sebagai antijamur. Pada tahun 1991 telah dilakukan penelitian efek antijamur jahe terhadap jamur *Tricophyton mentagrophytes*, *Tricophyton rubrum*, dan *Microsporum canis*. Hasil penelitian tersebut, ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) mampu menghambat *Tricophyton mentagrophytes*, *Tricophyton rubrum*, dan *Microsporum canis*. Selain antijamur, jahe juga dapat digunakan untuk anti inflamasi, penghangat badan, mengatasi mual dan mengobati gangguan pada Gastrointestinal (Viska, 2009).

Berdasarkan uraian tersebut, maka penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara in vitro.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah etanol ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Untuk membuktikan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki Kadar Hambat Minimum (KHM) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*
2. Membuktikan bahwa ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Ilmu Akademik

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai dasar bagi penelitian selanjutnya dalam pengembangan obat antimikotik yang efektif, alamiah, dan aman dari bahan jahe merah yang sejauh ini penggunaannya masih sangat kurang.
2. Menambah ilmu pengetahuan terutama dibidang kedokteran yang berkaitan dengan pemanfaatan ekstrak jahe merah (*Zingiber*

officinale var. *Rubrum*) sebagai antimikotik (anti jamur) pada pengobatan Kandidiasis.

3. Dapat menjadi bahan pertimbangan bagi penulisan karya ilmiah atau penelitian tentang bagaimana efek antijamur jahe merah terhadap *Candida albicans* secara *in vivo* pada hewan coba atau manusia baik secara topical atau sistemik

1.4.2 Manfaat Klinik / Praktis

1. Memberikan informasi kepada masyarakat tentang efek ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) sehingga dapat diupayakan sebagai obat antijamur alternatif
2. Memberikan alternatif anti jamur untuk pengobatan pasien dengan infeksi *Candida albicans*

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans***2.1.1 Taksonomi *Candida albicans***

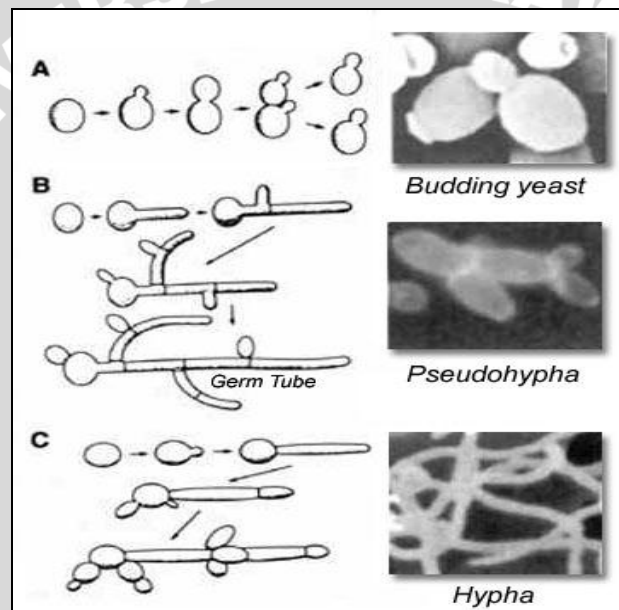
Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

(Catalogue of Life, 2007)

2.1.2 Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans merupakan jamur dimorfik, yaitu jamur yang mampu tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk pseudohifa. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Morfologi koloni *Candida albicans* pada medium padat agar *Sabouraud dextrose Agar*, umumnya berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung, halus, licin dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang telah tua. Koloni *candida albicans* pada biakan berwarna putih kekuningan dan berbau asam (Segal, 2010).

Pada medium tertentu, di antaranya agar tepung jagung (*corn-meal agar*), agar tajin (*rice-cream agar*) atau agar dengan 0,1% glukosa terbentuk klamidospora terminal berdinding tebal dalam waktu 24-36 jam. Pada biakan lain dengan menggunakan medium agar eosin metilen biru dengan suasana CO₂ tinggi selama 24-48 jam, menunjukkan adanya gambaran yang khas menyerupai kaki laba-laba atau pohon cemara.



Gambar 2.1 Perubahan Morfologi *Candida albicans*
(<http://overcomingcandida.com>)

2.1.3 Reproduksi *Candida albicans*

Candida albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Pada beberapa *strain*, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah sekitar 8-12 μ . *Candida*

albicans dapat tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat tumbuh dalam perbenihan pada suhu 28°C - 37°C . *Candida albicans* membutuhkan senyawa organik sebagai sumber karbon dan sumber energi untuk pertumbuhan dan proses metabolismenya. Unsur karbon ini dapat diperoleh dari karbohidrat. Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana aerob dan anaerob. Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO_2 dan H_2O dalam suasana aerob (Segal, 2010).

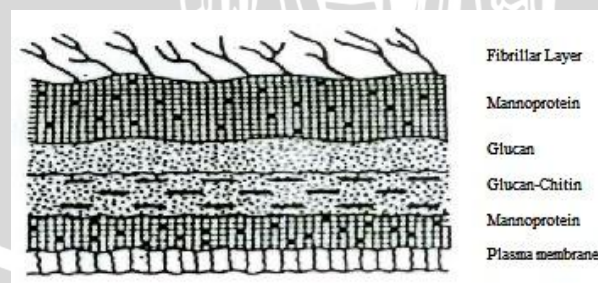
Didalam suasana anaerob hasil fermentasinya berupa asam laktat atau etanol dan CO_2 . Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, karbohidrat dipakai oleh *Candida albicans* sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel *Candida albicans* dapat dibedakan dari spesies lain berdasarkan kemampuannya melakukan proses fermentasi dan asimilasi. Pada kedua proses ini dibutuhkan karbohidrat sebagai sumber karbon. Pada proses fermentasi, jamur ini menunjukkan hasil terbentuknya gas dan asam pada glukosa dan maltosa, terbentuknya asam pada sukrosa dan tidak terbentuknya asam dan gas pada laktosa. Pada proses asimilasi menunjukkan adanya pertumbuhan pada glukosa, maltosa dan sukrosa namun tidak menunjukkan pertumbuhan pada laktosa (Segal, 2010).

2.1.4 Struktur Fisik

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung sekaligus sebagai target dari beberapa zat antifungi. Dinding sel juga turut berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik (Segal, 1994). Fungsi utama dinding sel adalah memberi bentuk bagi sel ragi sekaligus melindungi sel ragi dari lingkungannya (Kreger van Rij, 1984).

Candida albicans mempunyai struktur dinding sel yang kompleks dengan tebal antara 100 nm hingga 400 nm. Komposisi primernya terdiri dari glukukan (47-60% dari seluruh berat kering dinding sel), manan dan protein (15-30% dari seluruh berat kering dinding sel), serta khitin (6-9% dari seluruh berat kering dinding sel). Dalam bentuk ragi, kecambah, dan miselium, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa. Meskipun demikian, bentuk miselium memiliki khitin tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan bentuk sel ragi (Segal, 1994).

Dinding sel *Candida albicans* ternyata berlapis-lapis. Bavin dan Segal (1994) mengemukakan bahwa dinding sel *Candida albicans* sebenarnya terdiri dari lima lapisan yang berbeda.



Gambar 2.2 Skema Dinding Sel *Candida albicans*
(Library of Congress Cataloging in Publication Data, 1994)

Seperti pada sel eukariotik lain, membran sel *Candida albicans* terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktifitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukan sintase, ATPase dan protein yang mentranspor fosfat. Keberadaan membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting karena sterol merupakan target zat antifungi dan kemungkinan merupakan lokasi kerja enzim - enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Reiss and Morrison, 1993; Roberts *et al.*, 1996). Mitokondria pada *Candida albicans* merupakan pembangkit daya sel. Organel ini memproduksi ATP dengan menggunakan energi yang diperoleh dari penggabungan oksigen dengan molekul-molekul makanan (Tjampakasari, 2006).

Seperti halnya pada eukariot lain, nukleus *Candida albicans* merupakan organel paling menonjol. Organel ini dipisahkan dari sitoplasma oleh dua lapis membran. Nukleus menyimpan semua DNA kromosom yang terkemas dalam serat-serat kromatin. Bagian dalam nukleus berhubungan dengan sitosol melalui pori-pori nukleus (Roberts *et al.*, 1996). Vakuola berperan dalam sistem pencernaan sel sebagai tempat penyimpanan lipid dan granula polifosfat. Mikrotubulus dan mikrofilamen terdapat di dalam sitoplasma. Pada *Candida albicans*, mikrofilamen berperan penting dalam terbentuknya perpanjangan hifa (Roberts *et al.*, 1996).

2.1.5 Struktur Genetik

Candida albicans memiliki genom diploid. Ukuran kromosom *Candida albicans* diperkirakan berkisar antara 0,95-5,7 Mbp (Segal, 1994). Galur *Candida albicans* dapat dibedakan dengan beberapa metode yang menggunakan *Alternating Field Gel Electrophoresis*. Perbedaan galur ini dapat dilihat dari pola

pita yang dihasilkan dan metode yang digunakan. Galur yang sama memiliki pola pita kromosom yang sama berdasarkan jumlah dan ukurannya (Tjampakasari, 2006).

Sebanyak 17 galur isolat *Candida albicans* dari kasus kandidiasis telah dipelajari dan dikelompokkan menjadi 6 tipe dengan metode elektroforesis. Adanya variasi dalam jumlah kromosom kemungkinan besar merupakan hasil penyusunan ulang kromosom (*chromosome rearrangement*) yang dapat terjadi akibat delesi, adisi atau variasi dari pasangan yang homolog. Peristiwa ini merupakan hal yang sering terjadi dan merupakan bagian dari daur hidup normal berbagai macam organisme. Hal ini juga seringkali menjadi dasar perubahan sifat fisiologis, serologis maupun virulensi (Segal, 1994).

Pada *Candida albicans*, frekuensi terjadinya variasi morfologi koloni dilaporkan sekitar 10^{-2} hingga 10^{-4} . Frekuensi ini meningkat oleh mutagenesis akibat penyinaran UV dosis rendah yang dapat membunuh kurang dari 10% populasi. Terjadinya mutasi dapat dikaitkan dengan perubahan fenotip, berupa perubahan morfologi koloni menjadi putih halus, gelap halus, berbentuk bintang, lingkaran, berkerut tidak beraturan, berbentuk seperti topi, berbulu, berbentuk seperti roda, berkerut dan bertekstur lunak (Segal, 1994).

2.2 Kandidiasis

2.2.1 Definisi Kandidiasis

Kandidiasis merupakan mikosis sistemik maupun kutan atau mukosa terbanyak yang disebabkan oleh infeksi spesies *Candida*. Etiologi yang paling sering adalah *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*,

Candida glabrata, *Candida guilliermondii*, dan *Candida dubliniensis* (Brooks et al., 2004).

2.2.2 Patogenesis dan Temuan Patologis

Mekanisme pertahanan tubuh pada integumen yang *intact* merupakan perlawanan terhadap infeksi Kandidiasis. Beberapa hal yang memicu maserasi pada kulit akan menyebabkan munculnya tempat potensial untuk invasi *Candida* bahkan pada individu yang sehat. Beberapa tahun ini dikemukakan peran dari sel dendritik untuk mempertahankan integritas kulit dan mukosa. Apabila *Candida* menginvasi dermis atau masuk ke dalam aliran darah, maka sel leukosit polimorfonuklear (sel PMN) berperan penting pada pertahanan tubuh karena sel PMN memiliki kapasitas untuk merusak pseudohifa, untuk memfagositosis dan membunuh blastospora. Berdasarkan penelitian, enzim mieloperoksidase, hydrogen peroksida, dan anion superoksida merupakan mekanisme utama dalam membunuh *Candida albicans* secara intraseluler. Disamping itu, neutrofil, monosit dan eosinofil juga memiliki fungsi fagositosis seperti sel dendritik. Akan tetapi, neutrofil dan monosit hanya sedikit memiliki mieloperoksidase, dimana hal ini menentukan kapasitas untuk membentuk hydrogen peroksida dan anion superoksida untuk membunuh *Candida albicans* dengan efektif. Sel-sel lain seperti sel endothelial dan sel epitel juga dapat menelan organism pada percobaan *in vivo*, namun tidak memiliki efek membunuh secara langsung. Platelet juga memiliki aktifitas anti-*Candida*, dimana *platelet-derived factor* menstimulasi produksi *germ tube* dan *Candida cell wall fractions agglutinate platelets* (Fauci et al., 2008).

Pada bentuk manifestasi serius dari infeksi *Candida*, organisme ini menyebar secara hematogen, membentuk mikro dan makroabses pada organ-organ utama dalam tubuh. Meskipun mekanisme pasti belum diketahui, namun kemungkinan besar *Candida* masuk ke aliran darah dari permukaan mukosa setelah berkembang dalam jumlah yang besar akibat penggunaan antibiotika. Perubahan bentuk dari blastospora menjadi pseudohifa dan hifa mengakibatkan candida dapat berpenetrasi ke jaringan dan menyebabkan manifestasi klinis (Fauci *et al.*, 2008).

2.2.3 Diagnosis Kandidiasis Vulvovaginal

1. Gejala Klinis

Tidak ada gejala dan tanda klinis yang spesifik untuk menegaskan diagnosis kandidiasis vulvovaginal. Gejala yang sering terjadi pada pasien dengan kandidiasis vulvovaginal adalah gatal (*pruritus*) dan duh (sekret) vagina. Karakteristik sekret vagina penderita kandidiasis adalah seperti keju lunak berwarna putih susu, kadang bergumpal, dan tidak berbau dengan keluhan lain yang mungkin terjadi adalah rasa nyeri pada vagina, iritasi dan sensasi terbakar pada vulva, dispareuni (sakit saat berhubungan kelamin), serta disuria (nyeri saat kencing). Pada inspeksi, dapat dilihat labia dan vulva eritem dan membengkak disertai lesi pustulopapular diskret di bagian tepi. Melalui spekulum, serviks terlihat normal sedangkan epitel vagina tampak eritem disertai duh keputihan dan terdapat lesi satelit. Infeksi dapat menjalar ke daerah inguinal dan perianal. Balanopostitis terjadi pada pria yang berhubungan seksual dengan wanita yang terinfeksi. Gejalanya berupa kemerahan, gatal, dan sensasi terbakar pada penis.

Gejala pada pria tersebut biasanya bersifat sembuh sendiri (*self-limiting disease*) (Farmacia, 2007).

2. Pemeriksaan Penunjang

Pemeriksaan penunjang yang digunakan untuk identifikasi infeksi oleh *Candida albicans* didapatkan dari sampel secret vagina yang diambil dari dinding lateral vagina, kemudian dicampur dengan NaCl 0,9% atau KOH 10%. Selain sediaan basah, dapat juga dilakukan sediaan apusan dengan pewarnaan Gram. Di bawah mikroskop, bila kandidiasis positif akan ditemukan blastospora atau pseudohifa. Kadar pH vagina pada kandidiasis normal (4-4,5). Pengukuran pH vagina perlu dilakukan agar dapat membedakan dengan infeksi bakterial vaginosis, trikomoniasis, atau infeksi campur yang biasanya bersifat basa (pH >5) (Farmacia, 2007).

3. Penatalaksanaan

Berdasarkan Pedoman Pelayanan Medis Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo (2005), dalam pengobatan kandidiasis, digunakan antimikotik golongan azol oral. Saat ini, penggunaan ketokonazol sebagai obat lini pertama mulai terbatas karena efek sampingnya berupa hepatotoksik. Beberapa alternatif diantaranya adalah:

1. Flukonazol 150 mg, oral, dosis tunggal
2. Itrakonazol 2×200 mg, oral, selama 1 hari
3. Itrakonazol 1×200 mg/hari, oral, selama 3 hari
4. Itrakonazol 2×200 mg/hari, oral, selama 5 hari
5. Klotrimazol kapsul vagina 500 mg, dosis tunggal
6. Klotrimazol kapsul vagian 200 mg, selama 3 hari
7. Klotrimazol kapsul vagina 100 mg, selama 6 hari

Golongan lain selain azol yang dapat juga digunakan adalah nistatin dengan dosis 100.000 IU, intravagina, 1x/hari, selama 14 hari. Keuntungan golongan azol daripada nistatin adalah waktu penyembuhan lebih singkat dan efektif namun lebih mahal. Golongan azol oral merupakan kontraindikasi bagi wanita hamil. Oleh karena itu, dapat diganti dengan golongan azol topikal (kapsul vagina). Nistatin merupakan agen primer yang digunakan untuk pengobatan kandidiasis kutan dan membran kutan, sedangkan klotrimazol dan mikonazol efektif untuk sindroma mukokutan dan obat alternatif topikal setelah nistatin terutama untuk infeksi kandida (Pedoman Pelayanan Medis Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin, Rumah Sakit Cipto Mangunkusumo, 2005).

2.3 Jahe (*Zingiber officinale*)

Jahe (*Zingiber officinale*) merupakan tanaman obat berupa tumbuhan rumpun berbatang semu. Dalam kehidupan sehari – hari, jahe sering digunakan sebagai bahan minuman, bumbu masakan dan obat – obat tradisional. Jahe termasuk dalam suku temu – temuan (*Zingiberaceae*), se-family dengan temu lawak (*Cucuma xanthorriza*), temu hitam (*Curcuma aeruginosa*), kunyit (*Curcuma domestica*), kencur (*Kaempferia galanga*) dan lengkuas (*Languas galanga*). Nama daerah jahe antara lain haila (Aceh), beeuing (Gayo), bahing (Batak Karo), sipodeh (Minangkabau), jahi (Lampung), jahe (Sunda), jae (Jawa dan Bali), jhai (Madura), melito (Gorontalo), geraka (Ternate) (Paimin, 2008 dan Muhlisah F, 2005)

2.3.1 Taksonomi dan klasifikasi (Hapsoh dkk., 2007)

Divisi	: Spermatopytha
Sub Divisi	: Angiospermae
Kelas	: Monocotylodeneae
Ordo	: Zingiberales
Famili	: Zingiberaceae
Genus	: Zingiber
Spesies	: Zingiber officinale



A

B

Gambar 2.3 Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) (A) dan Tanaman jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) (B)
(Paimin dan Murhananto, 2008)

2.3.2 Morfologi Tanaman

Tanaman rumput – rumputan tegak berbatang semu, tinggi 30 – 75 cm, bila rimpang dipotong berwarna kuning atau jingga. Daun tunggal berwarna hijau, helai daun berbentuk lanset, tepi rata, ujungnya runcing, pangkalnya tumpul, panjang 15 – 23 cm dan lebar lebih kurang 2,5 cm. Perbungaan malai tersembul dipermukaan tanah berbentuk tongkat atau bulat telur, panjang 3,5 – 5 cm dan

lebarnya 1,5 – 1,75 cm. Mahkota bunga berbentuk tabung 2 – 2,5 cm helainya agak sempit berbentuk tajam, berwarna kuning kehijauan, bibir berwarna ungu, berbintik – bintik berwarna putih kekuningan dan kepala sari berwarna ungu. Akarnya yang bercabang – cabang dan berbau harum berwarna kuning atau jingga dan berserat (Paimin, 2008 dan Rukmana, 2000).

Berdasarkan ukuran, bentuk dan warna rimpang, jahe dibedakan menjadi tiga jenis yaitu :

1. Jahe putih / kuning besar

Ditandai dengan ukuran rimpang yang besar dan gemuk, warna kuning muda atau kuning, berserat halus. Beraroma berasa tapi kurang tajam. Dikonsumsi baik sebagai jahe segar dan olahan, sering juga dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman (Paimin dan Murhananto, 2008).

2. Jahe kuning kecil

Ditandai dengan ukuran rimpangnya yang sedang, bentuk agak pipih, berwarna putih, berserat lembut dan beraroma tajam (pedas). Memiliki kandungan minyak atsiri lebih banyak, sehingga jahe ini cocok untuk ramuan obat – obatan atau diekstrak oleoresin dan minyak atisirinya (Paimin dan Murhananto, 2008).

3. Jahe Merah

Ditandai dengan ukuran rimpangnya yang lebih kecil, berwarna merah jingga, berserat kasar, beraroma tajam (pedas). Memiliki kandungan minyak atsiri yang sama dengan jahe kuning kecil, sehingga cocok untuk obat – obatan (Paimin dan Murhananto, 2008).

2.3.3 Kandungan kimia

Kandungan senyawa antara lain flavonoida, polivenol, minyak atsiri, gingerol, saponin, tanin, terpenoid, limonene, caprylic acid, renin dan famesol. (Sudarsono *et al.*, 1996). Kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, terpenoid, minyak atsiri, dan tanin juga dapat sebagai antijamur dengan menunjukkan terjadinya efek apoptosis dari sel jamur. Sel mengalami penghambatan proliferasi, terjadi pengerutan sel dan kondensasi dari kromosom dan senyawa renin juga dapat menghambat sintesis khitin jamur (Markus, 1999 dan Vadma *et al.*, 2007)

1. Flavonoid

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid mempunyai sifat yang khas yaitu bau yang sangat tajam, sebagian besar merupakan pigmen warna kuning, dapat larut dalam air dan pelarut organik, mudah terurai pada temperatur tinggi (Melderen, 2002). Flavonoid berfungsi sebagai antifungi dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel bakteri. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya adalah mendenaturasi protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsyi, 2008).

Senyawa ini juga berfungsi sebagai anti inflamasi, anti alergi dan aktifitas anti kankernya serta antioksidan. Flavonoid telah dipelajari sejak 1948 dan efek antioksidannya belum ada yang mempertentangkan. Flavonoid yang bersifat lipofilik membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler, dan dengan dinding sel fungi, serta merusak membran sel fungi (Asti, 2009). Flavonoid diketahui telah disintesis oleh tanaman dalam responsnya terhadap infeksi mikroba.

Aktivitas tersebut kemungkinan disebabkan oleh kemampuannya untuk membentuk kompleks dengan protein ekstraseluler dan terlarut, dan dengan dinding sel. Flavonoid yang bersifat lipofilik mungkin juga akan merusak membran mikroba (Melderer, 2002). Semakin lipofilik suatu flavonoid, kemampuannya dalam merusak dinding sel semakin kuat (Cowan, 1999).

2. Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa organik dan termasuk golongan senyawa fenol yang terdapat di alam bersifat basa atau alkali dan sifat basa ini disebabkan karena adanya atom N (Nitrogen) dalam molekul senyawa tersebut dalam struktur lingkaran heterosiklik atau aromatis, dan dalam dosis kecil dapat memberikan efek farmakologis pada manusia dan hewan. Selain itu ada beberapa pengecualian, dimana termasuk golongan alkaloid tapi atom N (Nitrogen)nya terdapat di dalam rantai lurus atau alifatik.

Kebanyakan alkaloid berupa padatan kristal dengan titik lebur tertentu. Dapat juga berbentuk *amorf* dan beberapa seperti nikotin, konilin berupa cairan. Alkaloid bersifat basa yang tergantung pada pasangan elektron pada nitrogen. Jika gugus fungsional yang berdekatan dengan nitrogen bersifat melepaskan elektron maka ketersediaan elektron pada nitrogen naik dan senyawa lebih bersifat basa. Jika gugus yang berdekatan bersifat menarik elektron maka ketersediaan pasangan elektron berkurang dan pengaruh yang ditimbulkan alkaloid dapat bersifat netral (Sovia, 2006).

Gingerol dan shogaol merupakan senyawa alkaloid dalam jahe (Kemper, 1999). Senyawa fenol dapat menghambat pertumbuhan jamur dengan cara merusak membran sel yang akan menyebabkan denaturasi protein dan mengurangi tekanan permukaan sel (Yongki, 2009). Senyawa ini juga efektif

melawan membran sel jamur dengan larut dalam membran sel, menyebabkan perubahan permeabilitas membran sel sehingga terjadi diagregasi membrane sel dan diikuti dengan kematian sel (Joseph, 2008).

3. Saponin

Saponin adalah suatu glikosida yang ada pada seluruh tanaman dengan konsentrasi tinggi pada bagian-bagian tertentu, dan dipengaruhi oleh varietas tanaman dan tahap pertumbuhan. Fungsi dalam tumbuh-tumbuhan tidak diketahui, mungkin sebagai bentuk penyimpanan karbohidrat, atau merupakan produk sampingan dari metabolisme tumbuh-tumbuhan. Kemungkinan lain adalah sebagai pelindung terhadap serangan serangga. Sifat-sifat Saponin adalah: 1) Mempunyai rasa pahit, 2) Dalam larutan air membentuk busa yang stabil, 3) Menghemolisa eritrosit, 4) Merupakan racun kuat untuk ikan dan amfibi, 5) Membentuk persenyawaan dengan kolesterol dan hidroksteroid lainnya, 6) Sulit untuk dimurnikan dan diidentifikasi, 7) Berat molekul relatif tinggi, dan analisis hanya menghasilkan formula empiris yang mendekati.

Berdasarkan atas sifat kimiawinya, saponin dapat dibagi dalam dua kelompok: 1) Steroids dengan 27 atom C, 2) Triterpenoids, dengan 30 atom C. Macam-macam saponin berbeda sekali komposisi kimiawinya, yaitu berbeda pada aglikon (sapogenin) dan juga karbohidratnya, sehingga tumbuh-tumbuhan tertentu dapat mempunyai macam-macam saponin yang berlainan, seperti:

- *Quillage saponin* : campuran dari 3 atau 4 saponin
- *Alfalfa saponin* : campuran dari paling sedikit 5 saponin
- *Soy bean saponin* : terdiri dari 5 fraksi yang berbeda dalam sapogenin, atau karbohidratnya, atau dalam kedua-duanya.

Saponin memiliki aktivitas antifungi dan antibakterial berspektrum luas, mampu menurunkan kolesterol dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Gugus lipofilik pada saponin dapat merusak membran sel. Saponin merupakan metabolit sekunder yang banyak terdapat di alam, terdiri dari gugus gula yang berikatan dengan aglikon atau sapogenin. Secara struktural, saponin tersusun atas satu atau lebih pecahan glikosida hidrofilik yang terkombinasi dengan derivat *polycyclic aglycone*. Bahan aktif ini bekerja menghambat sintesis protein melalui penghambatan transkripsi dan translasi. (Raju, *et al.*, 2004; Cornell University, 2008).

Saponin dapat menghemolisis sel darah dan diketahui bahwa membran bakteri menyerupai membran sel darah merah sehingga saponin dapat melisis membran sel bakteri. Saponin bersifat racun bagi hewan poikilotermis (berdarah dingin) sehingga dapat dimanfaatkan untuk membasmi hama tertentu. Saponin memiliki tekstur seperti sabun dan sering disebut deterjen alami. Apabila dikocok dengan air, saponin dapat menghasilkan busa, busa ini akan semakin melimpah jika temperatur air dinaikkan. Ekstrak dari tanaman yang mengandung saponin bisa digunakan dalam bidang industri misalnya digunakan sebagai bahan kosmetik dan sampo. Saponin memiliki aktifitas luas sebagai agen antifungi, penurun kolesterol tubuh, dan menghambat pertumbuhan sel kanker. Saponin dapat bekerja menghambat DNA polimerase sehingga sintesis asam nukleat terganggu (Raju, *et al.*, 2004).

Saponin telah lama dikenal dapat melisis membran sel. Aktivitas ini dipercaya merupakan akibat dari afinitas *aglycone* terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air. Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas

enzimatik membran sel dan transport ion yang melewati membran sel (Ma and Xiao, 1998). Ketika berikatan dengan kolesterol, saponin mengakibatkan perubahan lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter, dan reseptor (Rao and Sung, 1995).

4. Tannin

Tannin didapat dalam bentuk amorf, kuning atau masa coklat seperti bubuk, serpihan atau *sponge*. Tannin biasanya ditemui di kulit kayu pada pohon, dan bertindak sebagai barier terhadap mikroorganisme seperti bakteri dan jamur, sehingga melindungi pohon itu. Tannin terdiri dari sembilan molekul *asam galat* dan molekul glukosa. Tannin juga dapat melindungi kulit dengan cara mengikat protein menjadi tahan terhadap enzim proteolitik (Nenden S *et.al.*, 2007).

Polifenol yang terdiri atas tannin, flavonoid dan asam fenolat merupakan komponen yang paling menonjol dalam kaitannya dengan aktivitas antimikroba. Tannin memiliki aktivitas antifungi, secara garis besar mekanisme yang diperkirakan adalah sebagai berikut : toksisitas tannin dapat merusak membran sel fungi, senyawa tannin dapat menginduksi pembentukan kompleks senyawa ikatan terhadap enzim atau substrat mikroba dan pembentukan suatu kompleks ikatan tannin terhadap ion logam yang dapat menambah daya toksisitas tanin itu sendiri (Akiyama, 2001).

Tannin diduga dapat mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Tanin mempunyai daya antifungi dengan cara mempresipitasi protein, karena diduga tanin mempunyai efek yang sama dengan senyawa fenolik (Masduki, 1996). Efek antifungi tannin antara lain

melalui: reaksi dengan membran sel, inaktivasi enzim, dan destruksi atau inaktivasi fungsi materi genetik (Ajizah, 2004).

5. Terpenoid

Terpenoid didefinisikan sebagai produk alami yang strukturnya dibagi menjadi beberapa unit isoprene, karena itu senyawa ini disebut juga isoprenoid (C_5H_8). Unit isoprene disusun atas asetat melalui jalur asam mevalonat dan dihubungkan dengan rantai karbon yang mengandung 2 ikatan tak jenuh. Selama penyusunan terpenoid, dua unit isopren mengalami kondensasi antara kepala dan ekor. Terpenoid yang tersusun atas 2 isopren membentuk senyawa golongan monoterpenoid ($C_{10}H_{16}$). Sesquiterpen ($C_{15}H_{24}$) tersusun atas 3 unit isoprene, diterpenoid ($C_{20}H_{32}$) tersusun atas 4 unit isoprene, sesterpen ($C_{25}H_{40}$) tersusun atas 5 isopren, triterpenoid ($C_{30}H_{42}$) tersusun atas 6 unit isopren, dan tetraterpen ($C_{40}H_{64}$) tersusun atas 8 isopren.

Penamaan terpenoid menurut IUPAC (*International Union Of Pure Acid Applied Chemistry*) panjang dan sulit, untuk itu penamaan terpenoid menggunakan nama trivial. Terpenoid diklasifikasikan berdasarkan acyclic (rantai terbuka), monosiklik (1 cincin), bisiklik (2 cincin), trisiklik (3 cincin) dan sebagainya dan tidak hanya berdasarkan isoprene tetapi juga gabungan isomer-isomer seperti derivat oksigen, misal: alkohol, aldehid, keton, fenol, eter, dan ester. Dalam baasan terpenoid banyak natural produk lainnya yang tersusun oleh unit isoprene (alkaloid ergot) atau monoterpenoid (quinine). Contoh lain natural produk lainnya yang tersusun dari unit isoprene (alkaloid ergot) atau monoterpenoid yaitu cannabinoid, phyloquinones (vitamin K) dan tokoferol (vitamin E). Terpenoid diisolasi dari alam sekitar 20.000 dari tanaman, hewan, maupun mikroorganisme.

Terpenoid dapat berikatan dengan protein lipid yang terdapat pada membran sel sehingga mengganggu transport nutrisi yang dapat menyebabkan membran sel kekurangan nutrisi sehingga terjadi lisis sel (Nursa *et.al*, 2006)

2.3.4 Manfaat

Tanaman jahe tumbuh baik dan dikenal di Indonesia. Rimpangnya sering dipakai untuk bumbu masak dan pemberi rasa pada makanan. Jahe juga dapat digunakan sebagai obat – obatan tradisional. Disamping itu, jahe juga digunakan sebagai bahan minuman, karena jahe memiliki efek memberi rasa panas dalam perut (Koswara, 2006). Berikut merupakan beberapa manfaat jahe, antara lain :

- 
- 1) Analgesik : gingerol, shogaol, zingiban
 - 2) Antiagregat : gingerol
 - 3) Antianemia : gingerdiol, asam gingesulfonat
 - 4) Antibronkitik : sineol, borneol
 - 5) Antidepresan : gingerdiol, asam gingesulfonat, zingiberen, gingerenon
 - 6) Antiemetik : galanolakton, gingerol, isogingerenon, shogaol, zingibain
 - 7) Antihistamin : shogaol, gingerol, isogingerenon, zingibain
 - 8) Antimetaplastik : gingerdiol, asam gingesulfonat, zingiberen, asam kaprilat, galanolakton, geraniol
 - 9) Anti neoplasma : gingerol

- 10) Antioksidan : gingerdiol, gingerol, shogaol, isogingerenon, dehidrozingeron
- 11) Antiseratogenik : gingerol
- 12) Askarisid : geraniol
- 13) Hepatoprotektif : gingerol, shogaol, borneol, isogingerenon
- 14) Inotropik : gingerol, isogingerenon
- 15) Kronotropik negatif : sineol
- 16) Fungisid : gingerol, shogaol, isogingerenon, asam kaprilat, gingerenon
- 17) Parfum : sineol, borneol
- 18) Sedatif : gingerol, shogaol, sineol, borneol, geraniol, isogingerenon, limonene, neral, zingibain
- 19) Lipooksigenase inhibitor : Shogaol, zingeron
- 20) Proteolitik : zingibain
- 21) Nematisid : gingerol, shogaol, borneol, sineol, geraniol, isogingerenon, limonen, zingibain, neral
- 22) Siklooksigenase inhibitor : gingerol, isogingernon, shogaol, zingibain
- 23) Lipolitik : limonen
- 24) Insektisid : limonene, zingiberen
- 25) Gram (-)sid : sineol

(Shekhar dkk, 2008; Ficker, 2002; Nugroho dkk, 2006; Elfahmi, 2006;

Atai *et al.*, 2009).

2.3.5 Distribusi dan habitat

Jahe dapat tumbuh di tempat terbuka, di tanah padat, kering ataupun gembur, di kebun dan di pekarangan. Jahe tumbuh subur di ketinggian 0 hingga 1500 meter di atas permukaan laut. Supaya optimal dibutuhkan curah hujan 2500 sampai 3000 mm per tahun, kelembaban udara 80 % dan tanah dengan pH 5,5 – 7,0 dan unsur hara tinggi (Harmono dkk., 2005). Jahe juga sering di jumpai di negara – negara tropis dan subtropis antara lain di Indonesia, Malaysia, Cina, India dan Afrika (Matondang, 2007).

2.4 Ekstraksi

2.4.1 Pengertian Ekstraksi

Ekstraksi adalah suatu metode operasi yang digunakan dalam proses pemisahan suatu komponen dari campurannya dengan menggunakan sejumlah massa bahan sebagai tenaga pemisah. Apabila komponen yang akan dipisahkan (solute) berada dalam fase padat, maka proses tersebut dinamakan pelindihan atau *leaching* (Dewi, 2010 dan Naufal, 2010).

Proses pemisahan dengan cara ekstraksi terdiri dari tiga langkah dasar :

1. Proses penyampuran sejumlah massa bahan ke dalam larutan yang akan dipisahkan komponen – komponennya.
2. Proses pembentukan fase seimbang
3. Proses pemisahan kedua fase seimbang

2.4.2 Jenis-Jenis Proses Ekstraksi

Ekstraksi merupakan suatu proses pemisahan zat dari bahan padat maupun cair dengan bantuan pelarut. Pelarut yang digunakan harus dapat mengekstrak substansi yang diinginkan tanpa melarutkan material lainnya.

Ekstraksi menggunakan pelarut didasarkan pada kelarutan komponen terhadap komponen lain dalam campuran. Salah satu teknik ekstraksi adalah menggunakan air untuk mengambil pigmen alami dari tumbuhan. Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi laju ekstraksi suatu bahan atau zat, yaitu : (1) tipe persiapan sampel; (2) waktu ekstraksi; (3) Kuantitas pelarut; (4) suhu pelarut; dan (5) tipe pelarut (Utami, 2009).

1. Prinsip Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian sederhana yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari selama beberapa hari pada temperatur kamar dan terlindung dari cahaya. Metode maserasi digunakan untuk menyari simplisia yang mengandung komonen kimia yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, tiraks dan lilin. Keuntungan dari metode ini adalah peralatannya sederhana, sedangkan kerugiannya antara lain waktu yang diperlukan untuk mengekstraksi sampel cukup lama, cairan penyari yang digunakan lebih banyak, tidak dapat digunakan untuk bahan-bahan yang mempunyai tekstur keras seperti benzoin, tiraks dan lilin (Luthana, 2009).

2. Prinsip Soxhletasi

Soxhletasi merupakan penyarian simplisia secara berkesinambungan, cairan penyari dipanaskan sehingga menguap, uap cairan penyari terkondensasi menjadi molekul-molekul air oleh pendingin balik dan turun menyari simplisia dalam klongsong dan selanjutnya masuk kembali ke dalam labu alas bulat setelah melewati pipa sifon. Keuntungan dan kerugian menggunakan metode dapat dilihat pada Tabel 2.2.

Tabel 2.1 Keuntungan dan Kerugian Prinsip Soxhletasi (Luthana, 2009)

No.	Keuntungan	Kerugian
1	Dapat digunakan untuk sampel dengan tekstur yang lunak dan tidak tahan terhadap pemanasan secara langsung	Karena pelarut didaur ulang, ekstrak yang terkumpul pada wadah bagian bawah terus-menerus dipanaskan sehingga dapat menyebabkan reaksi peruraian oleh panas
2	Pelarut yang digunakan lebih sedikit	Jumlah total senyawa-senyawa yang diekstraksi akan melampaui kelarutannya dalam pelarut tertentu sehingga dapat mengendap dalam wadah dan membutuhkan volume pelarut yang lebih banyak untuk melarutkannya
3	Pemanasannya dapat diatur	Bila dilakukan dalam skala besar, mungkin tidak cocok untuk menggunakan pelarut dengan titik didih yang terlalu tinggi, seperti metanol atau air, karena seluruh alat yang berada di bawah komdensor perlu berada pada temperatur ini untuk pergerakan uap pelarut yang efektif

3. Prinsip Rotavapor

Proses pemisahan ekstrak dari cairan penyarinya dengan pemanasan yang dipercepat oleh putaran dari labu alas bulat, cairan penyari dapat menguap 5-10° C di bawah titik didih pelarutnya disebabkan oleh karena adanya penurunan tekanan. Dengan bantuan pompa vakum, uap larutan penyari akan menguap naik ke kondensor dan mengalami kondensasi menjadi molekul-molekul cairan pelarut murni yang ditampung dalam labu alas bulat penampung (Luthana, 2009).

2.5 Etanol

Etanol disebut juga etil – alkohol atau alkohol saja adalah alkohol yang sering digunakan, karena sifatnya yang tidak beracun bahan ini banyak dipakai sebagai pelarut dalam dunia farmasi dan industri makanan dan minuman. Etanol merupakan jenis pelarut polar (Dewi, 2010 dan Naufal, 2010).

- Karakteristik etanol :

1. Rumus molekul : C_2H_5OH
2. Berat molekul : 46,07 kg/mol
3. Spesifik gravity : 0,789
4. Melting point : - 112 oC
5. Boiling point : 78,4 oC
6. Soluble in water : insoluble
7. Density : 0,7991 gr/cc
8. Temperatur kritis : 243,1 oC
9. Tekanan kritis : 63,1 atm

(Dewi, 2010 dan Naufal, 2010)

2.6 Antifungi

Obat antifungi merupakan obat yang digunakan untuk mengobati infeksi akibat jamur. Antifungi dapat dikelompokkan menjadi tiga kelas berdasarkan sasaran aksinya, yaitu antifungi *azole* yang menghambat sintesis ergosterol (sterol utama jamur); polyene yang berinteraksi secara fisikokimia dengan membran sterol jamur; serta 5-fluorocytocine, yang menghambat sintesis makromolekul (Ghannoum dan Rice, 1999).

2.6.1 Mekanisme Aksi Antifungi

Berikut ini dijelaskan beberapa mekanisme aksi dari beberapa pilihan antifungi, yaitu antifungi yang mempengaruhi sterol jamur, dinding jamur, dan asam nukleat jamur.

1. Antifungi yang Mempengaruhi Sterol Jamur

Dalam pemanfaatan klinis, antifungi yang mempengaruhi sterol jamur dibagi menjadi tiga kelompok utama. Kelompok tersebut adalah: *azole*, polyene, dan allylamine/thiocarbamate. Seluruh aktivitas antifungi obat tersebut dikarenakan oleh inhibisi sintesis atau interaksi langsung dengan ergosterol, yang merupakan komponen utama membran sel jamur (Parks dan Casey, 1996).

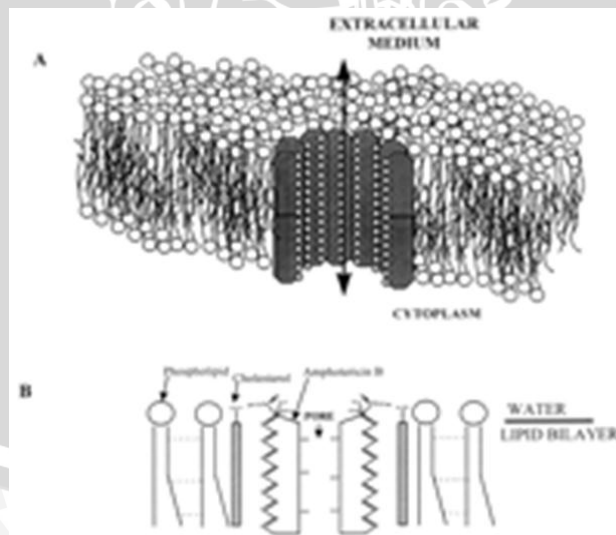
A. *Azole*

Laporan pertama mengenai aktifitas antifungi golongan *azole* diterbitkan pada akhir era 60-an (Holt, 1980; Seehan *et al.*, 1999). Komponen asli golongan ini, seperti miconazole dan econazole, beserta dengan komponen-komponen yang belakangan ditemukan, seperti ketoconazole, fluconazole, dan itraconazole, terbukti efektif untuk melawan infeksi jamur pada manusia. Diantaranya golongan *Azole*, fluconazole merupakan obat yang banyak digunakan, terutama karena

keamanan dan *efficacy* klinisnya (Hata *et al.*, 1995; Nakamura *et al.*, 1995; Perfect dan Schell, 1995; Fothergill *et al.* 1996; Itoh *et al.* 1996; Law dan Denning, 1996).

B. Polyene

Kerentanan suatu sel terhadap *polyene* seperti amphotericin B tergantung pada keberadaan sterol dalam membran plasma sel. Hal ini diperkuat fakta bahwa semua organisme yang rentan terhadap *polyene* seperti ragi, algae, dan protozoa memiliki sterol dalam membran luarnya, sementara organisme yang resisten tidak. Pentingnya sterol membran bagi aktivitas polyene juga didukung oleh studi-studi sebelumnya, yang menunjukkan bahwa jamur dapat dilindungi dari efek aksi inhibisi *polyene* tertentu dengan cara menambahkan sterol dalam medium pertumbuhan. Efek ini dipercaya merupakan hasil interaksi fisiokimia antara sterol dengan *polyene*, sehingga obat tidak dapat berikatan dengan sterol seluler (Ghannoum dan Rice, 1999).



Gambar 2.4 Representasi Skematik Interaksi antara Amphotericin B dan Kolesterol dalam Phospholipid Bilayer. (A) Pori yang terbentuk oleh gabungan dua sumuran (B) Orientasi molekuler dalam pori pada kolesterol akibat amphotericin B.

(Defever dkk 1982)

Mekanisme *polyene* yang lebih besar seperti amphotericin B diduga merupakan hasil interaksi antara obat antifungi dengan sterol membran yang menimbulkan pori-pori *aqueous* yang terdiri dari sebuah cincin yang tersusun dari delapan molekul amphotericin B yang terikat secara hidrofobik pada membran sterol. Konfigurasi ini mengubah permeabilitas membran sehingga terjadi kebocoran komponen sitoplasmik yang mengarah pada kematian organisme (Kerridge, 1980; Kerridge *et al.*, 1985). Selain itu, kematian *Candida albicans* juga dapat disebabkan oleh kerusakan oksidatif yang disebabkan oleh *polyene* (Graybill *et al.*, 1997).

C. Allylamine

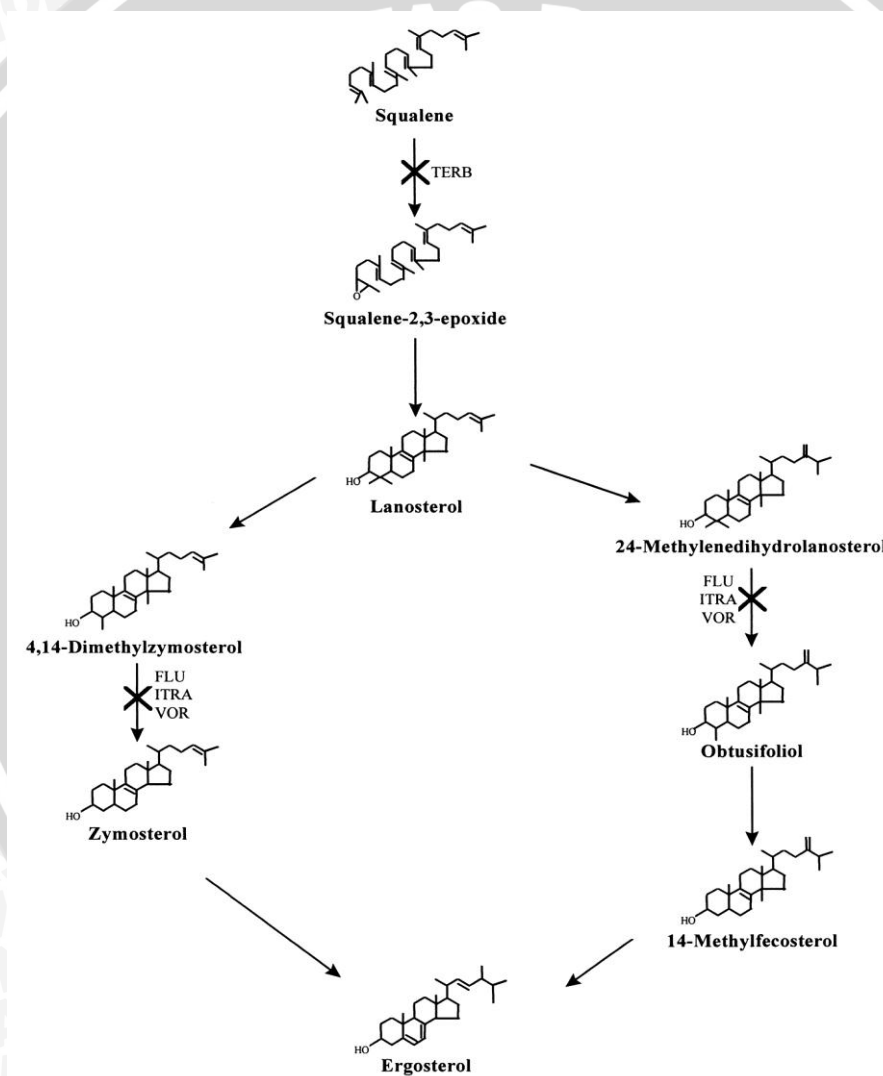
Sebuah studi yang dilakukan oleh Ryder dan Favre (1997) menunjukkan bahwa target kerja allylamine adalah squalene epoxidase. Kematian sel jamur terjadi terutama karena akumulasi squalene, bukan karena defisiensi ergosterol. Dalam kadar tinggi, squalene dapat meningkatkan permeabilitas membran yang mengganggu keseluruhan organisasi seluler.

2. Antifungi yang Mempengaruhi Dinding Sel

Antifungi yang aktif terhadap dinding sel jamur bekerja dengan cara menghambat sintesis glucan. Dari tiga golongan antifungi yang bekerja secara spesifik sebagai inhibitor 3β -glucan synthase (aculeacin, echinocandin, dan papulacandin), hanya echinocandin yang terus diteliti secara klinis untuk mengevaluasi keamanan, tolerabilitas, dan *efficacy*nya melawan kandidiasis (Ghannoum dan Rice, 1999).

Inhibitor β -glucan bekerja sebagai inhibitor nonkompetitif spesifik terhadap β -(1,3)-glucan synthase. Akibatnya, pembentukan komponen glucan

struktural menjadi terhambat. Meskipun demikian, sintesis asam nukleat dan mannan tetap berjalan. Inhibisi ini memiliki efek sekunder terhadap sel intak, seperti pengurangan kadar ergosterol dan lanosterol serta peningkatan kadar chitin di dinding sel. Hal ini mengakibatkan perubahan jamur setara sitologis dan ultrastruktural, dan lisis serta terestriksi, terutama di ujung-ujung tunas sel yang tumbuh (Ghannoum dan Rice, 1999).



Gambar 2.5 Jalur Biosintesis Ergosterol dan Lokasi Aktifitas Inhibitori Berbagai Antifungi. TERB, terbinafine; FLU, fluconazole; ITRA, itraconazole; VOR, voriconazole
(Ghannoum dan Rice, 1999)

3. Antifungi Inhibitor Asam Nukleat

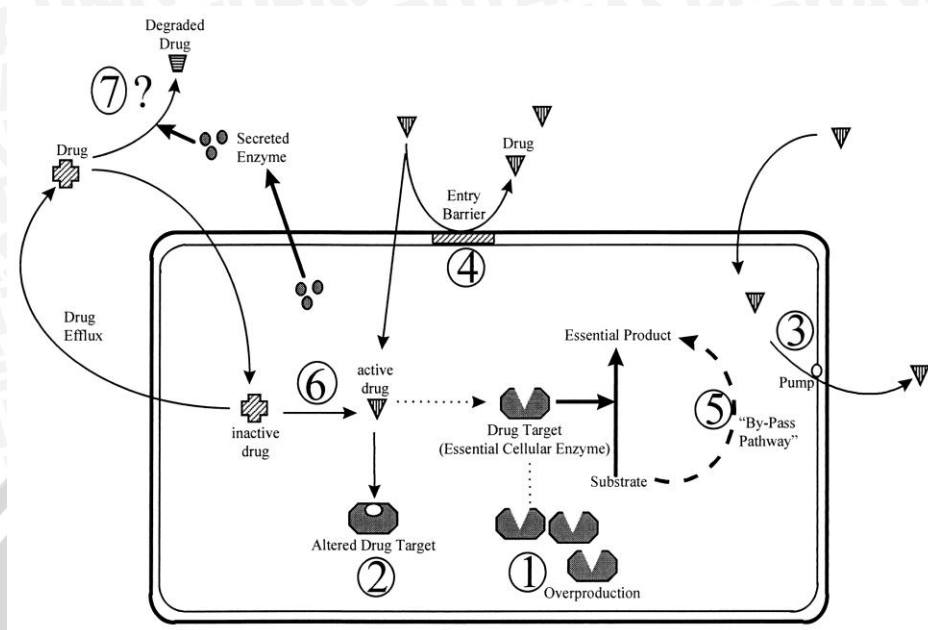
Antifungi yang menghambat asam nukleat seperti 5-fluorocytosine (5FC) memasuki sel dengan bantuan enzim permease. Begitu 5FC berhasil memasuki sel, antifungi ini akan dikonversi oleh enzim cytosine deaminase menjadi 5-fluorouracil (5FU). Selanjutnya, 5FU akan dikonversi menjadi 5-fluorouridylic acid (FUMP) oleh UMP. FUMP akan difosforilasi lebih lanjut dan bergabung dengan RNA. Pada akhirnya, hal ini akan mengganggu sintesis protein sel jamur. 5FU juga dikonversi menjadi 5-fluorodeoxyuridine monophosphate yang merupakan inhibitor thymidylate synthase poten. Enzim tersebut terlibat dalam sintesis DNA dan pembelahan inti sel. Dengan demikian, 5FC bekerja dengan cara menghambat metabolisme pirimidin sekaligus sintesis RNA, DNA, dan protein di sel jamur (Ghannoum dan Rice, 1999).

2.6.2 Resistensi terhadap Antifungi

Resistensi terhadap antifungi dapat terjadi melalui berbagai mekanisme. Mekanisme ini antara lain meliputi perubahan target obat, perubahan biosintesis sterol, pengurangan konsentrasi enzim target intraseluler, dan overekspresi target obat antifungi (Ghannoum dan Rice, 1999).

1. Resistensi terhadap Azole

Masih belum ada laporan mengenai modifikasi *azole* sebagai dasar mekanisme resistensi. *Strain* yang resisten terhadap *azole* menunjukkan adanya modifikasi kualitas dan kuantitas enzim target, mengurangi akses menuju target, atau kombinasi dari mekanisme-mekanisme ini.



Gambar 2.6 Mekanisme Resistensi Sel terhadap Azole.

(Ghannoum dan Rice, 1999)

Keterangan :

(1)Overproduksi enzim target sehingga reaksi biokimia tidak dapat diinhibisi secarasempurna oleh obat; (2) Perubahan target obat sehingga obat tidak dapat berikatan dengan target; (3) Obat dipompa keluar oleh pompa efflux; (4) Obat tidak dapat masuk karena dihalangi oleh membran atau dinding sel; (5) Sel memiliki jalur bypass yang dapat mengompensasi hilangnya fungsi akibat inhibisi oleh obat; (6) Inhibisi beberapa enzim fungal yang dapat mengaktivasi obat dalam bentuk inaktif; (7) Sekresi beberapa enzim oleh sel ke medium ekstraseluler yang dapat mendegradasi obat

2. Antifungi yang Mempengaruhi Dinding Sel

Karena inhibitor sintesis gluklan belum dimanfaatkan dalam praktek klinis, data mengenai adanya resistensi terhadap antifungi ini hanya didapat dari penelitian laboratorium (Kurtz, 1997; Kurtz dan Douglas, 1997).

3. Antifungi Inhibitor Asam Nukleat

Resistensi 5-fluorocytosine dapat terjadi melalui penurunan *uptake* (hilangnya aktivitas permease) atau melalui hilangnya aktivitas enzimatis yang bertanggungjawab untuk mengonversi 5-fluorocytosine menjadi 5-fluorouridylic acid. Meskipun resistensi karena penurunan *uptake* 5FC telah dijumpai pada *Candida glabrata*, mekanisme ini masih belum dijumpai pada *Candida albicans* atau *Cryptococcus neoformans* (Whelan, 1987).

2.7 Uji Kepekaan antifungi secara *in vitro*

2.7.1 Metode Dilusi Tabung

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan satu seri tabung reaksi yang diisi media cair dan sejumlah tertentu bakteri yang diuji. Kemudian masing-masing tabung diisi dengan obat yang telah diencerkan secara serial. Selanjutnya, seri tabung diinkubasikan pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati terjadinya kekeruhan pada tabung. Konsentrasi terendah obat pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih (tidak ada pertumbuhan bakteri) adalah KHM (Kadar Hambat Minimal) dari obat. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasikan pada media agar, diinkubasikan dan keesokan harinya diamati ada tidaknya koloni bakteri yang tumbuh. Konsentrasi terendah obat pada biakan padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan koloni bakteri adalah KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat terhadap bakteri uji (Dzen dkk., 2003).

Menurut Murray, teknik bakteriologi dasar untuk uji kepekaan terhadap antimikroba secara *in vitro* dapat digunakan untuk uji kepekaan terhadap

antifungi di dalam laboratorium. Meskipun demikian, terdapat beberapa hal yang harus disesuaikan, yaitu:

- Media yang dapat digunakan adalah media *Sabouraud Dextrose Agar plate* atau *Sabouraud Dextrose Broth*.
- Inkubasi membutuhkan suhu 37°C dan waktu 24 jam karena fungi butuh waktu yang lebih lama untuk memperbanyak diri.
- Untuk mengukur konsentrasi jamur menggunakan $\lambda = 530 \text{ nm}$ agar sama dengan kekeruhan standar *McFarland* 0,5 (1×10^6 hingga 5×10^6 CFU/ml)
- Konsentrasi jamur untuk uji antifungi adalah $0,5 \times 10^4$ hingga $2,5 \times 10^4$ CFU/ml (Murray *et al.*, 1999).

Uji kepekaan terhadap antimikroba secara *in vitro* dapat dilakukan dengan beberapa metode, yaitu metode dilusi tabung, metode dilusi agar, dan metode difusi cakram (Dzen dkk., 2003; Forbes, 2007).

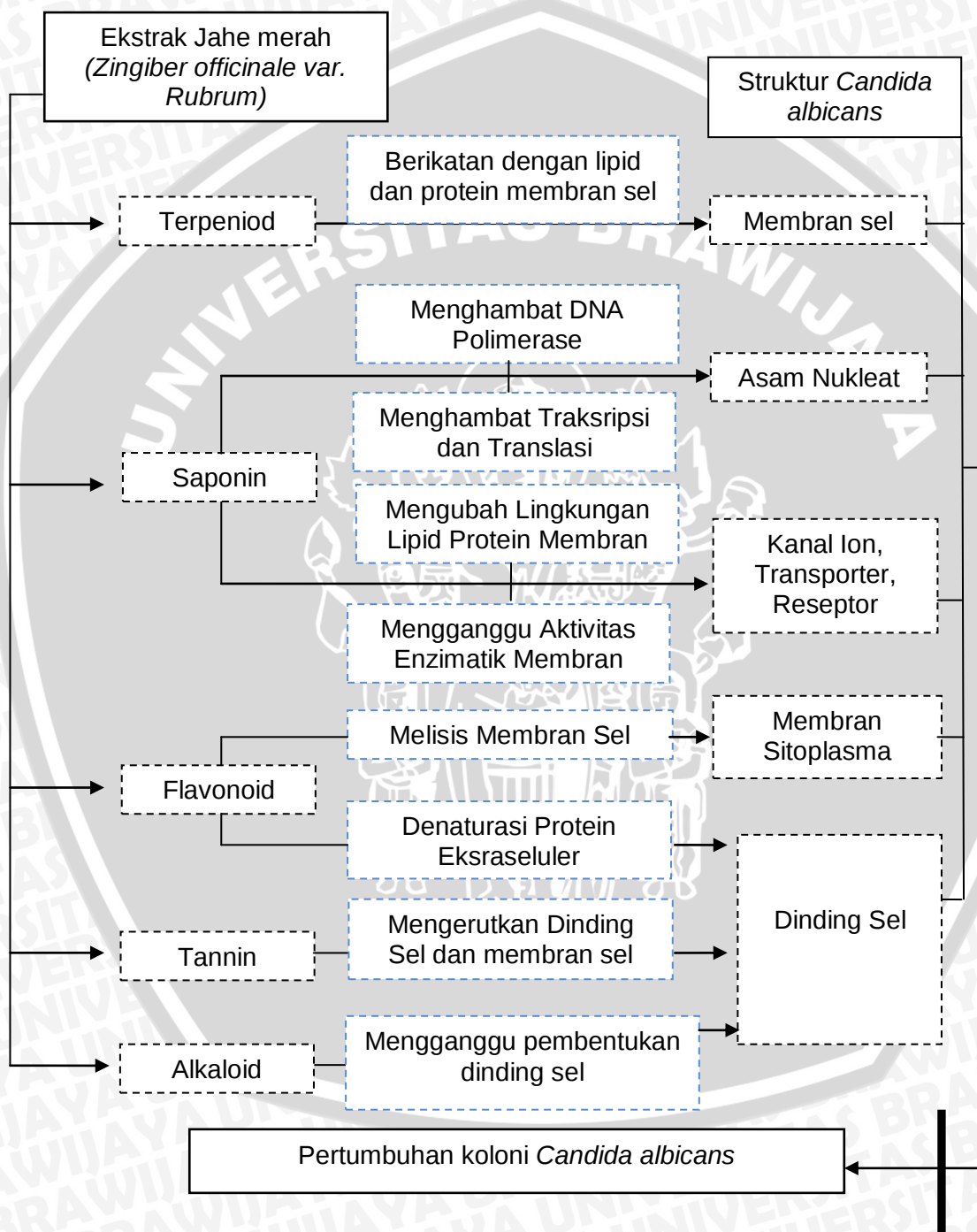
2.7.2 Metode Dilusi Agar

Tes ini dikerjakan dengan menggunakan metode dilusi agar (*agar dilution test*). Larutan antimikroba yang sudah diencerkan secara serial dicampurkan ke dalam medium agar yang masih cair (tetapi tidak terlalu panas) kemudian agar dibiarkan memadat, dan selanjutnya diinokulasi dengan bakteri. Selanjutnya, diinkubasikan pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah di inkubasi, cawan diamati serta dihitung pertumbuhan bakteri (Forbes, 2007).

BAB 3

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 3.1 Skema Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :



= Variabel yang diteliti



= Mekanisme kerja

3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) mengandung minyak atsiri. Minyak atsiri jahe merah mengandung senyawa aktif yaitu flavonoid, fenol dan terpenoid. Golongan alkaloid dari jahe merah yaitu gingerol. Sedangkan golongan terpenoid dalam jahe merah yaitu zerumbone dan limonene. Zat aktif tersebut berfungsi sebagai anti mikroba (Nursa *et al.*, 2006).

Terpenoid dapat berikatan dengan protein dan lipid yang terdapat pada membran sel sehingga mengganggu transport nutrisi yang dapat menyebabkan membran sel kekurangan nutrisi hingga terjadi lisis sel (Nursa *et al.*, 2006)

Saponin dapat menghambat sintesis protein melalui penghambatan transkripsi dan translasi. Saponin juga dapat bekerja menghambat DNA polimerase sehingga sintesa asam nukleat terganggu (Raju, *et al.*, 2004).

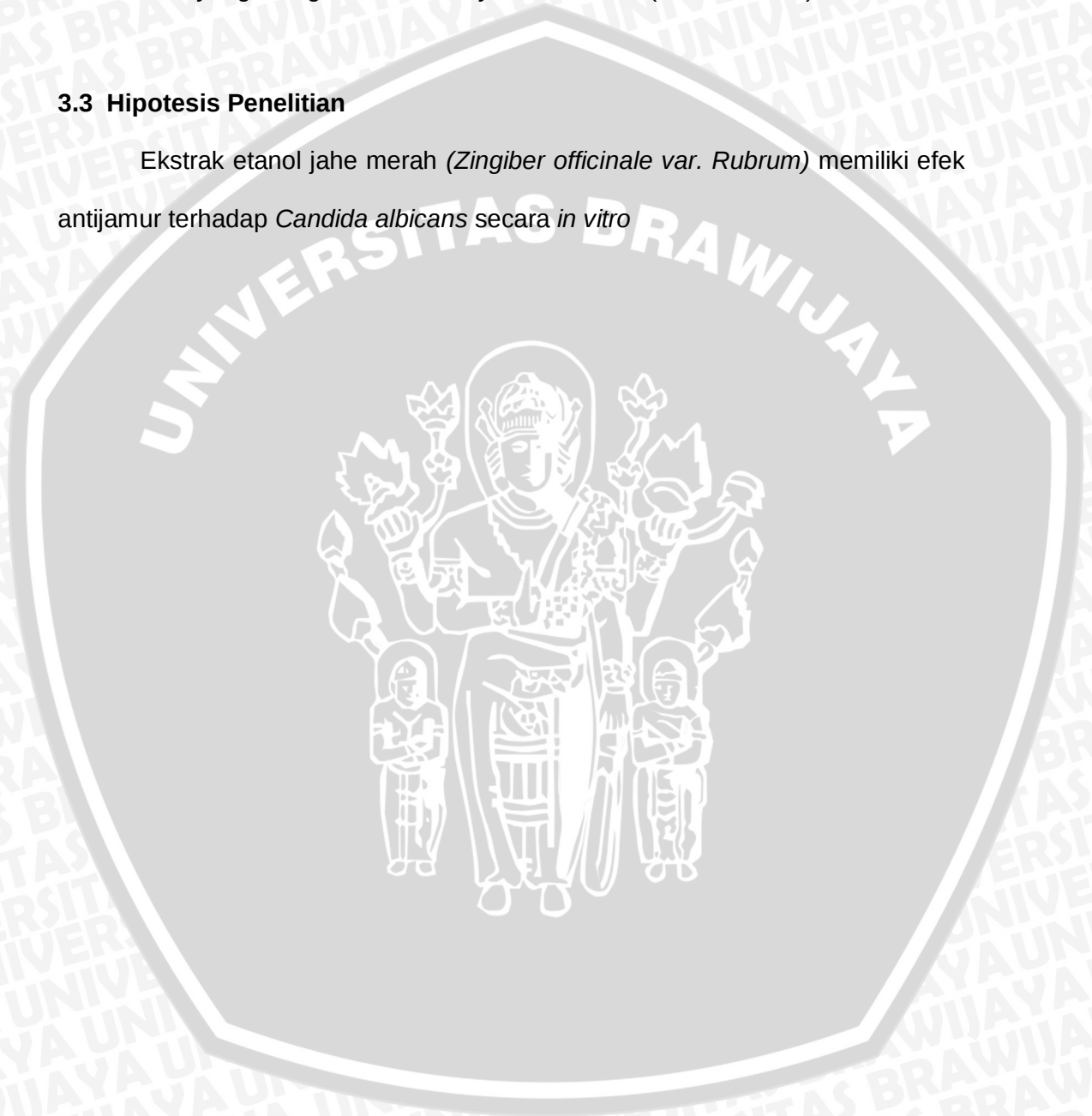
Tannin dapat mengikat salah satu protein yang dimiliki oleh bakteri yaitu adhesin dan apabila hal ini terjadi maka dapat merusak ketersediaan reseptor pada permukaan sel fungi (Asti, 2009). Tannin juga dapat membentuk kompleks senyawa yang irreversibel dengan prolin, suatu protein lengkap, yang mana ikatan ini mempunyai efek penghambatan sintesis protein untuk pembentukan dinding sel (Agnol *et.al.*, 2003). Tannin bekerja dengan cara mengerutkan dinding/membran sel lalu mengganggu permeabilitas sel bakteri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Ajizah, 2004).

Flavonoid bekerja dengan mendenaturasi protein ekstraseluler sehingga mengganggu pembentukan dinding sel, merusak membran sel secara langsung, dan menghambat enzim topoisomerase II pada metabolisme bakteri (Melderen, 2002).

Alkaloid mempunyai mekanisme mengganggu komponen penyusun pembentukan peptidoglikan sel mikroba sehingga dinding sel tidak terbentuk secara utuh yang mengakibatkan lisinya sel tersebut (Cowan, 1999)

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*



BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Pada penelitian ini digunakan rancangan penelitian eksperimental dengan *post test only control group design* untuk mengetahui efek anti fungi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode ini meliputi dua tahap pengujian yaitu, tahap pengujian ekstrak jahe merah terhadap isolat jamur *Candida albicans* pada media *broth* untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) terhadap isolat jamur *Candida albicans*. Rancangan penelitian ada 6 kelompok perlakuan, ditambah dengan kontrol jamur (0% bahan ekstrak), kontrol bahan (100% bahan ekstrak)

4.2 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Juni s/d Agustus 2012 di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.3 Sampel Penelitian

Pada penelitian ini digunakan 7 konsentrasi ekstrak rimpang jahe merah (0%, 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, 27,5%, 30%), maka berdasarkan perhitungan rumus Notobroto (2005) didapatkan pengulangan :

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

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

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22 \rightarrow n \geq 3,14 \approx 3$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah pengulangan

Jadi pada penelitian ini masing – masing perlakuan diulang tiga kali.

4.4 Teknik Sampling

Teknik sampling yang digunakan adalah *random sampling* dengan kriteria umur jamur sama yaitu 2 hari. Koloni *Candida albicans* pada *Sabouraud Dextrose Agar* diambil untuk diencerkan dengan NaCl 0,9 % sampai mencapai kekeruhan yang ekivalen dengan 0,5 standar *McFarland*. Kemudian diambil dengan kapas lidi steril dan dioleskan merata pada cawan petri yang berisi *Sabouraud Dextrose Agar*.

4.5 Variabel Penelitian

4.5.1 Variabel Tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah jumlah pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada medium *Sabouraud Dextrose Agar*.

4.5.2 Variable Bebas

Variabel bebas adalah ekstrak jahe merah dengan beberapa perbedaan konsentrasi yaitu 0%, 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, 27,5% dan 30% Konsentrasi tersebut ditentukan berdasarkan hasil eksplorasi.

4.6 Definisi Operasional

1. Rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari Mall Olympic garden.
2. Sediaan ekstrak jahe adalah rimpang jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) yang di ekstrak dengan metode ekstraksi Soxhlet menggunakan pelarut etanol 96%.
3. Kadar Hambat Minimal (KHM) adalah konsentrasi antifungi minimal yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
4. Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah konsentrasi antifungi minimal yang mampu membunuh jamur *Candida albicans*.
5. Jamur *Candida albicans* berasal dari spesimen yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.
6. Standar kepadatan jamur yang digunakan dalam penelitian ini sebesar 10^4 CFU/ml.

4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Jahe merah

Alat pembuatan ekstrak jahe merah yaitu, pisau, mortar dan *pestle*, neraca analitik, kertas saring, *beaker glass* 250 ml, tabung ekstraktor *soxhlet*, *rotary evaporator vacuum*, tabung pendingin, pompa sirkulasi air dingin, pipa plastik, penampung hasil penguapan, abu penampung hasil evaporasi. Bahan yaitu, Etanol 96% dan tempat pengestrakan di Materia Medika Batu

4.7.2 Alat dan Bahan Kultur *Candida albicans*

Alat kultur *Candida albicans* yaitu, pembakar spiritus, korek api, ose, inkubator, lemari pendingin. Bahan kultur yaitu, biakkan *Candida albicans* pada agar miring *Sabouraud Dextrose Agar* No.91 Spt. Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.7.3 Alat dan Bahan Pewarnaan Gram

Alat pewarnaan gram yaitu, gelas obyek, gelas penutup, pembakar spiritus, korek api, ose, mikroskop. Bahan pewarnaan gram yaitu, suspensi *Candida albicans*, kertas penghisap, bahan pewarnaan gram (Kristal violet, Lugol, Alkohol 96% dan safranin).

4.7.4 Alat dan Bahan Uji *Germinating Tube*

Alat *germinating tube* yaitu, gelas obyek, gelas penutup, pembakar spiritus, korek api, ose, tabung reaksi, mikroskop, inkubator. Bahan *germinating tube* yaitu, isolat jamur *Candida albicans*, serum.

4.7.5 Alat dan Bahan pembuatan *Original inoculum Candida albicans*

Alat pembuatan *Original inoculum* yaitu, tabung reaksi, pipet, ose, vortex, standar *Mc Farland* 0,5. Bahan pembuatan *original inoculum* yaitu, isolat jamur *Candida albicans*, NaCl.

4.7.6 Alat dan Bahan Uji Dilusi Tabung

Alat uji dilusi tabung yaitu, rak kayu, tabung reaksi, pipet steril, ukuran 1ml dan 10 ml, karet penghisap, inkubator, pembakar spiritus, vortex. Bahan uji dilusi tabung yaitu, ekstrak jahe merah, korek api, pembakar spiritus, kapas steril *Candida albicans*, aquades.

4.7.7 Alat dan Bahan Uji Streaking Plate

Alat uji *streaking plate* yaitu, pembakar spiritus, ose, medium *Sabouraud Dextrose Agar*.

4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Identifikasi *Candida albicans*

1. Pewarnaan Gram

- Gelas objek disterilkan dengan kapas beralkohol 96%, kemudian dilewatkan di atas api dan dibiarkan dingin.
- Satu ose (1 μ l) aquades steril diteteskan pada gelas objek ditambah sedikit biakan jamur yang diambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan dengan aquades pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquades.
- Sediaan dikeringkan di udara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan di atas api.
- Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit dan dibilas dengan air.
- Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit dan dibilas dengan air.
- Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% selama 5 detik dan dibilas dengan air.
- Sediaan ditetesi safranin selama ½ menit dan dibilas dengan air.
- Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap

- Sediaan dilihat dibawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 100x dengan minyak imersi.
- Hasil positif : *Candida albicans* tercat ungu (Gram positif), bentuk budding.

2. Uji Germinating Tube

Germinating Tube merupakan tes identifikasi untuk membedakan *Candida albicans* dengan spesies candida lainnya, ditandai dengan adanya germ tube yang tidak ditemukan pada spesies candida lainnya. Dengan cara sebagai berikut :

- Serum 0,5ml dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya Malang disediakan dalam tabung.
- Koloni terpisah *Candida albicans* pada *Sabouroud Dextrose Agar* diambil dengan menggunakan ose yang sudah steril kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi serum.
- Diinkubasikan pada suhu 37°C selama 2 jam.
- Kultur di dalam serum diambil menggunakan ose dan diletakkan pada gelas objek, lalu ditutup dengan kaca penutup.
- Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x.
- Dicari bentukan *pseudohifa* memanjang khas *Candida albicans*.

4.8.2 Persiapan Suspensi Uji *Candida albicans*

- Dipersiapkan jamur *Candida albicans* dari *Sabouroud Dextrose Agar* yang telah diuji konfirmasi.

- Diambil 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 1×10^6 hingga 5×10^6 CFU/ml dengan rumus $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$ (Murray *et al.*, 1999).
- Untuk mendapatkan suspensi sel yang mengandung $0,5 \times 10^4$ hingga $2,5 \times 10^4$ CFU/ml dilakukan dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung 10^6 CFU/ml) untuk dicampur dengan 9 ml NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi 10^5 CFU/ml. Proses dilanjutkan dua kali hingga mencapai konsentrasi suspensi jamur yang digunakan untuk tes, yaitu $0,5 \times 10^4$ hingga $2,5 \times 10^4$ CFU/ml (Murray *et al.*, 1999).

4.8.3 Pembuatan Ekstrak Rimpang Jahe Merah

1. Proses Ekstraksi Soxhlet

- Rimpang jahe dicuci lalu dikeringkan.
- Dihaluskan menggunakan mortar dan pestle.
- Ditimbang 100 gram dengan timbangan analitik.
- Rimpang jahe yang telah dihaluskan dibungkus dengan menggunakan kertas saring.
- Dimasukkan kedalam tabung ekstraktor *soxhlet*.
- Ditambahkan pelarut etanol dari bagian alas sampai tumpah ke dalam labu.

- Ditambahkan pelarut lagi hingga setengahnya.
- Dipanaskan labu yang telah berisi pelarut pada suhu medium sampai mendidih.
- Diamati proses terjadinya sirkulasi kontinu pelarut etanol, hingga semua ekstrak dianggap telah terekstraksi.

2. Proses Evaporasi dengan *rotary evaporator vacum*

- Pasang evaporator pada tiang permanent agar dapat digantung dengan kemiringan 30 ° terhadap meja.
- Hasil ekstraksi dimasukkan dalam labu ekstraksi.
- Satu set alas evaporasi diletakkan sedemikian rupa sehingga sebagian labu ekstraksi terendam aquades pada *water bath*.
- *Water bath* dihubungkan dengan sumber listrik dan dinaikkan suhunya sampai 70°C (sesuai titik didih etanol).
- Ditunggu proses bedalan (pengembunan dan pemisahan di pendingin) sampai hasil evaporasi tersisa dalam labu ekstraksi.
- Hasil evaporasi berupa cairan kental. Dalam penelitian ini hasil evaporasi dianggap konsentrasi 100%.
- Pada proses ekstraksi ini diperoleh hasil ekstrak sebanyak 90ml.

4.8.4 Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) terhadap *Candida albicans*

Rangkaian uji aktivitas antifungi ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) adalah sebagai berikut :

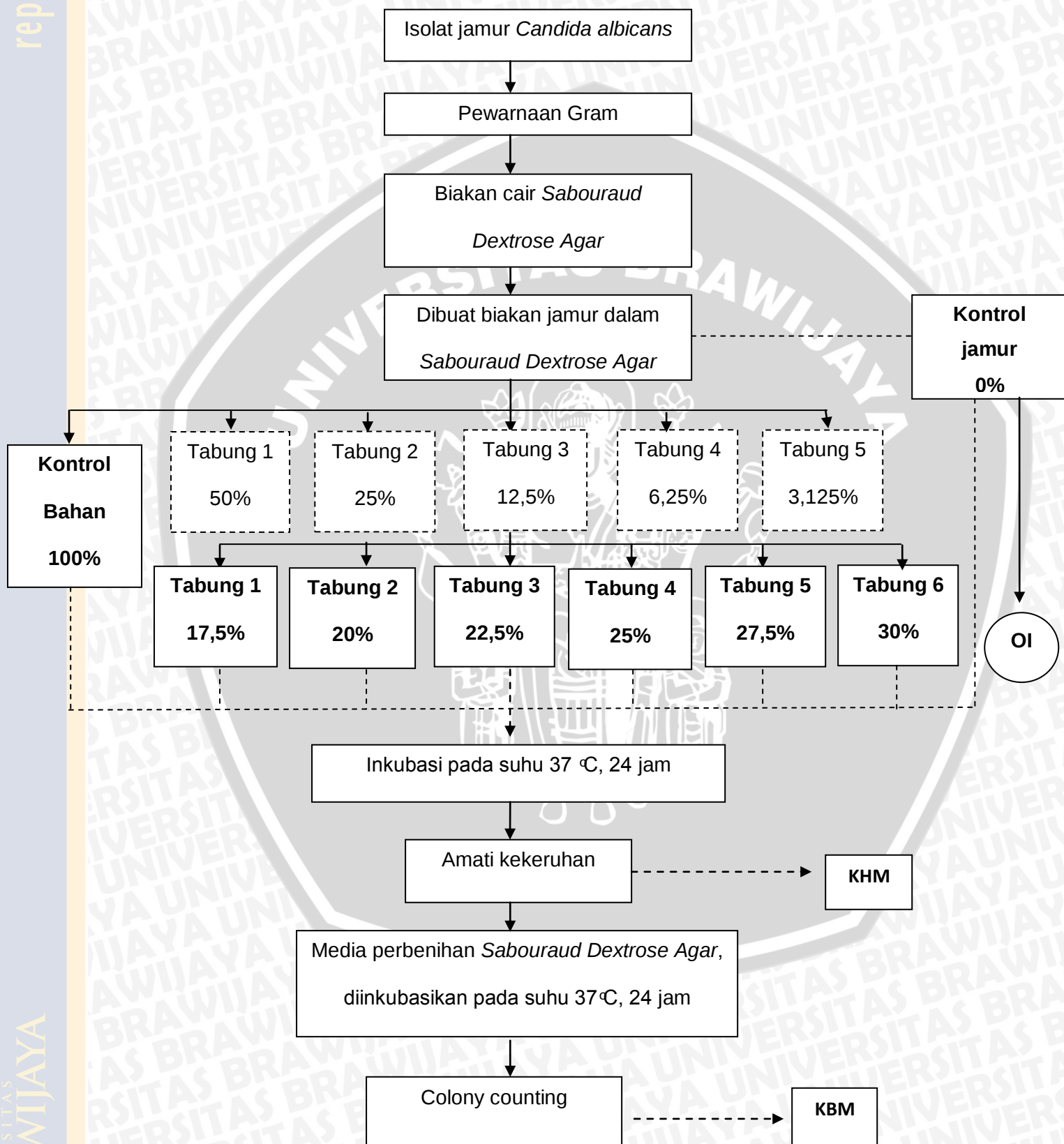
- Disediakan 8 tabung steril, 6 tabung berisi ekstrak jahe merah sebagai uji antifungi diberi label 0% (kontrol jamur), 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, 27,5%, 30%, 100% (Kontrol bahan).
- Dibuat konsentrasi etanol rimpang jahe merah sebesar 50% sebanyak 5 ml (dengan dimasukkan 2,5 ml ekstrak rimpang jahe merah 100% dan 2,5 ml aquades steril).
- Dari ekstrak etanol rimpang jahe merah 50% tersebut, dimasukkan 0,35 ml ekstrak ke dalam tabung bertanda 17,5 %, lalu ditambah 0,65 ml aquades steril.
- Dari ekstrak etanol rimpang jahe merah 50% tersebut, dimasukkan 0,4 ml ekstrak ke dalam tabung bertanda 20 %, lalu ditambah 0,6 ml aquades steril.
- Dari ekstrak etanol rimpang jahe merah 50% tersebut, dimasukkan 0,45 ml ekstrak ke dalam tabung bertanda 22,5 %, lalu ditambah 0,55 ml aquades steril.
- Dari ekstrak etanol rimpang jahe merah 50% tersebut, dimasukkan 0,5 ml ekstrak ke dalam tabung bertanda 25%, lalu ditambah 0,5 ml aquades steril.
- Dari ekstrak etanol rimpang jahe merah 50% tersebut, dimasukkan 0,55 ml ekstrak ke dalam tabung bertanda 27,5 %, lalu ditambah 0,45 ml aquades steril.
- Dari ekstrak etanol jahe merah 50% tersebut dimasukkan 0,6 ml ekstrak ke dalam tabung bertanda 30%, lalu ditambah 0,4 ml aquades steril.

- Dimasukkan 1 ml aquades steril ke dalam tabung berlabel konsentrasi ekstrak rimpang jahe merah 0%.
- Tambahkan 1 ml biakan jamur *Candida albicans* ke dalam setiap tabung kecuali tabung berlabel KB (kontrol bahan).
- Dimasukkan 2 ml ekstrak etanol rimpang jahe merah ke dalam tabung berlabel KB (kontrol bahan).
- Disiapkan perbenihan cair perbenihan jamur dengan konsentrasi jamur $0,5 \times 10^4$ hingga $2,5 \times 10^4$ CFU/ml (Murray et al., 1999).
- Dari tabung bertanda 0% jamur *Candida* tanpa perlakuan digoreskan pada *Sabouroud Dextrose Agar* sebagai *original inoculum* kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C (Murray et al., 1999).
- Masing-masing tabung di-vortex dan diinkubasi selama 24jam pada suhu 37°C (Murray et al., 1999).
- Pada hari kedua, semua tabung dikeluarkan dari inkubator. KHM didapatkan dengan cara melihat kejernihan tabung.
- Kemudian dari masing-masing tabung dilusi diambil satu ose kemudian diinokulasikan pada *Sabouroud Dextrose Agar*. Kemudian diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C (Murray et al., 1999).
- Pada hari ketiga didapatkan data KBM dan dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing konsentrasi dengan cara menghitung jumlah koloni jamur dengan *colony counter*. KBM ditentukan dari tidak adanya jumlah koloni yang tumbuh pada *Sabouraud Dextrose Agar* atau jumlah koloninya $< 0,1\%$ jumlah koloni di *original inoculum*.

4.9 Analisis Data

Analisis data yang digunakan adalah uji statistik *one way* ANOVA dan uji statistic korelasi-regresi. Uji statistik *one way* ANOVA dengan derajat kepercayaan 95 % ($\alpha = 0,05$) digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi jahe merah terhadap jumlah koloni jamur *Candida albicans*. Sedangkan uji korelasi-regresi digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak rimpang jahe merah terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Analisis data menggunakan program SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) for Windows versi 17.0. Konsentrasi 0% tidak digunakan karena koloni semua isolat yang tumbuh jumlahnya dianggap tidak terhingga sehingga tidak dapat dihitung tanpa pengenceran. Hal tersebut akan merusak homogenitas data-data yang lain yang sudah dapat dihitung tanpa pengenceran. Jarak antar konsentrasi adalah 0,5% untuk menghindari kesalahan dalam dilusi ekstrak dalam tabung.

4.10 Diagram alur penelitian



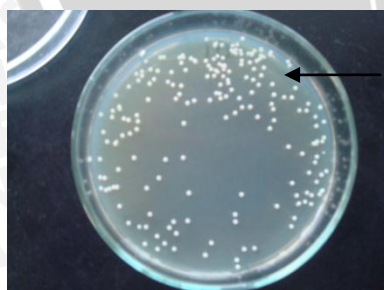
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

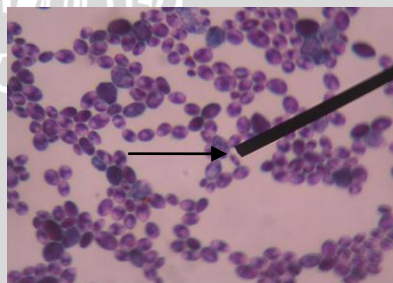
5.1 Hasil Pengamatan

5.1.1 Hasil Identifikasi Jamur

Penelitian ini menggunakan isolat jamur *Candida albicans* yang disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Masing - masing isolat jamur di-streaking ulang di *Sabouraud Dextrose Agar* kemudian diidentifikasi dengan pewarnaan gram. Pada medium *Sabouraud Dextrose Agar*, semua isolat jamur *Candida albicans* akan menghasilkan koloni yang berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung yang terlihat pada Gambar 5.1a. Teksturnya halus, licin dan terkadang sedikit berlipat-lipat, terutama pada koloni yang sudah tua. Ukuran koloni dipengaruhi oleh umur biakan. Koloni berwarna putih kekuningan dan berbau asam seperti tape. Pada pewarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x, didapatkan gambaran sel ragi (blastospora) berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong seperti terlihat pada Gambar 5.1b.



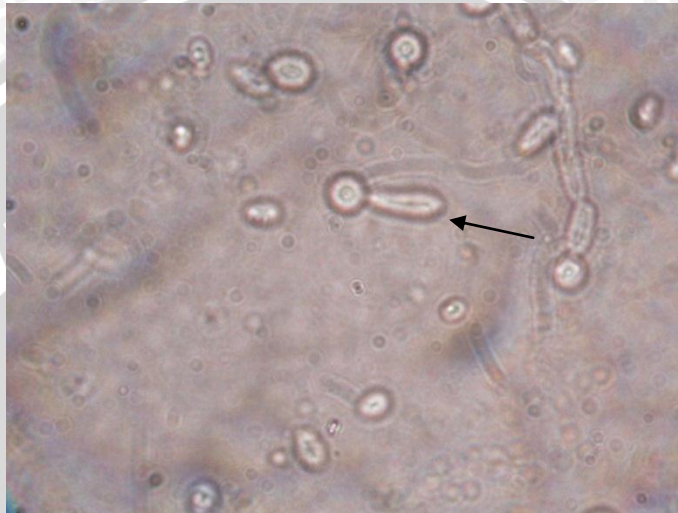
(a)



(b)

Gambar 5.1 Morfologi Koloni dan Sel *Candida albicans* (a) Koloni *Candida albicans* pada medium *Sabouraud Dextrose Agar*; (b) Jamur *Candida albicans* pada pengecatan gram menunjukkan sifat gram positif dan terdapat *Budding Cells* (ditunjuk panah)

Uji *Germinating Tube* telah dilakukan sebelumnya oleh laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Pada pengamatan didapati bentukan *pseudohifa* memanjang khas *Candida albicans* (ditunjuk panah) seperti terlihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Gambaran Pseudohifa *Candida albicans* pada uji *Germinating Tube* (ditunjuk panah)

5.1.2 Gambaran Ekstrak Jahe Merah

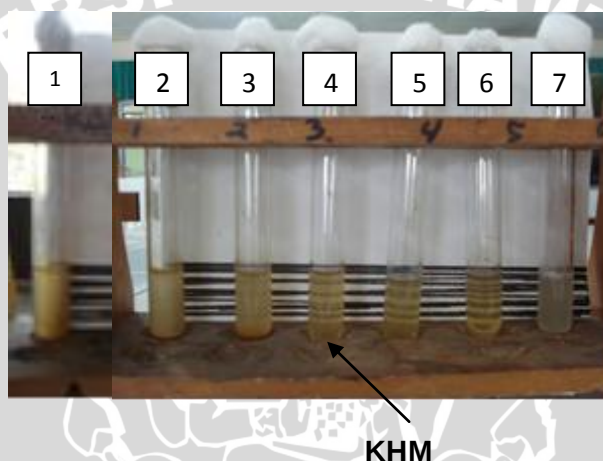
Ekstrak jahe merah berwarna merah kecoklatan dan sedikit keruh. Ekstrak jahe merah dilarutkan dengan pelarut Etanol 96%. Ekstraknya bersifat kental dan mudah larut dalam air.

5.1.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM

Pada penelitian ini digunakan enam konsentrasi ekstrak jahe merah yaitu 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, 27,5%, 30% serta konsentrasi 0% (kontrol jamur). Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah kadar terendah dari antifungi yang mampu menghambat pertumbuhan jamur (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasikan selama 24 jam (Dzen dkk.,

2003). Tingkat kekeruhan larutan diamati untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM).

Berdasarkan hasil uji dilusi tabung, kekeruhan didapati pada tabung dengan konsentrasi ekstrak 17,5%, 20%, dan 22,5%. Pada tabung dengan konsentrasi ekstrak 25%, 27,5%, 30% tidak ditemukan adanya kekeruhan pada larutan. Jadi diperoleh besarnya Kadar Hambat Minimum (KHM) adalah 25%.



Gambar 5.3 Tingkat kekeruhan pada uji dilusi tabung

Keterangan :

(1) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 17,5%; (2) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 20%; (3) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 22,5%; (4) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 25% (KHM); (5) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 27,5%; (6) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 30%; (7) Tabung dengan konsentrasi ekstrak jahe merah 0% atau Kontrol jamur.

5.1.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM

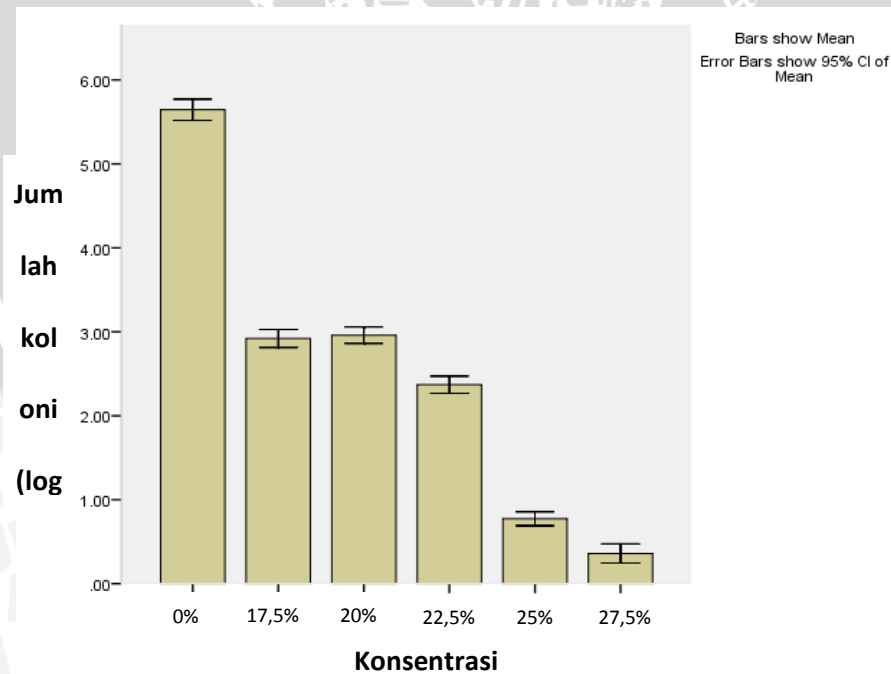
Setelah tabung diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat Kadar Hambat Minimum (KHM), tiap konsentrasi ekstrak tersebut diinokulasi pada *Sabouraud Dextrose Agar*. Kemudian, *Sabouraud Dextrose Agar* diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi *Sabouraud Dextrose Agar* dihitung keesokan harinya dengan menggunakan *colony counter*. Hal ini berlaku untuk ketiga isolat jamur *Candida albicans* untuk melihat kadar bunuh minimum.

Kadar Bunuh Minimal (KBM) adalah kadar terendah dari antifungi yang dapat membunuh jamur (ditandai dengan tidak tumbuhnya jamur pada *Sabouraud Dextrose Agar*) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum*/OI) pada medium *Sabouraud Dextrose Agar* yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (Dzen dkk., 2003). Hasil streaking jamur pada *Sabouraud Dextrose Agar* dapat dilihat pada Gambar 5.3

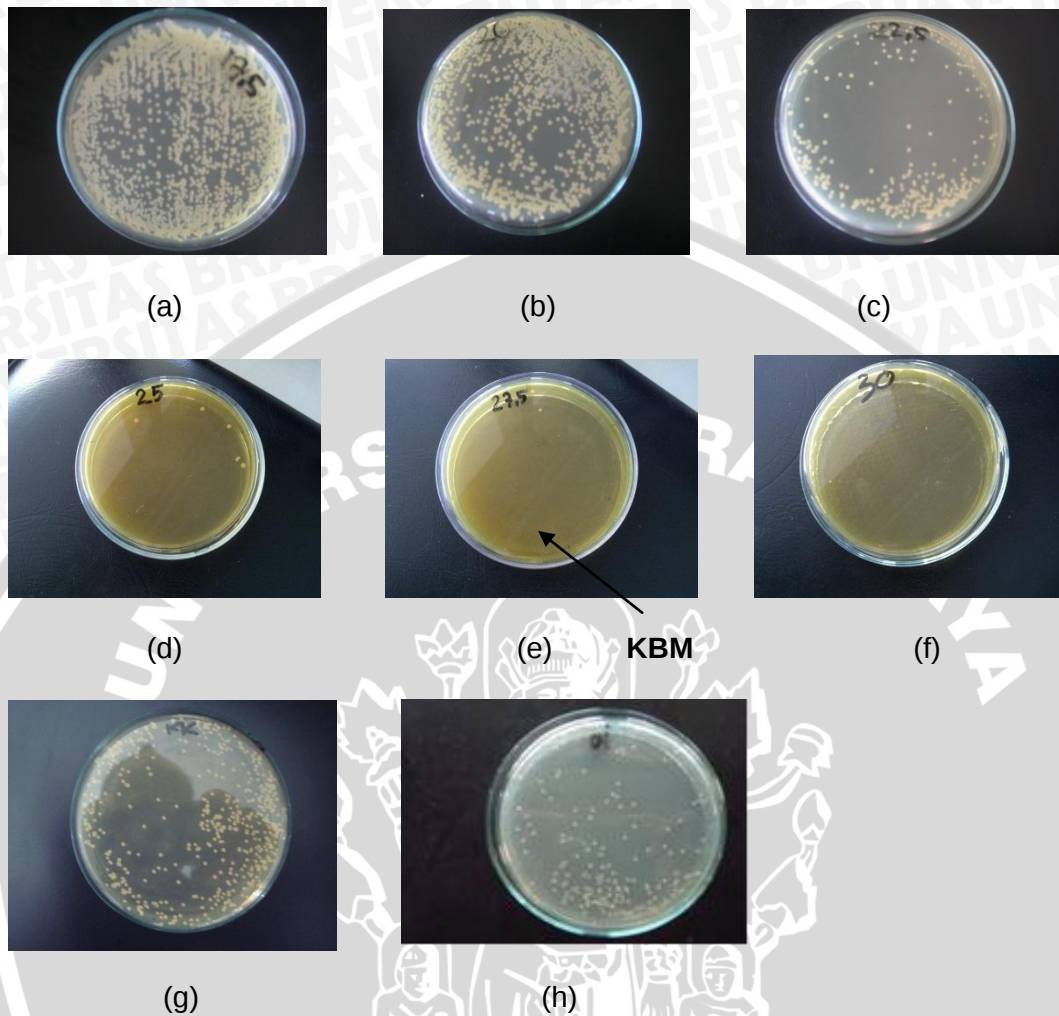
Hasil pertumbuhan dan penghitungan koloni ketiga isolat jamur *Candida albicans* tersebut dapat ditentukan kadar bunuh minimal dari ekstrak jahe merah, yaitu tidak tumbuhnya koloni atau jumlah koloni < dari 0,1% dari *original inoculum* pada medium *Sabouraud Dextrose Agar*. Kadar Bunuh Minimum (KBM) terlihat pada konsentrasi ekstrak 27,5% pada ketiga isolat *Candida albicans* yang diteliti. Hasil penghitungan koloni yang tumbuh di *Sabouraud Dextrose Agar* pada masing - masing dapat dilihat pada Tabel 5.1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Jamur yang Tumbuh Pada Sabouraud Dextrose Agar

Konsentrasi ekstrak jahe merah	Jumlah CFU/ml			Rata-rata	Log
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III		
(KJ) 0%	545000	476000	332000	451000	5,65
17,5%	1025	848	664	845,6	2,92
20 %	1088	946	734	922,6	2,96
22,5%	296	220	198	238	2,37
25%	5	6	7	6	0,7
27,5%	3	2	2	2,3	0,3
30%	0	0	0	0	0
OI	3580	2010	1670	2420	3,38



Gambar 5.4 Grafik Konsentrasi Jahe Merah terhadap Jumlah Koloni (log) *Candida albicans*

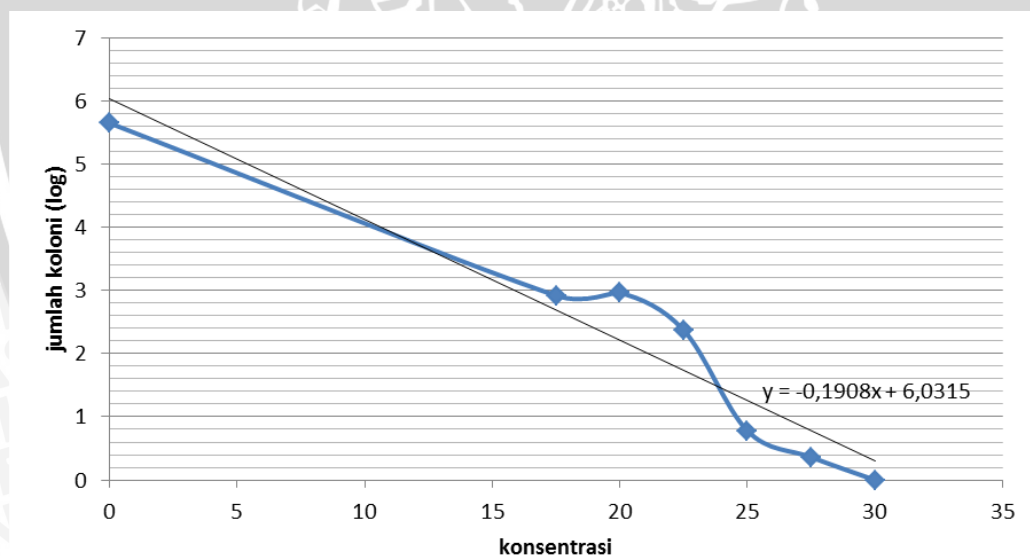


Gambar 5.5 Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* pada medium Sabouraud Dextrose Agar

Keterangan:

- (a) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 17,5% ; (b) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 20% ; (c) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 22,5% ; (d) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 25% ; (e) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 27,5% (KBM) ; (f) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 30% ; (g) Pertumbuhan koloni pada konsentrasi ekstrak jahe merah 0% atau kontrol jamur (h) Pertumbuhan koloni pada *original inoculum*

Pada konsentrasi 17,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 845,6 CFU/ml, pada konsentrasi 20% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 922,6 CFU/ml, pada konsentrasi 22,5% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 238 CFU/ml, pada konsentrasi 25% didapatkan koloni rata-rata sejumlah 6 CFU/ml, pada konsentrasi 27,5% didapatkan rata-rata sejumlah 2,3 CFU/ml, pada konsentrasi 30% didapatkan rata-rata sejumlah 0 koloni dan KBM < 0,1 %
 $OI = 0,1/100 \times 2420 = 2,42$. Hasil penghitungan dapat diketahui bahwa terjadi penurunan rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak jahe merah dan didapatkan KBM pada konsentrasi 27,5% karena pada konsentrasi tersebut pertumbuhan koloni *Candida albicans* kurang dari *original inoculum*.



Gambar 5.6 Grafik pertumbuhan *Candida albicans* pada medium Sabouraud Detrose Agar Terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Jahe Merah

5.2 Analisis Data

5.2.1 Analisis Data dengan Metode *One way Anova*

Hasil penelitian ini kemudian dianalisa dengan menggunakan analisis statistic SPSS versi 17.0 untuk windows. Metode *One way Anova* digunakan untuk mengetahui perbandingan pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Pada uji *one way Anova* diperoleh nilai signifikansi 0.000 yang artinya perbedaan bermakna antar perlakuan. Langkah selanjutnya adalah mengolah yang ada dengan menggunakan metode *Post Hoc* test untuk mengetahui perbedaan yang bermakna diantara berbagai konsentrasi ekstrak jahe merah. Uji *Post Hoc Turkey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparisons*). Uji ini menunjukkan pasangan kelompok sampel (kelompok konsentrasi dan jumlah koloni) yang memberikan perbedaan yang bermakna dan yang tidak memberikan perbedaan secara bermakna. Dari uji *Post Hoc Turkey* dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang bermakna di setiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikan 0,000 ($p < 0,05$). Dari *Post Hoc* test diketahui terdapat perbedaan bermakna antara berbagai konsentrasi, diantara Konsentrasi 0% (Kontrol Jamur) terhadap semua konsentrasi, konsentrasi 17,5% bermakna terhadap semua konsentrasi kecuali konsentrasi 20%, konsentrasi 20% bermakna terhadap semua konsentrasi kecuali konsentrasi 17,5%, konsentrasi 22.5%, 25%, 27,5% dan 30% bermakna terhadap semua konsentrasi.

Tabel 5.2 Ringkasan Nilai Signifikansi Post Hoc Test

Konsentrasi	0%	17,5%	20%	22,5%	25%	27,5%	30%
0%		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000
17,5%	0.000		0.995	0.000	0.000	0.000	0.000
20%	0.000	0.995		0.000	0.000	0.000	0.000
22,5%	0.000	0.000	0.000		0.000	0.000	0.000
25%	0.000	0.000	0.000	0.000		0.002	0.000
27,5%	0.000	0.000	0.000	0.000	0.002		0.000
30%	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	

Nilai signifikan $p < 0.05$

5.2.2 Analisis Data dengan Uji Korelasi dan Regresi

Analisis data dengan uji korelasi bertujuan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara pemberian ekstrak jahe merah terhadap jumlah koloni *Candida albicans*. Uji korelasi yang digunakan adalah metode *Pearson*. Dari uji korelasi *Pearson* didapatkan nilai signifikansi 0.000 yang berarti terdapat hubungan antara pemberian ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Nilai *Pearson Correlation* menunjukkan nilai $R = -0.884$ yang artinya terdapat hubungan yang erat antar variabel, nilai negatif menunjukkan arah hubungan berkebalikan antar variabel yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin sedikit jumlah koloni yang tumbuh.

Analisis data dengan uji regresi bertujuan untuk mengetahui besar pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Uji regresi linier didapatkan nilai *Adjusted R Square* (R^2) = 0.770 yang artinya persentase pengaruh pemberian ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah 77,0% sedangkan 23,0% dipengaruhi variabel perancu yang tidak diteliti.

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 *Candida albicans*

Jamur yang digunakan dalam penelitian ini disediakan oleh Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Jamur diidentifikasi dengan pewarnaan Gram dan diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 100x. Pada pengamatan didapatkan sel ragi berwarna ungu yang menunjukkan sifat Gram positif. Uji *Germinating Tube* dilakukan untuk membedakan spesies *Candida albicans* dengan spesies *Candida* lainnya. Dengan uji *Germinating Tube*, didapatkan gambaran pseudohifa memanjang yang hanya didapati pada *Candida albicans*. Pengamatan secara makroskopis juga dilakukan dengan melihat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada *Sabouraud Dextrose Agar*. Pada pengamatan makroskopis, terlihat koloni yang berwarna putih kekuningan pada *Sabouraud Dextrose Agar*. Isolat tersebut kemudian dibuat biakan cair dengan standar kepadatan $0,5 \times 10^4$ hingga $2,5 \times 10^4$ CFU/ml (Murray *et al.*, 1999).

6.2 Jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*)

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu jahe merah, diekstrak dengan ekstraksi *soxhlet* dengan etanol 96%. Etanol dipilih sebab bahan aktif yang diduga terdapat pada jahe merah, yaitu golongan fenol, cenderung larut terhadap etanol.

Secara struktural, saponin tersusun atas satu atau lebih pecahan *hydrophilic glycoside* yang terkombinasi dengan derivat *polycyclic aglycone*.

Bahan aktif ini bekerja menghambat sintesis protein melalui penghambatan transkripsi dan translasi. (Cornell University, 2008; Raju, *et al.*, 2004). Saponin telah lama dikenal dapat melisis membran sel. Aktivitas ini dipercaya merupakan akibat dari afinitas *aglycone* terhadap sterol (terutama kolesterol) membran sel yang menghasilkan kompleks tidak larut air. Apabila membran sel dilisis, serangkaian reaksi enzimatik untuk memproduksi dinding sel pun akan terhenti. Akibatnya, dinding sel yang berfungsi memberi bentuk, melindungi sel dari pengaruh lingkungan luar, dan menjaga integritas sel pun tidak dapat terbentuk. Saponin juga terbukti mengubah fluiditas membran sehingga mengganggu aktivitas enzimatik membran sel dan transport ion yang melewati membran sel (Ma dan Xiao, 1998). Ketika berikatan dengan kolesterol, saponin mengubah lingkungan lipid protein membran, termasuk kanal ion, transporter, dan reseptor. Oleh karena itu, saponin juga diduga menghambat respon biokimiawi sekunder pada sel (Rao dan Sung, 1995).

Kandungan saponin jahe merah memiliki afinitas tinggi pada membran sel. Sifat tersebut, apabila digabungkan dengan sifat-sifat antifungi saponin lainnya, akan menjadikan kandungan saponin jahe merah sebagai zat antifungi terhadap *Candida albicans* yang ideal. Meskipun demikian, perlu diingat bahwa saponin dapat menghemolysis sel darah merah. Oleh karena itu, penggunaan topikal saponin hendaknya dihindari pada kulit yang tidak intak (Raju *et al.*, 2004).

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Flavonoid berfungsi sebagai antifungi dengan cara membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran sel jamur. Senyawa flavonoid diduga mekanisme kerjanya adalah mendenaturasi

protein sel bakteri dan merusak membran sel mikroba tanpa dapat diperbaiki lagi (Arsyi, 2008).

Tanin didapat dalam bentuk *amorf*, kuning atau masa coklat seperti bubuk, serpihan, atau sponge. Tanin diduga dapat mengerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel itu sendiri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati (Masduki, 1996).

6.3 Metode dilusi tabung (*tube dilution test*)

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek ekstrak jahe merah terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Metode yang digunakan pada penelitian ini adalah metode dilusi tabung (*tube dilution test*). Dengan metode ini akan diketahui Kadar Hambat Minimum (KHM) yang diamati dari tingkat kekeruhan tabung dilusi dan Kadar Bunuh Minimum (KBM) yang dilihat dari pertumbuhan koloni jamur pada *Sabouraud Dextrose Agar* $< 0,1$ % *original inoculum*. Selain itu, dapat pula diketahui hubungan antara konsentrasi ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* (Dzen dkk., 2003).

6.4 Hasil penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM)

Penelitian eksplorasi (terdapat pada lampiran) dilakukan terlebih dahulu sebelum penelitian untuk mendapatkan konsentrasi perlakuan. Dari penelitian eksplorasi (terdapat pada lampiran) dapat diketahui konsentrasi yang tidak didapatkan pertumbuhan jamur. Berdasarkan hasil penelitian eksplorasi (terdapat pada lampiran) konsentrasi ekstrak yang digunakan dalam penelitian ini yaitu 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, 27,5% dan 30%. Perbedaan jarak antar konsentrasi

untuk mencari bukti adanya *dose-effect relationship* antara konsentrasi ekstrak jahe merah dan pertumbuhan koloni *Candida albicans*.

Pada penelitian ini didapatkan Kadar Hambat Minimum (KHM) pada 25%, dimana hasil dilusi tabung menunjukkan kejernihan pertama dibandingkan konsentrasi lain. Sebelum inkubasi, didapatkan semakin tinggi konsentrasi, hasil dilusi tabung akan semakin keruh, sebab pencampuran ekstrak lebih banyak. Namun, setelah inkubasi selama 24 jam, keadaan menjadi berbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi, semakin jernih warna tabungnya. Hal ini disebabkan, selama inkubasi, jamur berkembang biak. Pada dosis 17,5%, 20%, dan 22,5% tidak ditemukan efek penghambatan. Oleh sebab itu, pada hasil dilusi tabung tampak keruh. Lain halnya dengan konsentrasi 25%, 27,5% dan 30% dimana ada penghambatan pertumbuhan bakteri, sehingga hasil dilusi tabung nampak jernih. Berdasarkan penelitian lain, pada ekstrak *Graptophyllum pictum* diperoleh Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi ekstrak konsentrasi 40%. Hasil tersebut menunjukkan bahwa ekstrak *Graptophyllum pictum* 40% mempunyai daya hambat yang terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (Endang, 2008) dan ekstrak etanol jahe putih (*Zingiber officinale* var. *Amarum*) mampu menghambat pertumbuhan *Trichophyton mentagrophytes* pada konsentrasi 30% (Djaenudin, 2008). Dengan demikian ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*, dikarenakan ekstrak jahe merah mempunyai Kadar Hambat Minimum (KHM) pada konsentrasi 25%.

6.5 Hasil penentuan Kadar Bunuh minimum (KBM)

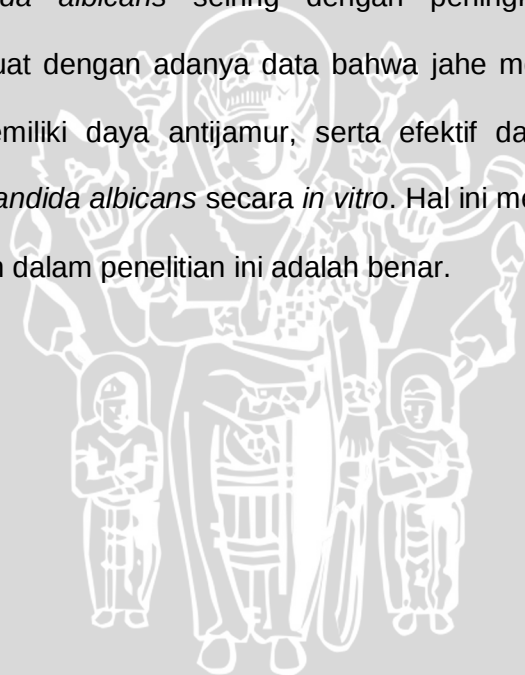
Berdasarkan hasil penggoresan dan inkubasi selama 24 jam, tampak pertumbuhan jamur *Candida albicans* kurang dari *Original inoculum* pada konsentrasi 27,5% seperti yang terlihat pada Tabel 5.1. Hal ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi ekstrak 27,5% merupakan Kadar Bunuh Minimum (KBM) pada *Candida albicans* yang diteliti. Berdasarkan hasil penelitian lain yang didapatkan bahwa ekstrak kulit buah delima putih (*Punica granatum* Linn) 100% dapat menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Hal ini terbukti dari 30 tabung dengan biakan *Candida albicans* di media *Sabouraud Dextrose Agar* yang mengandung ekstrak kulit buah delima putih 100%, semuanya dinyatakan *Candida albicans* tidak tumbuh (Rizki, 2010) dan ekstrak jahe merah (*Zingiber officinale* var. *Rubrum*) mampu membunuh *Cryptococcus neoformans* pada konsentrasi 35% (Djaenudin, 2008). Dengan demikian ekstrak jahe merah diyakini memiliki potensi lebih besar dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, dikarenakan ekstrak jahe merah mampu membunuh *Candida albicans* pada konsentrasi 27,5%.

6.7 Implikasi Terhadap bidang kedokteran

Aplikasi klinis dari penelitian ini memang masih memerlukan penelitian lebih lanjut mengenai standarisasi bahan aktif apa saja yang dapat digunakan dan berapa konsentrasi yang efektif sebagai antijamur. Beberapa zat aktif yang berperan sebagai antimikroba dalam jahe merah masih belum diketahui interaksinya, oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemungkinan efek sinergisnya atau antagonisnya. Penelitian untuk mengetahui konsentrasi masing-masing zat aktif yang terkandung didalam jahe

merah juga diperlukan agar dapat diperkirakan dosis yang aman untuk dikonsumsi manusia. Namun berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka ekstrak jahe merah ini dapat digunakan secara langsung oleh masyarakat sebagai pengobatan alternatif infeksi *Candida albicans* secara topikal. Sedangkan penggunaan secara sistemik masih memerlukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* pada hewan coba untuk meneliti efek farmakokinetik, efek farmakodinamik dan efek toksiknya.

Dengan melihat fakta hasil penelitian, dimana didapatkan penurunan jumlah koloni *Candida albicans* seiring dengan peningkatan konsentrasi perlakuan dan diperkuat dengan adanya data bahwa jahe merah mengandung bahan aktif yang memiliki daya antijamur, serta efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*. Hal ini membuktikan bahwa hipotesis yang disusun dalam penelitian ini adalah benar.



BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak jahe merah memiliki efek antijamur terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yang ditunjukkan dengan :

1. Ekstrak etanol jahe merah memberikan efek yang bermakna terhadap penghambatan pertumbuhan koloni *Candida albicans* (Anova, $p < 0.05$). Semakin tinggi konsentrasi ekstrak jahe merah yang diberikan maka semakin rendah tingkat pertumbuhan koloni *Candida albicans*
2. Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* adalah 25%
3. Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak jahe merah terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* adalah 27,5%

7.2 Saran

Adapun saran yang peneliti berikan dari penelitian ini adalah :

- Perlu standarisasi penilaian kekeruhan pada uji dilusi tabung
- Diharapkan dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektifitas jahe merah dengan menggunakan metode selain ekstrak
- Perlu penelitian lebih lanjut tentang konsentrasi bahan-bahan aktif yang terkandung dalam jahe merah yang bersifat antijamur sehingga dapat diperkirakan dosis yang aman untuk dikonsumsi manusia

- Perlu penelitian lebih lanjut tentang bagaimana efek antijamur jahe merah terhadap *Candida albicans* secara *in vivo* pada hewan coba atau manusia baik secara topikal atau sistemik



DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A. 2004. *Sensitivitas Salmonella Typhimurium Terhadap Ekstrak Daun Psidium Guajava L.* Bioscientiae, Vol. 1, No. 1 : 31-8.
- Akiyama,H.; Fujii, K.; Yamasaki, O.; Oono, T.; Iwatsuki, T. 2001.*Antibacterial Action of Several Tannins Against Staphylococcus aureus.* Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Vol. 48 : 487-91.
- Aprilia, F. 2008. *Efektifitas Ekstrak Jahe (Zingiber officinale rocs) 3,13% dibandingkan Ketokonazol 2 % Terhadap Pertumbuhan Malassezia sp. pada Ketombe.* [Online] <http://eprints.undip.ac.id/23372/1/Fitrina.pdf>. Diakses pada tanggal 4 Oktober 2011
- Arsyi, IA. 2008. *Uji aktivitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Dan Arbenan (Duchesnea Indica Andr.Focke) terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas Aeroginosa Multiresisten Antibiotik beserta Profil Kromatografi Lapisan Tipisnya.* (online) ([http:// etd.eprints.ums.ac.id](http://etd.eprints.ums.ac.id), diakses tanggal 20 Oktober 2011)
- Asti, RH. 2009. *Ekstrak Daun Salam (Syzgium polyanthum) sebagai Pegobatan Demam Tifoid.* (online) (<http://www.beswandjarum.com/article>, diakses tanggal 20 November 2009)
- Bennet, J.E., 2001. *Harisson's Principles of Internal Medicine 15th Ed.* Miami: McGraw Hill Companies. Hal 1176-1177
- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse., 2005. *Medical Microbiology.* Mc Graw Hill, New York.
- Catalogue of Life. 2007. *Annual Checklist, Species Fungorum* (Online). [http:// data.gbif.org/datasets/resource/1570](http://data.gbif.org/datasets/resource/1570), Diakses tanggal 17 Oktober 2011.

Cornell University. 2008. *Saponins* (Online). <http://www.ansci.cornell.edu/plants/toxicagents/saponin.html>. Diakses tanggal 6 Desember 2011

Cowan, MM. 1999. *Plant Product as Antimicrobial Agents*. Clinical Microbiology Reviews, Hal 564-582, (Online) (<http://www.pubmedcentral.nih.gov/about/copyright.html>, Diakses 10 Oktober 2011

Defever, K., Whelan, W., Rogers, A., Beneke, E., Veselenak, J., Soll, D. 1982. *Candida Albicans Resistance to 5-Fluorocytosine: Frequency Of Partially Resistant Strains among Clinical Isolates*. Antimicrob. Agents Chemother. 22: 810-815

Dwikarya, M. 2004. *75 Persen Perempuan di Dunia Pernah Keputihan* (Online). http://www.republika.co.id/suplemen/cetak_detail.asp?mid=2&id=149677&kat_id=105&kat_id1=150&kat_id2=190. Diakses pada tanggal 4 Oktober 2011

Dzen SM, Roekistiningsih, Santoso S., Winarsih S. 2003. *Bakteriologi Medik*. Malang: Bayumedia Publishing. Hal. 127-128.

Fauci, Anthony, Eugene B., Dennis K., Stephen H., Dan L., J.Jameson, Joseph L. 2008. *Harrison's Principles of Internal Medicine 17th Edition*. New York : Mc Graw Hill. Chapter : Infectious Disease.

Farmacia. 2007. *Kandidiasis Vulvovagina*. http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/one_news.asp?IDNews=546. Diakses tanggal 9 September 2011.

Ficker, C., Smith, M.L and Akpagana, K. 2003. *Bioassay-guided isolation and identification of antifungal compounds from ginger*. J. Phytother. Res., 17: 897-903. DOI: 10.1002/ptr.1335.

Forbes BA, Sahm DF, Weissfeld AS. 2007. *Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology 12th Edition*. USA: Mosby.

Fothergill, W.A., Sutton, D.A., Rinaldi, M.G. 1996. *An In Vitro Head-To-Head Comparison of Schering 5692, Amphotericin B, Fluconazole, and Itraconazole Against a Spectrum of Filamentous Fungi*. Washington D.C.: American Society for Microbiology. P. 115.

Ganiswara, SG. 1995. *Farmakologi dan Terapi Edisi 4*. Jakarta: Bagian Farmakologi FKUI. Hal 560-570.

Ghannoum, M.A. and Rice, L.B. 1999. *Antifungi Agents: Mode of Action, Mechanisms of Resistance, and Correlation of These Mechanisms with Bacterial Resistance*. Clin Microbiol Rev.12(4):501-17. Cleveland: Center for Medical Mycology.

Gholib, D. 2008. *Uji Daya Hambat Ekstrak Etanol Jahe Merah (Zingiber officinale var. Rubrum) dan Jahe Putih (Zingiber officinale VAR. AMARUM) Terhadap Trichophyton mentagrophytes dan Cryptococcus neoformans*. <http://peternakan.litbang.deptan.go.id/fullteks/semnas/pro08-129.pdf>. Diakses pada tanggal 4 November 2012

Gladwin, M.D., Trattler, Bill, M.D., 1999. *Clinical Microbiology Made Ridiculously Simple 2nd Ed*. Miami: McGraw Hill International. Hal. 144-152.

Graybill, J.R., Montalbo, E., Kirkpatrick, W.R., Revankar, S., Rinaldi, M., Patterson, T. 1997. *Candida albicans: Less Predictable than We May Think*. 13th International Conference for Human and Animal Mycology.

Harmono dan Agus Handoko. 2005. *Budidaya dan Peluang Bisnis Jahe*. Agromedia Pustaka: Jakarta

Hapsoh dan Rahmawati, N. 2007. *Tanaman Obat*.

<http://ecourse.usu.ac.id/course/course.php>. diakses pada tanggal 4 Desember 2011

Hazen, K.C. 1995. (Online) *Clin Microbiol Rev* Vol. 8 p.: 462.

http://www.broadinstitute.org/annotation/genome/candida_albicans/Info.html. Diakses tanggal 4 Desember 2011

Itoh, K., Okonagi, K., Tasaka, A., Hayashi, R., Tamura, N., Tsuchimori, N., et al.. 1996. *A New Antifungi Triazole: Synthesis and Antifungi Activity*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. P. 112.

Jawetz, Melnick, and Adelberg's. 2010. *Medical Microbiology*, 25th Ed., Edited by Grooks Geo F., *Et al*, Mac Graw Hill Lange, San Fransisco

Joseph, C. 2008. *Caprylic Acid*. <http://www.vitazan.com>. Diakses pada tanggal 5 Oktober 2011

Kerridge, D. 1980. *The Plasma Membrane of Candida Albicans and Its Role in the Action of Antifungi Drugs*. Cambridge: Cambridge University Press. P. 103.

Kerridge, D., Koh, T.Y., Marriott, M.S., Gale, E.F. 1985. *Microbiology and Plant Protoplasts*. London: Churchill Livingston. P. 23-38.

Klepser, M.E. 2001. *Antifungi Resistance among Candida Species* (Online). Pharmacotherapy 21(8s). Michigan: Pharmacotherapy Publications. <http://www.medscape.com/viewarticle/412677>. Diakses tanggal 17 Oktober 2010.

Koswara, S. 2006. *Jahe Rimpang Dengan Sejuta Khasiat*. www.Ebookpangan.com. Diakses pada tanggal 3 Oktober 2011

Kreger, N.J.W. 1984. *The Yeast: a Taxonomic Study*. Amsterdam: Elsevier Science Publ.

Kurtz, M.B. and Douglas, C.M. 1997. *Lipopeptide Inhibitors of Fungal Glucan Synthase*. J. Med. Vet. Mycol. 35:79-86.

Kurtz, M.B. 1997. *New Antifungi Drug Targets: a Vision for the Future*. ASM News 64:31-39.

Law, D. and Denning, D. W. 1996. *In Vitro Activity of Schering 56592, Compared with Fluconazole and Itraconazole against Candida Spp.* Washington, D.C.: American Society for Microbiology

Lenny, S. 2006. Senyawa Flavonoid, Fenil Propanoida dan Alkaloida. <http://biologyeastborneo.com/wp-content/uploads/2011/09/Senyawa-flavon-dan-alkaloid.pdf>. Diakses pada tanggal 5 Desember 2011

Luthana, Y. 2009. *Prosedur Ekstraksi Senyawa Fenol dan Antibakteri dari Produk Tanaman Gambir dan Disertai Metode Analisanya*. <http://yongkikastanyaluthana.wordpress.com/2009/01/26/prosedur-ekstraksi-senyawa-fenol-dan-antibakteri-dari-produk-tanaman-gambir-yang-disertai-metode-analisanya/>. Diakses tanggal 2 oktober 2011.

Martins, M.D., Rex, J.H. 1996. *Resistance to Antifungi Agents in the Critical Care Setting: Problems and Perspectives*. New Horizons 4:338-344.

Masduki, I. 1996. *Efek Antibakteri Ekstrak Biji Pinang (Areca catechu) terhadap S. aureus dan E. coli*. Cermin Dunia Kedokteran 109 : 21-4.

Matondang, I. 2007. *Zingiber officinale L.* <http://iptek.apjri.or.id/artikeltentangtanamanobat/unas/Jahe.pdf>. Diakses pada tanggal 4 Oktober 2011

Nursal, S.W dan Juwita W.S. 2006. Bioaktivitas ekstrak jahe (*Zingiber officinale* Roxb.) dalam menghambat pertumbuhan koloni bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*. *J. Biogenesis* 2(2): 64 – 66.

Paimin, F. B. dan Murhananto, Budidaya, Pengolahan, Perdagangan Jahe, Jakarta: Penebar Swadaya, 2008.

Parks, L.W. and Casey, W.M. 1996. *Fungal Sterols*. Florida: CRC Press, Inc. p. 63-82

Pedoman Pelayanan Medis Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin RSCM. 2005. *Bagian Kulit dan Kelamin*. Jakarta : Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin.

Perfect, J. R. and Schell, W.A. 1995. *In Vitro Efficacy of the Azole, SCH 56592, Compared to Amphotericin B, Fluconazole, and Itraconazole Versus Cryptococcus neoformans*. Washington, D.C.: American Society for Microbiology. p. 124

Reiss, E. and Morrison, C. J. 1993. *Nonculture Methods for Diagnosis of Disseminated Candidiasis*. *Clin. Microbiol. Rev.* 6(4): 311-323

Raju, J., Jagan, M. R., Patlolla, Malisetty, V., Swamy, Chinthalapally, V., Rao. 2004. *Diosgenin, a Steroid Saponin of Trigonella foenum graecum (Fenugreek) Inhibits Azoxymethane-induced Aberrant Crypt Foci Formation in F344 Rats and Induces Apoptosis in HT-29 Human Colon Cancer Cells*. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 13 (8): 1392-1398

Rao, A.V. and Sung, M.K. 1995. *Saponins as Anticarcinogens*. *J Nutr* 125: 717

Rippon, J.W. 1998. *Medical Mycology*. Philadelphia: WB Saunders Co. p.:532-75

Roberts, B., Bray, J., Lewis, J, Raff, M., Roberts, K., Watson, J.D. 1996. *Biologi Molekuler Sel 2nd Ed*. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.

Sari, V.A. 2009. *Efek Antifungi decocta Rimpang jahe merah* . [online]

<http://dqlib.uns.ac.id/pengguna.php?mn=showview&id=14741> Diakses

pada 4 Oktober 2011

Segal, E. 2010. *Advances in the Understanding of the Pathogenesis of Opportunistic Fungal Disease*. Mycoses. 48 : 3-11

Shekhar, Chandra; Nivrutti; Meena Shah; Satish Kumar; Aparna Sole.

2008.*Phytonutrient Profile of Ginger(Zingiber Officinale)*.

http://www.cosmicjoy.com/plant_phytochemistry.htm?plantid=1150.

Diakses pada tanggal 4 Oktober 2011

Silviana. 2006. *Uji Banding efektivitas Ekstrak Rimpang Lengkuas (Alpinagalangal) 10 % dengan Ketokonazol 2 % Secara In Vitro Terhadap Pertumbuhan Candida albicans Pada Kandidiasis Vaginalis*. [Online] eprints.undip.ac.id/21304/1/Silvina.pdf. Diakses pada tanggal 3 Oktober 2011

Simatupang,MM.2009.*Candidaalbicans*.<http://repository.usu.ac.id/bitstream/123456789/1935/1/09E01452.pdf> Diakses pada tanggal 4 oktober 2011

Tjampakasari, C. R. 2006. *Karakteristik Candida albicans*. Cermin Dunia Kedokteran. No. 151, hal: 33=35. Diakses pada tanggal 4 Oktober 2011

Utami, D.N. 2009. *Ekstraksi*. <http://majarimagazine.com/2009/03/ekstraksi/>.

Diakses tanggal 6 Nopember 2011.

Vazques, J. A. 2005. *Epidemiology, Management and Prevention of Candidiasis*.

Online. <http://www.medscape.com/viewarticle/462510>. Diakses pada

tanggal 4 Desember 2011.

Whelan, W.L. 1987. *The Genetic Basis of Resistance to 5-Fluorocytosine in Candida Species and Cryptococcus neoformans*. Crit. Rev. Microbiol.15:45-56.

