BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kandidiasis oralmerupakan salah satu infeksi jamur yang umumnya mempengaruhi mukosa mulut. Lesi ini disebabkan oleh jamur*Candida albicans.Candida albicans*adalah salah satu komponen mikroflora mulut yang normal dan sekitar 30%-50% orang memiliki organisme ini. Angka kejadiankandidiasis oral pada rongga mulut 60% diantaranya diatas usia 60 tahun. (Rao, 2012).

Ketokonazol digunakan sebagai pengobatan pada kandidiasis. Cara kerja dari ketokonazol meliputi beberapa mekanisme, tetapi yang paling utama adalah menghambat sintesis ergosterol, karena absorbsinya yang cukup baik. Ketokonazol memiliki dua sediaan yaitu topikal dan oral. Walaupun efektif, pemakaian ketokonazol tidak dianjurkan kepada penderita gangguan hepar karena bersifat hepatotoksik.(Yulian,2007)Dan efek samping yang seriusdari hepatotoksik ketokenazol adalah idiosinkratik,dengan perbandingan kejadiannya yaitu 1:10.000 dan 1:15.000, akan tetapi sering dijumpai pada pasien yang mendapat pengobatan lebih dari 2 minggu. Untuk pemakaian obat pada jangka waktu yang lama. (Farmakologi FK UNSRI,2008)

Bunga Rosella merupakantanaman jenis perdu yang mudah ditanam. Carapenanamannya dengan menggunakan biji yang kering kemudian

disemai. Darisegi kesehatan, ternyata Rosella mempunyai manfaat untuk mencegah penyakit.Menurut Balittas Malang, bunga Rosella tanaman yang berkelopaktebal, misalnya Rosella merah berguna untuk mencegah penyakit kanker danradang, mengendalikan tekanan darah, melancarkan peredaran darah danmelancarkan buang air besar. Dalam eksperimen ditemukan juga bahwa ekstrakkelopak bunga Rosella mengurangi efek alkohol pada tubuh kita, mencegah pembentukan batu ginjal dan memperlambat pertumbuhan jamur/bakteri/ parasitpenyebab demam tinggi.(Tanjong,2011) Kandungan kimia yang bisa menghambat pertumbuhan jamur seperti *Antosian*, *flavonoid* yang mengandung *gosipetin dan mucilago (rhamnogalakturonan, arabinogalaktan, arabinan)polifenol*, *asam sitrat, saponin* dan *tannin*(Direktorat,2010). Pada uji toksisitas ekstrak kelopak bunga rosela sangat rendah, LD 50 dari ekstrak kelopak bunga rosela tersebut ditemukan di atas 5000 mg/kg, penelitian dilakukan secara in vivo (Ali et al, 2005) sehingga ekstrak kelopak bunga Rosella lebih efektif dan aman dibandingkan obat ketokenazol.

Berdasarkan uraian di atas, menjelaskan mengenai dasar dan buktikemanfaatan kelopak bunga Rosella sebagai antifungi, maka penulis inginmembuktikan adanya pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella(*HIbiscus sabdariffa L*) terhadap koloni *Candida albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dapat menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*secara in vitro?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Mengetahuipengaruh ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*secara in vitro.

1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Mengetahui kadar hambat minimum (KHM)pengaruh ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*secara in vitro.

1.3.2.2 Mengetahui kadarbunuh minimum (KBM)pengaruh ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*secara in vitro.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Penelitian

Manfaat yang ingin dicapai dari penelitian ini adalah memberikaninformasi ilmiah tentang pengaruh konsentrasi dan efektifitas daya antifungi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L*). Selain itu dari hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah Ilmu Pengetahuan dalam bidang kesehatan gigi dan mulut, khususnya tentang penggunaan bahan alami untuk untuk mengurangi koloni *Candida albicans*.

1.4.2 Manfaat Praktisi

Dapat dijadikan sebagai bahan pertimbangan perusahaan industri obat maupun tenaga kesehatan untuk menciptakan suatu alternatif baru dalam pengobatan jamur *Candida albicans.*

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L.) termasuk ke dalam famili *Malvaceae*.Tanaman ini sangat baik ditanam di daerah tropis dan sub tropis. Batang tanaman bulat, berkayu, licin dan silindris. Batangnya berwarna kemerah-merahan dan tingginya mencapai 0,5-3m. Daunnya tunggal, berbentuk bulat telur, pertulanganmenjari,ujung tumpul, tepi bergerigi dan pangkal berlekuk. Panjang daun 6-15 cmdan lebar 5-8 cm. Tangkai daun memiliki panjang 4-7 cm.(Maryani, 2006).

Kelopak bunga Rosella berwarna kuning atau kekuning-kuningan dengan intibunga bewarna merah marun dan akan berubah menjadi warna merah muda bilalayu. Rosella memiliki kelopak yang berbulu dengan panjang 1 cm. Kelopakbunga tersebut sering disalahartikan sebagai bunga. Bagian kelopak ini yangsering dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan minuman.(Maryani, 2006).

Terdapat dua jenis varietas Rosella yaitu *Sabdariffa* dan *Altissima varietas sabdariffa.*Jenis vaietas Rosella Sabdariffa memiliki kelopak bunga berwarna merah, dapat dimakan dansedikit mengandung serat. Sedangkan *Altissima varietas sabdariffa*mengandungserat yang tinggi, namun bunga Rosella *Varietas altissima* jenis ini tidak dapat dimakan.(Maryani, 2006).

Rosela diperkenalkan pada awal 1990-an dan penanaman komersial pertama kali dipromosikan pada tahun 1993.Di Malaysia produksi Rosela sangat dikenal oleh masyarakat luas sebagai minuman kesehatan yang penting di Malaysia. Untuk sebagian kecil, rosela juga diolah menjadi acar manis, jeli dan juga selai.(Pau, 2002)

Gambar 2.1. Kelopak Bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa L)*
Sumber: http://sukatani-banguntani.blogspot.com/2009/11/khasiat-bunga-rosella-yang-luar-biasa.html

2.1.1Klasifikasi Ilmiah :

1. Divisi : *Magnoliophyta*
2. Kelas : *Magnoliopsida*
3. Subkelas : *Dilleniidae*
4. Bangsa : *Malvales*
5. Suku : *Malvaceae*
6. Genus : *Hibiscus*
7. Spesies : *Hibiscuc sabdariffa Linn*

Nama Lain

1. Oseille rouge : Perancis
2. Quimbombo Chino : Spanyol
3. Karkadeh : Afrika Utara, Sudan, Mesir, Arab
4. Bisap : Senegal
5. Abuya : Congo
6. Roselle : Egypt, India, Iraq, Japan, Mexico, Senegal
7. Susur : Indonesia
8. Asam susur : Melayu
9. Asam jarot : Minang
10. Gamet walanda : Sunda
11. Kasturi roriha : Ternate. (Ross, 2003)

2.1.2 Kandungan Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Kelopak bunga Rosella memiliki kandungan bahan aktif, antara lain *flavonoid*, *fenol* atau *polifenol*, asam sitrat, *saponin*, *tannin*, dan *antosian. Flavoid* berfungsi menghambat pertumbuhan mikroorganisme, karena mampu membentuk senyawa kompleks dengan protein melalui ikatan hidrogen. *Tanin* bekerja dengan cara berikatan dengan adhesin mikroba, menghambat produksi enzim oleh mikroba, substrat deprivasi, berikatan dengan dinding sel, menghancurkan membran, kompleksasi ion logam. *Saponin* merupakan senyawa yang secara alami mengandung glikosida dan bersifat seperti sabun.*Saponin* menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba dengan cara berinteraksi dengan membrane sterol.*Antosian* yang menyebabkan

warna merah pada tanaman kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* Dan *antosianin* memiliki efek antifungi yang cukup kuat.(Ratnasari.et al.2013) Ahli gizi menemukan kelopak segar Rosella yang dijual di pasar Amerikatengah tinggi kalsium, riboflavin, niasin, dan zat besi. Kandungan vitamin C yangterdapat dalam bunga Rosella lebih banyak dibandingkan dengan buah-buahanlainnya. Sebagai contoh, setiap 100 gr kelopak bunga Rosella mengandung 244,4mg vitamin C, dengan berat yang sama, jeruk hanya mengandung 48 mg,belimbing hanya 25,8 mg sedangkan papaya mengandung 71 mg. Selainkandungan vitamin C yang sangat tinggi, Rosella juga kaya akan mineral sepertikalsium, phosphor, potassium dan zat besi yang sangat penting untuk tubuh. (Agrina, 2010)

Kandungan kimia Rosella tersebar pada bagian-bagian tanaman ini. Dilaporkan pada ekstrak kelopak bunga Rosella mengandung *flavonoid,polisakarida* dan asam-asam organik yang berperan dalam memberikan efek farmakologis tertentu yaitu sebagai *antioksidan*.*Antioksidan*dapat mengurangikerusakanradikal bebas yang disebabkan oleh*Candida albicans*. Selain itu dapat mencegah pembentukan batu ginjal dan membunuh jamur/bakteri/parasit penyebab demam tinggi.(Tanjong,2011)

2.1.3 Aktivasi Antifungi

Antosianin bekerja dengan caramendenaturasi protein dan menyebabkangangguan dalam pembentukan protein ataugangguan fungsi molekul protein. Hal inimenyebabkan terjadinya perubahan struktur protein yang mengakibatkan terjadinyakoagulasi protein membran sitoplasma. Dapat

mengganggumembran permeabilitassitoplasma dapatmenyebabkan meningkatnya permeabilitas sel sehingga komponen intraseluler sepertinukleotida dan protein akan keluar dari dalam sel. Hal ini mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat bahkan dapat mengakibatkan terjadinya kematian sel.*Antosianin* juga dapat mengganggu prosesdifusi makanan ke dalam sel*Candida albicans*sehingga pertumbuhannya terhenti. Hal inisesuai dengan penelitian Schaefer, Rentzschdan Breuer yang menunjukkan bahwa antosianin memiliki efek antifungi yang cukup kuat. (Ratnasari.et al.2013)

Sifat antifungi *tannin* diketahui dapat mengganggu struktur membran sel dan menghambat proses reproduksi vegetatif *Candida albicans*. *Tannin* dapat menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama dalam membran sel*Candida albicans*. Sterol ini dapat bertanggung jawab atas fluiditas dan permeabilitas membran, sehingga jika sterol tidak terbentuk maka membran sel*Candida albicans*akan terganggu fungsinya.Pada membran sel *Candida albicans* terdapat enzim-enzim yang digunakan dalamsintesis dinding sel*Candida albicans* . *Tannin* dapat berikatan dengan enzim-enzim tersebutsehingga enzim-enzim tersebut tidak dapatmelakukan fungsinya dalam sintesis dindingsel*Candida albicans*.(Ratnasari.et al.2013)

Saponin bekerja dengan cara mengganggu integritas sel *Candida albicans*. Sifat antifungi*saponin* berasal dari kemampuan berikatan dengan sterol pada membran sel *Candida albicans*,menyebabkan terbentuknya pori dan hilangnya integritas membran sel *Candida albicans*. Pori yang terbentuk mengakibatkankomponen intraseluler keluar dari sel danmengakibatkan kematian sel.(Hoetelmans,2000)

Mekanisme kerja dari *flavonoid*adalah sebagai antijamur yang dapat menghambat pertumbuhan membran sel padajamur *Candida albicans*, didalam membran sel banyak mengandung lipid, sehingga oksidasi lipid pada membran sel *Candida albicans*dapatmenyebabkan kerusakan membran sel tersebut. Kerusakan membran sel ini dapatmenyebabkan peningkatan permeabilitas dan peningkatan permeabilitas dapat membuatkomponen intraseluler keluar sehingga padaakhirnya menyebabkan kematian sel*Candida albicans.* (Sari,2012)

2.2 Jamur *Candida albicans*

*Candida albicans*adalah spesies jamur patogen dari golongan*Deuteromycota*. Spesies cendawan ini merupakan penyebab infeksi oportunistik yang disebut kandidiasis pada kulit, mukosa, dan organ dalam manusia. Beberapa karakteristik dari spesies ini adalah berbentuk seperti telur (ovoid) atau sferis dengan diameter 3-5 µm dan dapat memproduksi pseudohifa. Spesies *Candida albicans*memiliki dua jenis morfologi, yaitu bentuk seperti khamir dan bentuk hifa. Selain itu, fenotipe atau penampakan mikroorganisme ini juga dapat berubah dari berwarna putih dan rata menjadi kerut tidak beraturan, berbentuk bintang, lingkaran, bentuk seperti topi, dan tidak tembus cahaya. Jamur ini memiliki kemampuan untuk menempel pada sel inang dan melakukan kolonisasi. *Candida albicans*merupakan jamur morfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa yang berbentuk semu.(Tjampakasari,2010)

Agen infeksi dikenal sebagai mikroba yang berenang seharian di seluruhtubuh kita. Mikroba berada di mulut, tenggorokan, gusi, saluran hidung,gastroinstentinal dan mikroorganisme lainnya. Misalnya, bakteri, virus, jamurmenjadi bagian dari setiap manusia berupa makanan dan bahan kimia. Beberapa kali kematian disebabkan oleh adanya infeksi. Hanya sel jaringan sehatdan organ dalam tubuh kita yang dapat secara efektif mempertahankan diriterhadap mikroorganisme menular. Mikroba, baik berupa bakteri, virus ataujamur, biasanya tidak menimbulkan penyakit sampai perlawanan dari tubuh menurun. (Tanjong,2011)

Istilah teknis yang digunakan oleh dokter untuk menggambarkan mekanisme rumit dimana tubuh kita melawan infeksi adalah “host”. Salah satu mekanisme pertahanan yang paling penting adalah penghancuran mikroorganisme dengan pertahanan oleh leukosit darah (sel darah putih). Sel-sel khusus yang benar-benar mencerna mikroba dan membuat mereka tidak berbahaya.(Tanjong,2011)

Leukosit dapat diproduksi di dalam tubuh, harus ada pasokan yang optimal dari asam amino, vitamin A, C, B1, B2, B6, B12, Biotin, niacinamide, asam pantotenat dan lainnya, serta semua mineral dan elemen. Jika asam amino tunggal kekurangan atau hilang, produksi leukosit berkurang atau bahkan mungkin berhenti. Umumnya terjadi hal ini terjadi bila, perlawanan dalam tubuh melemah, dan kerentanan lebih besar terhadap infeksi akan terjadi.(Tanjong, 2011)

Candida dapat eksis dalam rongga mulut sebagai saprofit tanpa menyebabkan lesi apapun. Antara genus *Candida*, *Candida albicans*diduga spesies patogen dan diterima sebagai faktor penyebab paling umum

kandidiasis oral. *Candida albicans*dapat ditemukan dalam rongga mulut yang sehat pada konsentrasi rendah (20 sel / cc saliva). Dalam konsentrasi ini, organisme ini tidak bisa terdeteksi di bawah mikroskop, tetapi hanya dapat dideteksi melalui kultur dalam media tertentu seperti pada *Doxtroxe Sabouroud Agar* dalam bentuk koloni.Keseimbangan flora rongga mulut dapat berubah menimbulkan suatu keadaan patologis atau penyakit karena beberapa faktor seperti kesehatan mulut yang buruk, obat immunosupresan, penyakit sistemik yang menurunkan daya tahan lokal tubuh.(Sudiono,2006)

2.2.1 Klasifikasi *Candida albicans*

1. Kingdom : *Fungi*
2. Filum : *Ascomycota*
3. Upafilum : *Saccharomycotina*
4. Class : *Saccharomycetes*
5. Ordo : *Saccharomycetales*
6. Famili : *Saccharomycetaceae*
7. Genus : *Candida*
8. Spesies : *Candida albicans(*Tanjong, 2011).

2.2.2 Struktur Fisik

Dinding sel *Candida albicans*berfungsi sebagai pelindung dan jugasebagai target dari beberapa antimikotik. Dinding sel berperan pula dalam prosespenempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utama dinding seltersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi darilingkungannya. *Candida albicans*mempunyai struktur dinding sel

yangkompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Komposisi primer terdiri dari glukan,manan dan khitin. Manan dan protein berjumlah sekitar 15,2-30 % dari beratkering dinding sel, 1,3-D-glukan dan 1,6-D-glukan sekitar 47-60 %, khitinsekitar 0,6-9 %, protein 6-25 % dan lipid 1-7 %. Dalam bentuk ragi, kecambahdan miselium, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa tetapi bentuk miselium memiliki khitin tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan selragi. Dinding sel *Candida albicans*terdiri dari lima lapisan yang berbeda(Tjampakasari, 2010).

Candida albicans merupakan salah satu dari 70 spesies yang berbeda darijamur *Candida*. Istilah Kandidiasis diterapkan untuk proliferasi berlebihan*Candida albicans*dalam usus, mulut, kerongkongan, atau vagina. Kandidiasissistemik melibatkan proliferasi berlebihan dari jamur *Candida albicans*seluruh tubuh.*Candida albicans*bisa mendiami semua tubuh manusia, tetapi biasanya hanyadalam jumlah kecil. Sampai dengan 33% dari orang-orang di daerah baratmenderita kandidiasis yang lebih-proliferasi (Golding,2010).

Gambar 2.2Kandidiasi oral pada rongga mulut.

(Joseph et al,2003)

*Candida albicans*adalah suatu ragi lonjong, bertunas yang menghasilkanpseudomiselium baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. Jamurini adalah anggota flora normal selaput mukosa saluran pernapasan, saluranpencernaan, dan genital wanita. Di tempat-tempat ini, ragi dapat menjadidominan dan menyebabkan keadaan-keadaan patologik. (Tanjong, 2011)

2.2.3. Patogenesis

Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel host menjadi syaratmutlak untuk berkembangnya infeksi. Secara umum diketahui bahwa interaksiantara mikroorganisme dan sel pejamu diperantarai oleh komponen spesifik daridinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Makanan dan manoproteinmerupakan molekul-molekul *Candida albicans*yang mempunyai aktifitasadhesif. Khitin, komponen kecil yang terdapat pada dinding sel *Candida albicans*juga berperan dalam aktifitas adhesive. Setelah terjadi proses penempelan,*Candida albicans*berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Dalam hal ini enzimyang berperan adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Apa yang terjadi setelahproses penetrasi tergantung dari keadaan imun dari host. (Tjampakasari , 2010)

*Candida albicans*berada dalam tubuh manusia sebagai saproba daninfeksi baru terjadi bila terdapat faktor predisposisi pada tubuh pejamu. Faktor-faktoryang dihubungkan dengan meningkatnya kasus kandidiasis antara laindisebabkan oleh :

1. Kondisi tubuh yang lemah atau keadaan umum yang buruk, misalnya: bayibaru lahir, orang tua renta, penderita penyakit menahun, orang-orangdengan gizi rendah

2. Penyakit tertentu, misalnya: diabetes mellitus

3. Kehamilan

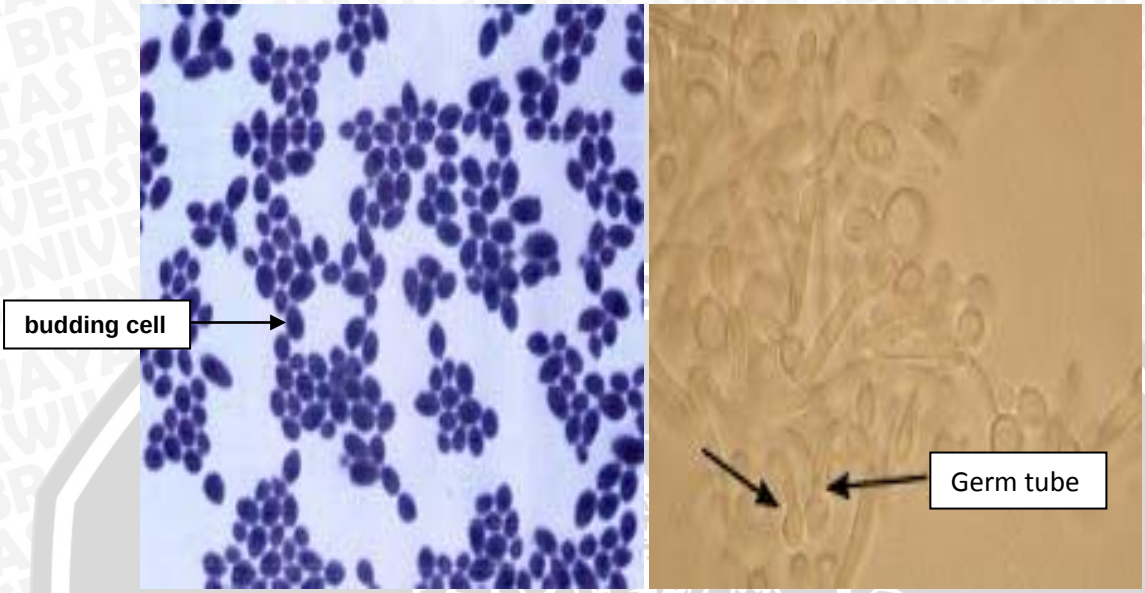
4. Rangsangan setempat pada kulit oleh cairan yang terjadi terus menerus,misalnya oleh air, keringat, urin atau air liur.

5. Penggunaan obat di antaranya: antibiotik, kortikosteroid dan sitostatik.

Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *Candida albicans*serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karenaadanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. *Blastospora* berkembangmenjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut merusak jaringan, sehinggainvasi ke dalam jaringan dapat terjadi. Virulensi ditentukan oleh kemampuanjamur tersebut merusak jaringan serta invasi ke dalam jaringan. Enzim-enzimyang berperan sebagai faktor virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik sepertiproteinase, lipase dan fosfolipase (Tjampakasari, 2010).

Infeksi *kandidiasis* dapat diobati dan mengakibatkan komplikasi minimalseperti kemerahan, gatal dan ketidaknyamanan, meskipun komplikasi bisa beratatau fatal jika tidak ditangani sesegera mungkin. Dalam bidang kesehatan,kandidiasis adalah infeksi lokal biasanya pada mukosa membran kulit, termasukrongga mulut (sariawan) faring atau esofagus, saluran pencernaan, kandungkemih, atau alat kelamin (vagina,penis). Infeksi jamur bisa menyebar ke seluruhtubuh. Dalam Penyakit kandidiasis sistemik, hingga 75 % orang bisameninggal. (Rhodes ,2010)

2.2.4Morfologi Dan Identifikasi *Candida albicans*



(a) **(b)**

Pewarnaan Gram *Candida albicans*Germinating tube test*Candida albicans*

Gambar 2.3 Identifikasi *Candida albicans*

Sumber : http://ra2riezta.blogspot.com/2012/08/mengkudu-si-bau-busuk pembunuh-jamur.html

Pada sediaan apus eksudat ,*Candida*tampak sebagai raji lonjong ,kecil, berdinding tipis ,bertunas,gram positif, berukuran 2-3 X 4-6µmyang memanjang menyerupai hifa*(pseudohifa).Candida albicans* membentuk pseudohifa ketika tunas-tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel-sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada septasi-septasi diantara sel. *Candida albicans* bersifat morfik, selain ragi-ragi dan pseudohifa,iya juga bisa menghasilkan hifa sejati.(Simatupang,2009)

Pada agar saboroud yang dieramkan pada suhu kamar atau 37^0c selama 24 jam, spesies *Candida albicans* menghasilkan koloni-koloni halus berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan terdiri dari

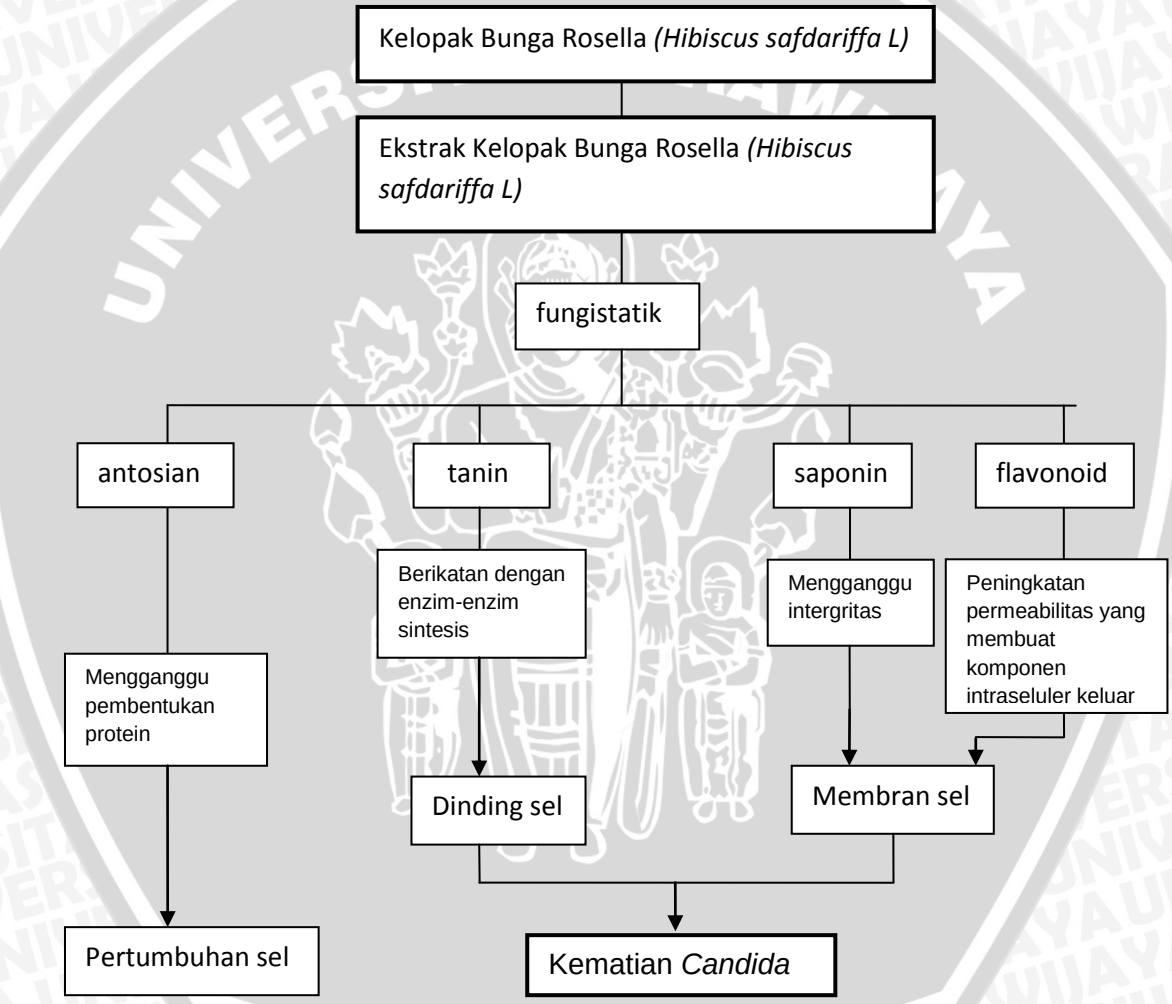
sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan ini dibawahnya terdiri atas pseudomiselium. Ini terdiri atasspseudohifa yang membentuk biastokonia pada nodus-nodus dan kadang-kadang klamidokonidia pada ujung-ujungnya.(Simatupang,2009)

uji pembentukan *Germ tube* hanya digunakan untuk mengidentifikasi spesies *Candida albicans*. Pada uji *Germ tube* media yang digunakan adalah bahan yang mengandung faktor protein, seperti putih telur, serum dan plasma.*Candida albicans* pada media serum akan membentuk *Germ tube* karena pada media serum mengandung protein yang dibutuhkan sebagai stimulan sel ragi untuk merubah bentuk.(Tjampakasari, 2006). Pada umumnya prosedur pemeriksaan *Germ tube Candida albicans* yang dilaksanakan di laboratorium menggunakan serum manusia, sebagai media serum manusia diketahui mengandung protein sebanyak 7%. *Germ tube test*dari *Candida albicans* tidak mempunyai rangkaian atau struktur seperti asalnya, material sel yang baru yang menyusun Germ Tube memperlihatkan bentuk pseudohifa yang diperoleh dari proses pertunasan blastospora. Faktor yang mempengaruhi Germ Tube adalah waktu inkubasi dan suhu.(Tjampakasari, 2006)

BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Konsep Penelitian



Keterangan :

Menunjukkan bagian atau kandungan yang dimiliki

Berpengaruh

Tidak ditelit

Diteliti

Kelopak bunga Rosella memiliki kandungan antosianin, tanin, saponin dan flavonoid yang memiliki beberapa kandungan yang menyebabkan menghambat pertumbuhan anti jamur diantaranya, *Antosianin* bekerja dengan cara mendenaturasi protein dan menyebabkan gangguan dalam pembentukan protein atau gangguan fungsi molekul protein. Hal ini menyebabkan terjadinya perubahan struktur protein yang mengakibatkan terjadinya koagulasi protein pertumbuhan sel. Yang dapat memicu terganggunya permeabilitas membran plasma sel yang menyebabkan meningkatnya permeabilitas sel sehingga komponen intraseluler akan keluar dari dalam sel. Hal ini mengakibatkan pertumbuhan sel terhambat bahkan dapat mengakibatkan terjadinya kematian sel. (Ratnasari.et al.2013) *Tanin* memiliki sifat anti *fungi* yang diketahui dapat mengganggu struktur membran sel. *Tannin* dapat menghambat biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama dalam membran sel *Candida albicans*. Sterol ini bertanggung jawab atas fluiditas dan permeabilitas membran, sehingga jika sterol tidak terbentuk maka membran sel *Candida albicans*akan terganggu fungsinya. Tannin dapat berikatan dengan enzim-enzim sitesis yang berada di dinding sel sehingga enzim-enzim tersebut tidak dapat melakukan fungsinya dalam sintesis dinding sel *Candida albicans*.*Saponin* bekerja dengan cara mengganggu integritas, sel Candida albicans Sifat anti-fungi *saponin* berasal dari kemampuan berikatan dengan sterol pada membran sel *Candida albicans*, menyebabkan terbentuknya pori dan hilangnya integritas membran sel *Candida albicans*. Pori yang terbentuk mengakibatkan komponen intraseluler keluar dari sel mengakibatkan kematian sel. (Hoetelmans,2000). *Flavonoid* sebagai anti-jamur yang dapat menghambat pertumbuhan membran sel

pada *Candida albicans* didalam membran sel banyak mengandung lipid, sehingga oksidsi lipid pada membran sel *Candida albicans* dapat menyebabkan kerusakan membran sel tersebut. Kerusakan membran sel ini dapat menyebabkan peningkatan permeabilitas dan peningkatan permeabilitas dapat membuat komponen intraseluler keluar sehingga pada akhirnya menyebabkan kematian sel *Candida albicans* (Sari, 2012). Kesimpulannya kandungan flavonoid, saponin, tanin dan antosianin dalam kelopak bunga Rosella (*Hibiscus safdariffa L*) dapat menyebabkan kematian pada koloni jamur *Candida albicans*.

3.2 Hipotesis

Berdasarkan kerangka konsep penelitian ini, hipotesis yang disusun yaitu Ekstrak etanol kelopak bunga Rosella (*Hibiscus safdariffa L*) dapatmenghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*secara in vitro.

BAB 4

METODOLOGI PENELITIAN

4.1Jenis dan Rancangan Penelitian

Jenis penelitian yang dapat digunakan adalah eksperimental laboratorik yang menggunakan metode dilusi tabung untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dalam menghambat pertumbuhan koloni*Candida albicans* secara in vitro,

4.2Sampel Penelitian

4.2.1 Sampel Penelitian

Sampel dari penelitian ini adalah koloni jamur *Candida albicans* yang diperoleh dari isolatbakteri Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Besar sampel yang diperlukan dapat dihitung dengan menggunakan rumus pengulangan :

$p(n-1) \geq 15$

$6(n-1) \geq 15$

$6n - 6 \geq 15$

$6n \geq 2$

$n \geq 3,5 = 4$ (Notobroto, 2005)

Keterangan :

p = jumlah perlakuan (6 perlakuan, yaitu 5 konsentrasi ekstrak etanolkelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dan 1 kontrol jamur

n = jumlah pengulangan (4 kali pengulangan)

Berdasarkan rumus pengulangan diatas, dalam penelitian ini akan dilakukan 4 kali pengulangan.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasietanol ekstrak kelopak bunga Rosella*(Hibiscus safdariffa L)*.

4.3.2 Variabel Tergantung

Variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan koloni *Candida albicans.*

4.4Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya pada bulan september-desember 2014.

4.5 Bahandan Alat/Instrumen Penelitian

4.5.1 BahanPembuatanKonsentrasiEtanol Ekstrak Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Disiapkan 500 gramkelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dan etanol dengan kadar96%.

4.5.2Alat Pembuatan KonsentrasiEtanol Ekstrak Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Alat yang digunakan dalam pembuatan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*antara lain: neraca analitik, oven maserator, gelas ukur, botol penampung, *rotary evaporator*, kertas saring *whatman*, dan corong *buchner*.

Isolat jamur *Candida albicans*, safranin, lugol, kertas penghisap, kristal violet, minyak imersi, alkohol 96%, H_2O_2 3%, *aquadest*, kapas, *BloodAgar Plate* (BAP), *optochin disk*.

4.5.3 Alat Identifikasi Jamur *Candida albicans*

Mikroskop,Ose bulat,Cover glass,Object glass,Bunsen,Korek,Tissue

4.5.4 Alat Dan Bahan Kultur *Candida albicans*

Alat : lampu spritus , korek api, ose , inkubator, lemari pendingin. Bahan : biakkan *Candida albicans* pada media miring SDA No. 91% seperti laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya , SDA plate.

4.5.5 Alat Dan Bahan Pewarnaan Gram

Alat : gelas obyek , gelas penutup , lampu spiritus, korek api, ose, mikrosko. Bahan : suspensi *Candida albicans*, kertas penghisab atau tissue, bahan pewarnaan Gram (Kristal violet, lugol, alkohol 96% dan safranin)

4.5.6 Alat Dan Bahan *Germinating Tube Test*

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

4.5.6 Alat Dan Bahan Pembuatan Original Inoculum *Candida albicans.*

Alat : tabung reaksi 5 buah ,pipet,ose, vortex, standar Mc farland 0,5. Bahan : isolat jamur *Candida albicans,* NaCL, RPMI.

4.5.7 Alat Dan Bahan Uji Dilusi Tabung

Alat : rak kayu,tabung reaksi,pipet steril ukuran 1 ml dan 10 ml, karet penghisap, inkubator, lampu spiritus, vortex. Bahan : ekstrak etanol kelopak bunga Rosella*(Hibiscus safdariffa L)*,korek api, kapas steril, inokulum *Candida albicans,* aquadest streril.

4.5.8 Alat Dan Bahan Uji Streaking Plate

Alat : ose, lampu spiritus, colony counter, saboroud dextose agar (SDA)

4.5.9 Alat Dan Bahan Uji Dilusi Agar

Alat : pse, lampu spiritus, inkubator, plate,pipet. Bahan : saboraud dextrosse agar, isolat jamur *Candida albicans*.

4.6 Definisi Operasional

Pada penelitian yang dimaksud dengan :

a. Kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* yang masih segar dan dalam keadaan bersih didapatkan di UPT Materia Medika Batu, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur.
b. Ekstrak etanol kelopak bunga Rosella*(Hibiscus safdariffa L)*merupakan proses ekstraksi simplisia menggunakan etanol 97%.. Dengan metode ini, zat-zat aktif yang tahan terhadap pemanasan maupun yang tidak tahan pemanasan dapat ditarik hingga mendapatkan hasil berupa ekstrak kental. Pada penelitian ini digunakan konsentrasi6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16% yang didapatkan dengan metode pengenceran seri.Ekstrak

etanol kelopak bunga Rosella*(Hibiscus safdariffa L)*didapatkandari Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur UPT Materia Medika Batu.

c. Jamur *Candida albicans*dalam penelitian ini didapatkan dari isolat bakteri Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang yang telah dilakukan tes identifikasi jamur.
d. Kontrol positif penelitian ini,yaitusediaanjamurtanpapenambahan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella .
e. Kontrol negatif penelitianini,yaitusediaan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella tanpa penambahan suspensi jamur.
f. Kadar hambat minimum (KHM), yaitu kadar atau konsentrasi terendah ekstrak etanol kelopak bunga Rosella*(Hibiscus safdariffa L)*yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Penentuan konsentrasi kadar hambat minimum (KHM) didapatkan dengan melihat tabung yang jernih pada pengenceran tertinggi menggunakan metode pengenceran (dilusi tabung).
g. Kadar bunuh minimum (KBM), yaitu kadar atau konsentrasi terendah konsentrasi terendah ekstrak etanol kelopak bunga Rosella*(Hibiscus safdariffa L)*yang dapat membunuhpertumbuhan jamuruji *Candida albicans.* Hal ini ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni jamur pada medium atau pertumbuhan koloni bakteri kurang dari 0,1% *Original Inoculum* (OI).

4.7 Prosedur Penelitian

4.7.1 Persiapan

Alat-alat yang dapat disterilisasi, seperti tabung reaksi, erlenmayer, petridisk, dll disiapkan dalam kondisi steril terlebih dahulu. Proses sterilisasi dilakukan dengan menggunakan *autoclave*pada suhu 35-37^0 selama 48 jam.

4.7.2PembuatanEkstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Kelopak bunga Rosella segar dicuci bersih lalu dikeringkan hingga benar-benar kering (diangin-anginkan dalam suhu ruangan) dipotong dan digiling halus sampai mendapatkan kelopak bunga Rosella sebanyak 500 gram.

1. Serbuk kelopak bunga Roselladimasukkan ke maserator dan direndam dengan sesekali diaduk dalam etanol 96% selama 24 jam, kemudian disaring dengan corong *Buchner* dan kertas saring *whatman* sampai didapatkan filtrat yang terpisah dari ampasnya.
2. Perendaman dan penyaringan tersebut diulang sebanyak 6 kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama hingga warna maserat berubah dari coklat gelap menjadi kuning kecoklatan.
3. Kemudian, semua filtrat dijadikan satu dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* dengan suhu 50°C.
4. Filtrat yang tersisa diuapkan dengan oven maserator pada suhu 40-50°C hingga didapatkan ekstrak kental.
5. Ekstrak kelopak bunga Rosellamurni dimasukkan ke dalam botol steril, ditutup rapat, dan disimpan di tempat yang sejuk.

4.7.3Kultur *Candida albicans*

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

1. koloni jamur yang berasal dari biakkan persediaan kultur Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya diambil dengan menggunakan ose yang sudah disterilkan.
2. Koloni pada ose ditanamkan ke SDA plate.
3. Pada suhu 37^0, SDA plate tadi diinkubasi dalam inkubator selama 18_24 jam.
4. Koloni *Candida albicans* yang telah tumbuh pada SDA plate diperhatikan karakteristiknya kemudian dilakukan pewarnaan Gram terhadap koloni *Candida albicans.*
5. Kultur jamur *Candida albicans* siap digunakan sebagai bahan penelitian.

4.7.4 Identifikasi *Candida albicans*

Proses identifikasi *Candida albicans*terdiri atas 2 macam tahapan yakni pewarnaan gram dan *Germinating tube test* akan memberi hasil identifikasi bahwa isolat benar *Candida albicans*.

4.7.5 Pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan memastikan bahwa organisme yang diteliti merupakan *Candida albicans*, dimana akan didapatkan gambaran budding cell berwarna biru hitam yang menunjukkan karakteristiknya gram positif. Berikut serangkaian proses dalam pewarnaan gram :

1. Gelas obyek dibersihkan dengan kapas steril, kemudian dilewatkan diatas api lampu spiritus untuk menghilangkan lemak lalu didinginkan.
2. Gelas obyek diteteskan dengan satu ose aquades steril kemudian sediaan jamur diambil dengan menggunakan ose steril, kemudian disuspensikan dengan aquades pada gelas objek dan diratakan.
3. Sediaan dibiarkan kering diuadara, setelah kering. Sediaan difiksasi dengan cara dilewatkan diatas api, kemudian sediaan siap diwarnai.
4. Kristal violet dituangkan pada gelas obyek,didiamkan selama 1 menit. Setelah larutan dibuang dan larutan dibilas dengan air.
5. Lugol dituangkan pada gelas obyek selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur, kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
6. Alkohol 96% dituangkan pada gelas obyek selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur, kemudian sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Safranin dituangkan pada gelas objek selama 30 detik, kemudian sisa larutan dibuang dan dibilas dengan air.
8. Gelas obyek ditetesi dengan minyak emersi dan siap untuk diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran lensa obyektif 100x.

4.7.6 *Germinating Tube Test*

Germinating test 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 :

1. Plasma 0,5 ml dari laboraturium mikrobiologi universitas brawijaya malang disediakan dalam tabung.

2. Koloni terpisah *Candida albicans*. Pada SDA diambil dengan menggunakan ose yang sudah disterilkan kemudian dimasukkan kedalam tabung yang berisi plasma.
3. Tabung yang berisi serum tadi diinkubasi pada suhu 37^0 C. Selama kurang lebih 1.5 – 2 jam.
4. Kultur didalam serum diambil dengan menggunakan oose dan diletakkan pada gelas obyek, lalu ditutup dengan gelas penutup.
5. Gelas obyek ditetesi dengan minyak emesi kemudian diamati dibawah mikroskop dengan lensa obyektif pembesarann 40x.
6. Bila didapatkan hasil positif maka akan didapati gambaran seperti kecambah (Murray,1998)

4.7.7 Uji pendahuluan

Dilakukan untuk menentukan konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*yang dipakai pada penelitian. Pada uji pendahuluan ini, zona hambatan padamasing-masing konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosella akan dibandingkandengan zona hambatan pada kontrol positif. Konsentrasi ekstrak kelopak bungaRosella yang memiliki zona hambatan paling mendekati kontrol positif akandigunakan sebagai konsentrasi acuan untuk menentukan konsentrasi yang akandigunakan pada penelitian

1. Pada uji pendahuluan ini digunakan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%. 6,25%, 3,13%, dan kontrol positif dengan perbandingan

$$\frac{\text{1 cc aquades}}{100} \quad \text{X konsentrasI ekstrak}$$

2. Larutan kloramfenikol yang ditambahkan pada *Saboraud Dextrose Agar* cair untuk mencegah tumbuhnya kontaminan. Setiap 1000 ml *Saboraud DextroseAgar* memerlukan 400 mg kloramfenikol. Sehingga kloramfenikol yang diperlukan adalah :

(70 l / 1000 ml) x 400 mg = 28 mg kloramfenikol

3. *Saboraud Dextrose Agar* cair lapisan pertama dituang ke dalam cawan petriyang telah disterilkan dan dibiarkan memadat.

4.Setelah *Saboraud Dextrose Agar* padat, letakkan 9 pencadam padapermukaannya.

5. Ambil biakan *Candida albicans*dengan menggunakan osche yang di panaskandi atas lampu spirtus sampai membara lalu dibiarkan dingin kemudiandimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl hingga mencapai kekeruhanyang sesuai dengan standar 0,5 *Mc Farland* sebagai suspensi

6. Tuang *Saboraud Dextrose Agar* cair di atas lapisan pertama yang telah padat,kemudian diratakan dan dibiarkan memadat.

7. Setelah *Saboraud Dextrose Agar* padat, keluarkan pencadam dari sumuran dandengan menggunakan swab steril berilah apusan *Candida albicans* di ataspermukaan *Saboraud Dextrose Agar* hingga merata.

8. Beri 30 µl ekstrak etanol kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) yang telah di encerkan pada 7 tabung dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,13% dan 1 tabung kontrol negatif dengan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga rosella tanpa jamur *Candida albicans* dan 1 tabung berisi kontrol positif tanpa ekstrak etanol kelopak bunga Rosella kecuali jamur *Candida albicans.*

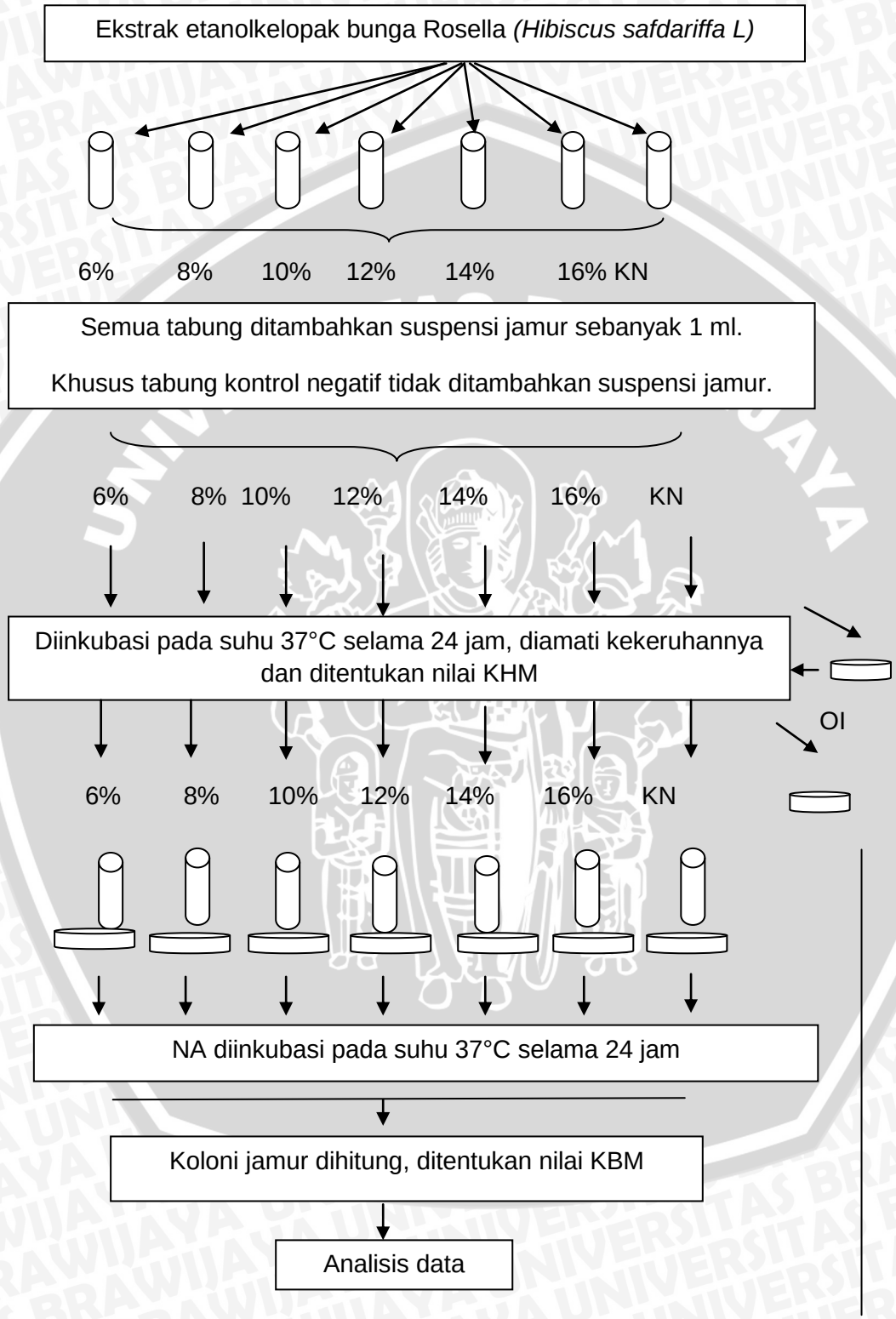
9. Cawan petri di inkubasi selama 1 x 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37º C.

10. Kemudian mengukur KHM dan KBM berupa daerah jernih disekeliling sumuranyang tidak ditumbuhi koloni *Candida albicans*diukur. (Tanjong, 2011)

4.7.8 Cara Kerja Uji Konsentrasi Penelitian

1. Sebanyak 260 gram *Saboraud Dextrose Agar* bubuk ditambahakan dengan 280 ml akuades, diaduk kemudian di sterilkan dalam autoklaf bersama dengan alat yang akan digunakan selama 15 menit pada suhu 121º C.
2. Larutan kloramfenikol yang ditambahkan pada *Saboraud Dextrose Agar* cair untuk mencegah tumbuhnya kontaminan. Setiap 1000 ml *Saboraud DextroseAgar* memerlukan 400 mg kloramfenikol. Sehingga kloramfenikol yang diperlukan adalah (280 / 1000 ml) x 400 mg = 112 mg kloramfenikol.
3. *Saboraud Dextrose Agar* cair lapisan pertama dituang ke dalam cawan petri yang telah disterilkan dan dibiarkan memadat.
4. Setelah *Saboraud Dextrose Agar* padat, letakkan 7 pencadam pada permukaannya.
5. Ambil biakan *Candida albicans*dengan menggunakan osche yang di panaskan di atas lampu spirtus sampai membara lalu dibiarkan dingin kemudian dimasukkan ke dalam tabung yang berisi NaCl hingga mencapai kekeruhan yang sesuai dengan standar 0,5 *Mc Farland* sebagai suspensi
6. Tuang *Saboraud Dextrose Agar* cair di atas lapisan pertama yang telah padat, kemudian diratakan dan dibiarkan memadat

7. Setelah *Saboraud Dextrose Agar* padat, keluarkan pencadam dari sumuran dan dengan menggunakan swab steril berilah apusan *Candida albicans*di atas permukaan *Saboraud Dextrose Agar* hingga merata.
8. Beri 30 µl ekstrak kelopak bunga Rosella (*Hibiscus sabdariffa* L) yang telah di encerkan pada 5 tabung dengan konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16% dan tabung kontrol negatif dengan konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosella tanpa jamur *Candida albicans* dan 1 tabung berisi kontrol positif tanpa ekstrak kelopak bunga Rosella kecuali jamur *Candida albicans.*
9. Cawan perti di inkubasi selama 1 x 24 jam dalam inkubator dengan suhu 37ºC.
10. Pada hari kedua, semua tabung dikeluarkan dari inkubator. KHM didapatkan dengan cara mengamati kejernihan tabung dibantu dengan latar belakang berupagaris hitam yang berbeda ketebalannya.
11. Kemudian untuk memperjelas hasil, dari masing-masing tabung dilusi diambil satu ose, lalu diinokulasikan pada media *Nutrient Agar* (NA). Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.
12. Pada hari ketiga, hasil data KBM didapatkan dan dilakukan pengamatan kuantitatif pada masing-masing tabung konsentrasi dengan cara menghitung jumlah koloni bakteri dengan *colony counter*. KBM ditentukan dengan tidak adanya jumlah koloni bakteri yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA) atau jumlah koloninya kurang dari 0,1% jumlah koloni di *Original Inoculum*. (Tanjong, 2011)



Gambar 4.1 Alur Penelitian

Keterangan :

KP = Kontol positif (jamur *Candida albicans* ditambah *aquadest*, tanpa penambahan ekstrak etanolkelopak bunga Rosella).

KN=Kontrol negatif (ekstrak etanolkelopak bunga Rosella tanpa penambahan jamur *Candida albicans.*

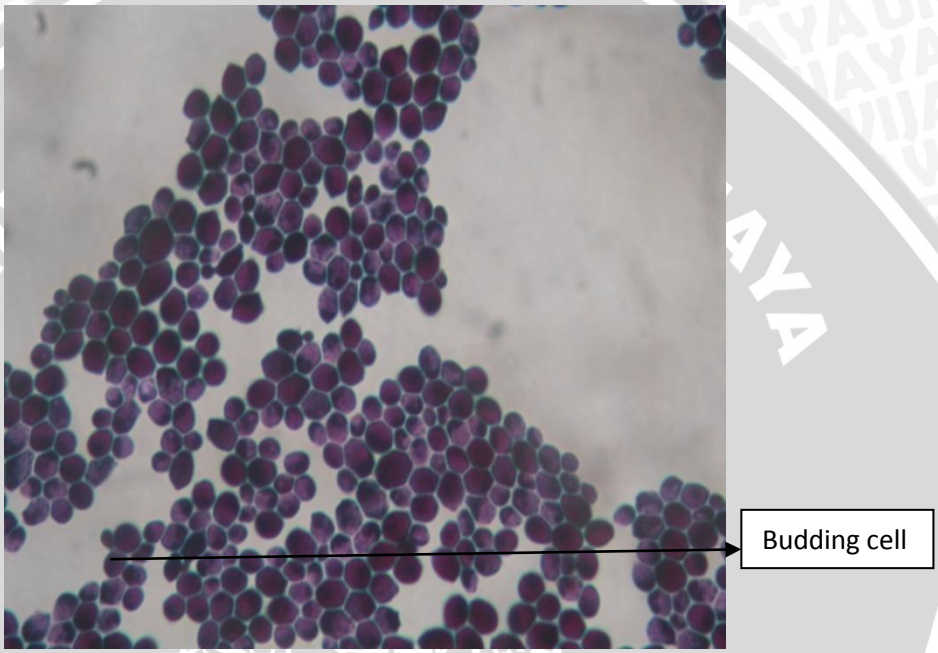
4.8 Analisis Data

Terlebih dahulu dilakukan uji distribusi normalitas pada data menggunakan uji *Kolmogorov Smirnov*dan dilakukan pengujian homogenitas data menggunakan uji *Levene Homogenicity Test*. Kemudian bila data terdistribusi normal dan homogen, analisis data yang digunakan adalah uji statistik *One Way Anova*. Uji statistik *One Way Anova*dengan derajat kepercayaan 95% (α = 0,05) ini digunakan untuk mengetahui adanya pengaruh pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*terhadap pertumbuhan koloni bakteri *Candida albicans*. Apabila didapatkan nilai signifikansi p value ≤α (0,05) maka hipotesis diterima, tetapi apabila p value >α (0,05) maka hipotesis ditolak. Selanjutnya dilakukan uji korelasi-regresi digunakan untuk mengetahui kekuatan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L))* terhadap pertumbuhan bakteri*Candida albicans.*

BAB V

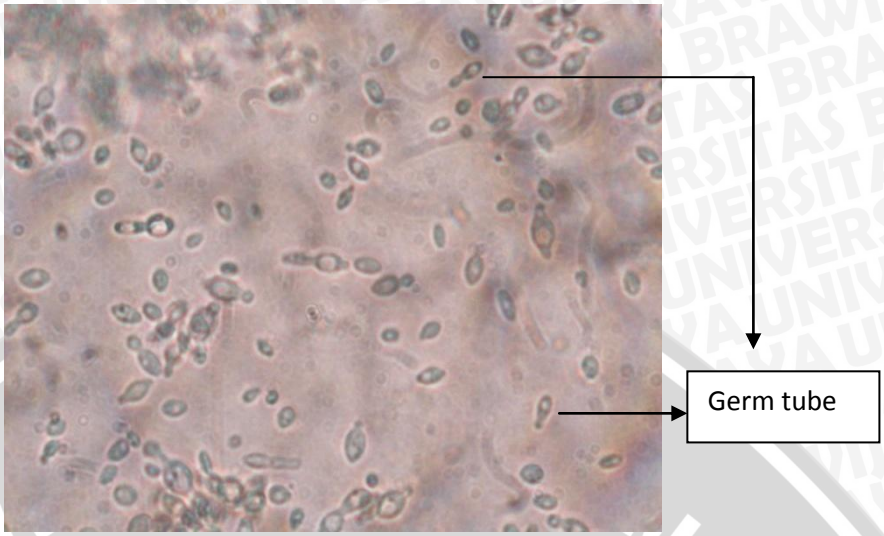
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Identifikasi *Candida albicans*



Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram*Candida albicans*

Penelitian ini menggunakan isolat jamur *Candida albicans* yang didapat Dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya kemudian dikultur di Laboratorium Universitas Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Brawijaya. Sebelum jamur digunakan, dilakukan identifikasi untuk memastikan bahwa jamur tersebut adalah *Candida albicans.* Setelah dilakukan tes pewarnaan Gram (Gambar 5.1), pada pengamatan mikroskop dengan perbesaran 1000x, terlihat gambaran budding cell jamur berwarna ungu, bulat dan membentuk rantai. Berdasarkan tes tersebut diketahui bahwa jamur tersebut merupakan jamur gram positif.



Gambar 5.2 Hasil *Germinating Tube TestCandida albicans*

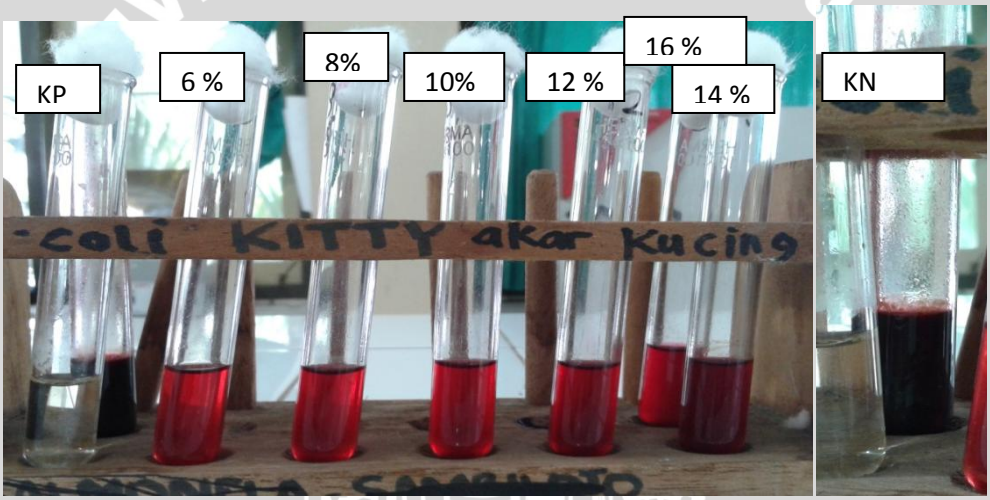
Pada *Germinating tube test*(Gambar 5.2) didapatkan hasil positif, dimana terlihat gambaran seperti kecambah yang memanjang *(Germ tube)* yang ditemukan pada *Candida* spesies lain, hal ini menunjukkan bahwa jamur tersebut adalah *Candida albicans.*

5.2 Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Kelopak bunga Rosella yang digunakan dalam penelitian ini didapat dari UPT Materi Medica Batu, Dinas Kesehatan Propinsi Jawa timur . Kelopak Bunga Rosella melewati proses ekstraksi dengan metode maserasi dan didapatkan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* sebanyak 15 ml. Kemudian dilakukan uji sterilisasi dengan streaking pada SDA dan diinkubasi pada suhu 37^{o} selama 24 jam. Pada hasil uji sterilisasi tidak didapatkan adanya pertumbuhan jamur.Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* sudah streril.

5.3 Hasil Penelitian KHM Dengan Metode Dilusi Tabung

Dari hasil uji dilusi tabung, tampak ekstrak pekat dan terdapat endapan pada semua konsentrasi, sehingga kadar hambat minimum (KHM) ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* terhadap jamur *Candida albicans* tidak dapat dilihat melalui metode dilusi tabung, Dikarenakan terdapatnya kekeruhan pada tabung, setelah diinkubasi selama 18-24 jam (Dzen et all.2003).



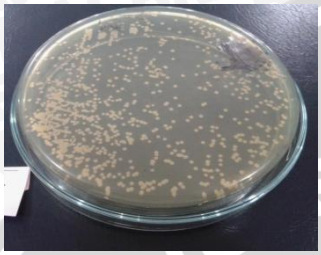
Gambar 5.3 Hasil Pengamatan KHM Dengan Metode Dilusi Tabung

Keterangan (kiri-kanan) **:** Kontrol positif (KP) dilusi tabung,Dilusi tabung dengan konsentrasi ,Dilusi tabung dengan konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12%, 14%, 16% dan Kontrol Negatif (KN) dilusi tabung

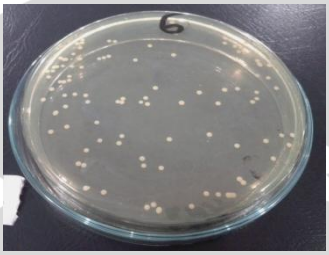
5.4 Hasil Perhitungan Jumlah Koloni Jamur *Candida albicans*

Perhitungan koloni *Candida albicans* pada media NA dilakukan dengan cara menghitung jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada setiap plate yang berisi media NA yang telah di-streaking dengan biakan *Candida*

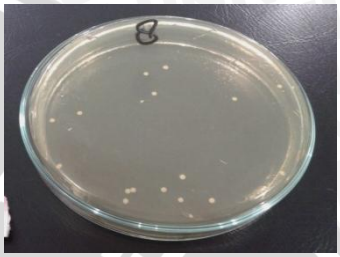
*albicans*dan ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dalam berbagai konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12%, 16% dan kontrol positif (KP) yang sebelumnya telah diinkubasi pada suhu 37^0 C selama 24 jam (Gambar 5.4)



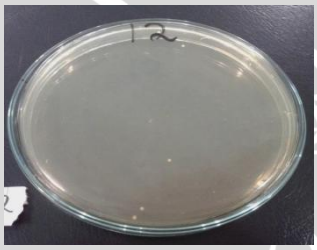
(A) Kontrol Positif



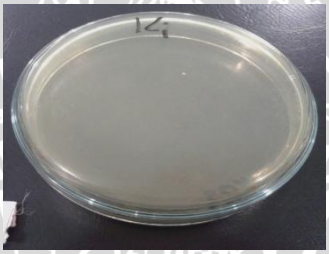
(B) Konsentrasi 6%



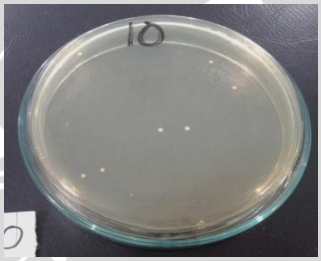
(C) Konsentrasi 8%



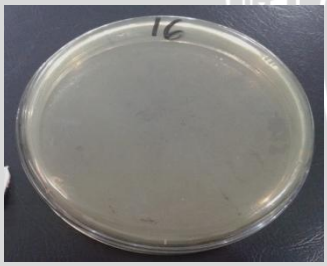
(D) Konsentrasi 10%



(E) Konsentrasi 12%



(F) Konsentrasi 14%



(G) Konsentrasi 16%

Gambar 5.4 Pertumbuhan Koloni *Candida albicans*Pada SDA

Tujuan dari pengamatan ini adalah untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menghambat koloni jamur *Candida albicans.* KBM ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* ditentukan dari konsentrasi

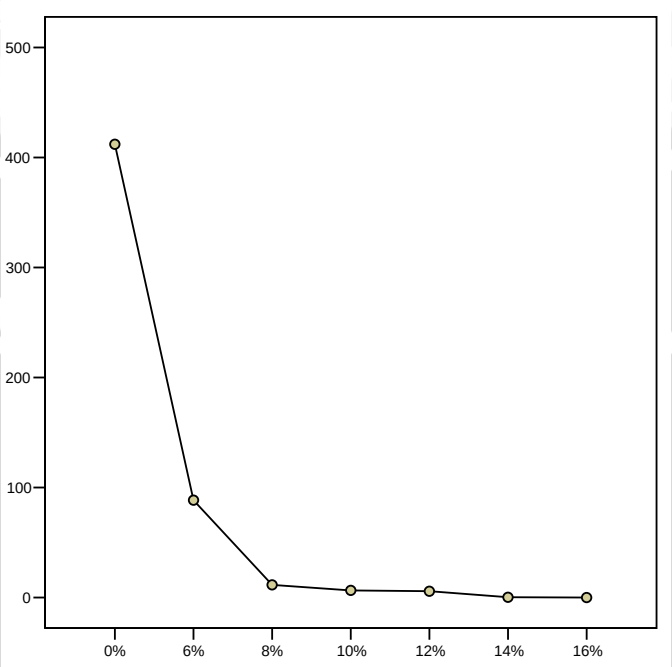
dimana jumlah koloni yang tumbuh kurang dari 0,1% jumlah koloni yang tumbuh pada OI (*Original Inoculum).*perhitungn jumlah koloni jamur dilakukan dengan alat *Colony counter.* Hasil perhitungan koloni jamur *Candida albicans*yang tumbuh pada media *Nutrient Agar* (NA) dari berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 5.1.

Tabel 5.1 Hasil Perhitungan Koloni *Candida albicans* Pada Media *Nutrient Agar*

Konsentrasi	Pengulangan (CPU/Plate)				**Jumlah (CFU/Plate)**	**Rata-rata (CFU/plate)**
	I	II	III	IV		
Kontrol positif (KP)	412	412	412	412	1.648	412
6%	86	86	79	103	354	88,50
8%	10	13	17	6	46	11,50
10%	6	3	8	9	26	6,50
12%	9	3	6	5	23	5,75
14%	1	0	0	0	1	0,25
16%	0	0	0	0	0	0

Berdasarkan hasil penelitian yang tercantum pada Gambar 5.4 dan Tabel 5.1, dapat dilihat bahwa pada Kontrol Positif (KP) terlihat adanya jumlah koloni *Candida albicans*yang sangat tinggi. Jumlah koloni yang tinggi juga terdapat pada konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* 6 % pada setiap pengulangan yang dilakukan,sedangkan pada konsentrasi 16 % tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni *Candida albcans* .Pada Gambar 5.4 dapat dilihat bahwa dari empat kali pengulangan

tidak menunjukkan perbedaan jumlah koloni yang terlalu signifikan pada setiap konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L).*



Gambar 5.5 Jumlah Rata-Rata Koloni Jamur *Candida albicans* Setelah Pemberian Berbagai Konsentrasi Ekstrak Etanol Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*

Pada gambar 5.5 didapatkan adanya penurunan jumlah koloni jamur *Candida albicans*dari hasil empat kali pengulangan pada tiap konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*. Selain itu, dapat diamati pula bahwa setiap peningkatan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* disertai dengan gradasi penurunan jumlah pertumbuhan koloni *Candida albicans* .pada konsentrasi 16% tidak terlihat adanya pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Sedangkan pada konsentrasi 6%, 8%, 10%, 12% dan 14% terlihat perbedaan yang nyata. Hal ini

menunjukkan bahwa ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* mempunyai efek antijamur dalam menghambat *Candida albicans*.

Berdasarkan hasil penelitian tersebut, dapat dilihat bahwa dengan seiring meningkatnya konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*, terjadi penurunan jumlah kolonu jamur*Candida albicans* yang tumbuh pada media NA, dimana pada konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* 16% tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Oleh karena itu, dapat dikatakan bahwa Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menghambat koloni jamur *Candida albicans* adalah konsentrasi 16%.

5.5 Analisa Data

5.5.1 Uji One-Way ANOVA

Syarat menggunakan uji one-way ANOVA yaitu data terdistribusi normal yaitu bila nilai signifikansi p > 0,05, serta variasi data homogen yaitu bila nilai signifikasi p > 0,05 . Bila tidak terdistribusi normal dan tidak homogen, terlebih dahulu dilakukan transformasi data.

Uji normalitas data menggunakan uji Kolimogorov-Smirnov (Lampiran 3) dilakukan untuk mengetahui distribusi data normal atau tidak. Berdasarkan uji normalitas data diperoleh nilai signifikansi 0,606 (0,0606 > 0,05) yang menunjukkan bahwa data terdistribusi normal. Uji homogenitas data menggunakan uji levene Homogenety Test (Lampiran 3) dilakukan untuk variasi data homogen atau tidak. Berdasarkan uji homogenitas data diperoleh

nilai signifikansi 0,206 (0,206 > 0,05) sehingga Ho diterima, yang menunjukkan bahwa variasi data adalah homogen. Berdasarkan hasil kedua uji tersebut, data yang diperoleh memenuhi syarat untuk dilakukan uji one way ANOVA.

Berdasarkan hasil uji one-way ANOVA (lampiran 3) diperoleh nilai F hitung 4632,673 pada perhitungan statistik diatas. Sedangkan pengambilan keputusan dapat langsung berdasarkan nilai signifikansi yang besarnya 0,00, dimana sig < 0,05, sehingga Ho ditolak, yang berarti efek pemberian berbagai konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* terhadap jumlah koloni *Candida albican*sterdapat perbedaan signifikansi pada taraf kepercayaan 95%.

Uji Post Hoc Turkey merupakan uji pembanding berganda (Multiple Comparison Test), bertujuan untuk menunjukkan pasangan kelompok konsentrasi yang memberikan perbedaan signifikan dan yang tidak memberikan perbedaan signifikan. Berdasarkan hasil uji Post Hoc Turkey (lampiran 3) , Diketahui bahwa terdaapat perbedaan signifikan pada setiap pasangan kelompok konsentrasi yang ditunjukkan dengan nilai signifikan <0,05 (p< 0,05).

5.5.2 Uji Kolerasi – Regresi

Uji kolerasi digunakan untuk mengetahui hubungan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menghambat jumlah koloni jamur *Candida albicans* . Hasil Uji Kolerasi Pearson (lampiran 3) menunjukkan nilai signifikansi 0,000 (p < 0.05) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak etanol

kelopak bunga Rosella dalam menghambat jumlah koloni jamur. Besarnya koefisien kolerasi antara -1 s/d 1. Bila nilainya mendekati -1 atau 1, maka hubungan kedua variabel tersebut sangat kuat . dari hasil penelitian didapatkan koefisien kolerasi pearson adalah R=-0,853. Dimana nilai R tersebut mendekati -1 artinya terjadi hubungan yang kuat antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan jamur.Tanda negatif menunjukkan hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*.

Uji Regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menghambat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Berdasarkan hasil Uji Regresi (Lampiran 3),nilai R square (Determinan) adalah 0,727 yang menunjukkan bahwa kontribusi pemberian ekstrak ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* sebesar 72,70 % sedangkan sisa nya 27,30% disebabkan oleh faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut, misalkan, kualitas dalam penyimpanan ekstrak, suhu tempat penyimpanan ekstrak, atau resistensi bakteri itu sendiri. Rumus umum koefisien yaitu Y= a + bx . Dimana nilai konstanta (a), koefisien Regresi (b) , variabel bebas (X), variabel terikat (Y). Di dalam penelitian ini Y adalah zona hambat koloni jamur *Candida albicans*, Sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*. Bersamaan regresi yang didapatkan adalah Y = 302,063 – 24,090 X. Dari persamaan tersebut dapat diinterpretasikan bahwa setiap peningkatan dosis ekstrak

sebesar 1 % akan diiringi penurunan jumlah koloni secara signifikansi sebanyak 24,090 koloni jamur

BAB VI

PEMBAHASAN

Dengan pemberian ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*diharapkan menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans.*Tanaman ini memiliki efek antibakteri dan anti jamur yang terbukti efektif menghambat pertumbuhan jamur*Candida albicans*pada penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Efek antifungi pada ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* ini disebabkan oleh beberapa kandunganyang efektif sebagai antijamur yang terdapat pada kelopak bungaRosella *(Hibiscus safdariffa L).* (Effendi,2013)pada penelitian ini dapat diketahui kadar hambat minimum (KHM) dan kadar bunuh minimum (KBM) pada pertumbuhan jamur *Candida albicans*dengan melakukan metode tube dilution (Risma,2014)

Hasil penelitian ini dapat diketahui kadar hambat minimum (KHM) ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* tidak dapat diketahui dikarenakan terjadi nya kekeruhan yang disebabkan kelopak bunga Rosella memiliki bahan dasar yang merah pekat sehingga terdapat endapan, oleh karena itu kadar hambat minimum (KHM) tidak bisa dilihat melalui metode dilusi tabung, (Dzen et all.2013) sedangkan untuk mengetahui kadar bunuh minimum (KBM) diketahui pada konsentrasi 16% yang diamati melalui media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) < 0,1 % *original inoculum* yang ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan jamur *Candida albicans*(Fereira , 2012) Dapat disimpulkan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*secara in vitro.

Dandikuatkan dengan penelitian lain bahwa konsentrasi pada ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus sabdariffa L)* memiliki kandungan antijamur pada konsentrasi 24% yang menghambat pertumbuhan jamur*Candida albicans.*(Effendy,2013)

Berdasarkan uji statistik menggunakan SPSS for windows versi 12.0. Analisis data yang dilakukanmeliputi uji one-way ANOVA, uji kolerasi pearson dan uji regresi. Data hasil penelitian uji one-way ANOVA menunjukkan bahwa terdapat signifikansi yang besarnya 0,00, dimana sig < 0,05, sehingga Ho ditolak. Berarti efek pemberian berbagai konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menghambat koloni jamur *Candida albicans*terdapat perbedaan signifikansi. Setelah itu, dari hasil Uji Post Hoc Turkey didapatkan bahwa terdapat perbedaan sigfikan pada setiap pasangan kelompok konsentrasi yang ditunjukkan pada setiap pasangan dengan nilai signifikansi <0,05 (p < 0,05) dengan kesimpulan pada konsentrasi 6%,8%,14%,16% terdapat perbedaan yang signifikan,sedangkan konsentrasi 10% dan 12% tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Selanjutnya, hasil uji kolerasi pearson yang menunjukkan hubungan terbalik, yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosella maka semakin sedikit jumlah pertumbuhan koloni jamur. Dari hasil uji regresi menunjukkan hasil 72,70 % pada saat kontribusi pemberian ekstrak kelopak bunga Rosella(*Hibiscus sabdariffa* L) dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans*.

Hal yang dapat menjelaskan mengapa ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*karena beberapa kandungan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella seperti kandungan *antosianin*menunjukkan sifat antioksidan kuat dibanding

butil hidroksi anisol (BHA) dan α- tokoferol. Sifat antioksidan ini dimonitor melalui pembentukan senyawa diena-konjugasi dan senyawa reaktif tiobarbiturat dalam sistem model asam linoleat. Efek proteksi terhadap radikal bebas ini diperkirakan karena asam askorbat, β-karoten dan senyawa fenolik dan dapat menyebabkan denaturasi protein yang dapat mengganggu pertumbuhan sel *jamur Candida albicans*.(BPOM RI,2011)sedangkan senyawa *flavonoid*suatu kelompok senyawa fenol yang terbesar yang ditemukan di alam. Senyawa – senyawa ini merupakan zat warna merah.Kelopak bunga rosella (*Hibicscus sabdariffa* L) mengandung beberapa senyawa *flavonoid* yakni *anthocyanin, gossypeptin (hexahydroxyflavone) 3-glucoside, flavonol glucoside hibiscritin, flavonoid gossypeptin, delphinidine 3-monoglucoside, cyanidin 3-monoglucoside*. Memiliki aktifitas antifungi dengan Etanol /air (1:1) yang dapat merusak membran sel *Candida albicans*.Senyawa *flavonoid* dan *tanin* yang terkandung termasuk golongan senyawa fenolik. Senyawa fenolik dan saponin bersifat larut dalam air dan mengandung gugus fungsi hidroksil (-OH), sehingga lebih mudah masuk ke dalam sel dan membentuk kompleks dengan protein membran sel. Senyawa fenolik berinteraksi dengan protein membran sel melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen dengan cara terikat pada bagian hidrofilik dari membran sel. Kompleks protein-senyawa fenolik terbentuk dengan ikatan yang lemah, sehingga akan segera mengalami peruraian kemudian diikuti penetrasi senyawa fenolik ke dalam membran sel yang menyebabkan presipitasi dan terdenaturasinya protein membran sel. Kerusakan pada membran sel menyebabkan perubahan permeabilitas pada membran, sehingga mengakibatkan lisisnya membran sel jamur.(Setyowati et al,2012).

pada ekstrak etanol kelopak bunga Rosella ini juga memiliki aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans* terdapat yang terdapat kandungan saponin yang mekanisme penghambatannya dengan merusak membran sel. Saponin merupakan senyawa aktif yang dapat membunuh jamur *Candida albicans*. Mekanisme kerja saponin dapat mengakibatkan turunnya tegangan permukaan sehingga pertumbuhan jamur terhambat .(Fathoni et al,2012)dari beberapa kandungan ekstrak kelopak bunga Rosella tersebut efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans.*

Keunggulan dalam penggunaan ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*adalah kandungan antioksidan, antibakteri dan antijamur sehingga mempercepat penghambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans.* Akan tetapi pada penelitian ini, terdapat beberapa hal yang perlu diperhatikan, yaitu masih belum diketahui zat aktif mana yang paling utama memiliki aktivitas antijamur terbesar pada jamur *Candida albicans*. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara in vivo untuk mengetahui dosis efektif, dosis toksik dan efek samping, serta penelitian terhadap manusia. Pada bidang kedokteran gigi, perlu dilakukan pula penelitian lebih lanjut supaya kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dapat diaplikasikan sebagai alternatif pengobatan kandidiasis pada rongga mulut.

BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*dapat menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara *in vitro*.
2. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak kelopak bunga Rosellla, maka semakin efektif dalam penghambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans.*
3. Kadar Hambat Minimal (KHM) dalam penelitian ini tidak dapat ditentukan karena sebelum maupun sesudah diinkubasi tetap keruh sehingga tidak dapat diinterpretasikan KHM-nya.
4. Kadar Bunuh Minimal (KBM) ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* dalam menghambat koloni *Candida albicans* adalah pada konsentrasi 16%.

7.2 Saran

Dari hasil penelitian ini perlu dilakukan beberapa hal berikut:

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam pemisahan kandungan yang efektif dalam kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*yang berpengaruhi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut secara in vivo untuk mengetahui dosis efektif, dosis toksik dan efek samping dari ekstrak kelopak bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)*.

DAFTAR PUSTAKA

Agrina D.2010. *Bunga Rosela.http://www.naturindonesia.com/bunga-rosela.html.* (Diakses pada 25 september 2014)

BPOM RI. (2010). Serial Data Ilmiah Terkini Tumbuhan Obat : Rosela (Hibiscus sabdariffa L). Jakarta : Direktorat Obat Asli Indonesia Badan POM RI

Ali, B.H., Naser, A.W., Gerald, B. 2005. Phytochemical, Pharmacological andToxicologi Aspects of Hibiscus sabdariffa L : A. Review.Phytotherapy Research19: 369-375.

Direktorat OAI BPOM RI.2010. Serial data ilmiah terkini tanaman obat rosella (Hibiscus sabdiffa L). Jakarta: Badan POM RI;.Hal.1-4,10.

Dzen,SM,Roekistiningsih,Santoso,Winarsih.2003.*bakteriologymedik*.malang.banyumedia publishing.

Effendy Laydiana,2013.'' POTENSI ANTIJAMUR KOMBINASI EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (Piper crocatum Ruiz & Pav.) DAN KELOPAK BUNGA ROSELLA (Hibiscus sabdariffa Linn.) TERHADAP *Candida albicans*'' http://journal.ubaya.ac.id/index.php/jimus/article/view/196/171 (diakses pada tanggal 4 februari 2015).

Fereira .2012. Mikrobilogi Pangan, Departemen Pendidikan dan Kebudayaan direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Bogor

Golding,2010. from:URL:http://www.antiangingdoctor.co.za/p=67. *Candida albicans* 29, (diakses pada 15 september 2014)

Hoetelmans Richard. 2000.PK-Pdrelationships for antiretroviral drugs. http://www.fda.gov/ohrms/dockets/ac/00/slides/3621s1d/sld036.htm(Diakses pada tanggal 9 oktober 2014)

Ifield C,2010. *Candida albicans*. Available from:URL:http://www.sydneywellbeing.com/candida-albicans-research.html. (diakses pada 20 september 2014).

Jupriadi, Lalu. 2011. *Uji aktivitas Ekstrak Etanol Daun Waru (Hibiscus tilaceus L) terhadap jamur malassezia furfal.USA http://perpusnwu.web.id/karyailmiah/shared/biblio_view.php?resource_id=2251&tab=opac.* (diakses pada 14 September 2014)

Joseph A Regezi, James J Sciubba, Richardc K Jordan. 2003. *Oral Pathology Clinical Phatologic Correlations. USA,Edition fourt.*

Farmakologi FK UNSRI. 2008. ‘’Kumpulan Kuliah Farmakologi”.Edisi.2. Jakarta : EGC.ISBN 978.

Maryani, Herti.2005*. Khasiat Dan Manfaat Rosella*. Jakarta:Agromedia Pustaka hal 3-33.

Ahamd Fathoni,Rika Widyapranata ,Kartinah W. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.

Notobroto, BH. 2005. *Penelitian Experimental Dalam Materi Praktikum TeknikSampling dan Penghitungan Besar Sampling Angkatan III.* http:/*mediakesehatanmasyarakat.files.wordpress.com/.../artikel-kelima-tuti.pdf* (Diakses pada tanggal 15 september 2014)

pau, L. T.; Salmah, Y.; Suhaila, M. (2002). "Antioxidative properties of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in linoleic acid model system". *Nutrition & Food Science***32** (1): 17–20.

Risma,Fariza.2014.''*pengaruh ekstrak rimpang temu kunci (Boesenbergia pandurata (Roxb.) Schlech)sebagai antibakteri terhadap bakteri Streptococcus pyogenes.repository.fkub.ac.id/handle/123456789/165/browse?.com* (diakses 21 januari 2014)

Rao,Prasanna Kumar.2012.*Oral candidiasis: A Review*.Yenepoya University. http://scholarly-ournals.com/sjm/archive/2012/February/pdf/Rao.pdf. (diakses pada 14 September 2014)

Ratnasari ashri,Wahjuni Widajati, Nike Hendrijantini .2013 ''Efek Seduhan Bunga Rosella dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans* Pada Resin Akrilik. https://www.academia.edu/4860944/Efek_Seduhan_Bunga_Rosella_dalam_Menghambat_Pertumbuhan_Candida_albicans_Pada_Resin_Akrilik_The_Effect_of_Roselle_Flower_Infusion_in_Inhibiting_Candida_albicans_Colonization_on_Acrylic_Resin_(diakses pada tanggal 9 oktober 2014)

Ross IA.2003.*Medical plants og the world*. 2 ed. New Jersey: Humana Press Inc;.p.267-269.

Rhodes S. 2007. *The Common Candida Yeast Infection*. http://www/ourhealth.com.au/2007/07/candida-yeast-infection.html.(diakses pada 4 November 2010)

Sari, Sisca Hermawati Puspita. 2012 .*Efek Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper Betle L.) Pada Laju Endap Darah (Led) Model Hewan Coba Tikus Wistar Jantan Yang Dipapar Candida albicans Secara Intrakutan (Penelitian Eksperimental Laboratoris).http://repository.unej.ac.id/handle/123456789/4664.*(diakses pada 13 September 2014)

Setyowati Hanny, Hananun Zharfa Hanifah, Rr Putri Nugraheni, Wahyuning Setyani. 2012. KRIM KULIT BUAH DURIAN (*Durio Zibethinus L.*) SEBAGAI OBAT HERBAL PENGOBATAN INFEKSI JAMUR *Candida albicans" Media Farmasi Indonesia Vol 8 No 2*.

Simatupang,Maria Magdalena.2009.*Candida albicans.http://repository.usu.ac.id/candidaalbicans/handle.pdf.* (diakses pada 13 september 2014)

Sudiono, Janti.2001.Peran *Candida albicans*di dalam rongga mulut. MI.Ked Gi.FKG Universitas Trisakti. juni 2001. http://ml.scribd.com/doc/154030832/SKRIPSI-PENGARUH-KONSENTRASI-EKSRAK-KELOPAK-BUNGA-ROSELLA-HIBISCUS-SABDARIFFA-L-TERHADAP-KOLONI-pdf. (diakses pada 13 September 2014)

Tanjong, Asviana. 2011.*Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus safdariffa L) Terhadap Koloni Candida albicans Yang Terdapat Pada Plat Gigi Tiruan.* http:/*repository.unhas.ac.id/.../SKRIPSI%20PENGARUH%20KONSENTRASIEKSTRAKBUNGAROSELLA.pd(diakses pada 26 september 2014)*.

Tjampakasari, C.R,2006. Karakteristik *Candida albicans*. Cermin Dunia Kedokteran No.151,2006.http://adln.lib.unair.ac.id/files/disk1/534/gdlhub-gdl-s1-2013-pradnyadan-26668-18.dafta-a.pdf (diakses pada 13 September 2014)

Yulian, Anggadaria Iqbal. 2007. *Uji Banding Efektivitas Virgin Coconut Oil Dengan Ketokonazol 2% In Vitro Terhadap Pertumbuhan Candida albicans.* Semarang http://eprints.undip.ac.id/22366/1/anggradia.pdf *(diakses pada 25 september 2014)*

Zuhrotun, Ade.2009.*Pemanfaatan Ekstrak Air Kelopak Bunga Rosella (Hibiscus safdariffa L) Asal Kab.Bandung Barat Sebagai Anti Infeksi Terhadap Bakteri Sthapylococcus*.http://pustaka.unpad.ac.id/wpcontent/uploads/2011/09/pustaka_unpad_pemanfaatan_-ekstrak_-air-_kelopak_-bunga_-rosella.pdf.(diakses pada 15 september 2014)

LAMPIRAN I

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertandatangan dibawah ini:

Nama : Raja abrida wanty

N I M : 105070407111016

Program Studi : Pendidikan Dokter Gigi

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir saya dengan judul:

Pengaruh Ekstrak Kelopak Bunga Rosella *(Hibiscus safdariffa L)* Dalam Menghambat Pertumbuhan Koloni *Candida albicans*Secara In Vitro.

benar-benar hasil karya saya sendiri dan bukan pengambil-alihan dari tulisan atau pikiran orang lain.

Malang, 20 januari 2015

Yang membuat pernyataan,

Raja Abrida Wanty

NIM.105070407111016

LAMPIRAN II

EKSTRAKSI KELOPAK BUNGA ROSELLA

LAMPIRAN III

PERHITUNGAN KOLONI JAMUR*Candida albicans*

LAMPIRAN IV

HASIL PERHITUNGAN STATISTIK

Uji Normalitas

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona_Hambat
N		28
Normal Parameters [a,b]	Mean	74.93
	Std. Deviation	143.289
Most Extreme Differences	Absolute	.371
	Positive	.371
	Negative	-.301
Kolmogorov-Smirnov Z		.763
Asymp. Sig. (2-tailed)		.606

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Correlations

Correlations

		Konsentrasi	Zona_Hambat
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.853**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
Zona_Hambat	Pearson Correlation	-.853**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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

Regression

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.853[a]	.727	.717	76.235

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

ANOVA[b]

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	403246.8	1	403246.777	69.384	.000[a]
	Residual	151107.1	26	5811.811		
	Total	554353.9	27			

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

b. Dependent Variable: Zona_Hambat

Coefficients[a]

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients		
		B	Std. Error	Beta	t	Sig.
1	(Constant)	302.063	30.840		9.795	.000
	Konsentrasi	-24.090	2.892	-.853	-8.330	.000

a. Dependent Variable: Zona_Hambat

Oneway

Descriptives

Zona_Hambat

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	4	412.00	.000	.000	412.00	412.00	412	412
6%	4	88.50	10.214	5.107	72.25	104.75	79	103
8%	4	11.50	4.655	2.327	4.09	18.91	6	17
10%	4	6.50	2.646	1.323	2.29	10.71	3	9
12%	4	5.75	2.500	1.250	1.77	9.73	3	9
14%	4	.25	.500	.250	-.55	1.05	0	1
16%	4	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Total	28	74.93	143.289	27.079	19.37	130.49	0	412

Test of Homogeneity of Variances

Zona_Hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.567	6	21	.206

ANOVA

Zona_Hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	553935.4	6	92322.560	4632.673	.000
Within Groups	418.500	21	19.929		
Total	554353.9	27			

Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Zona_Hambat

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	6%	323.500*	3.157	.000	313.24	333.76
	8%	400.500*	3.157	.000	390.24	410.76
	10%	405.500*	3.157	.000	395.24	415.76
	12%	406.250*	3.157	.000	395.99	416.51
	14%	411.750*	3.157	.000	401.49	422.01
	16%	412.000*	3.157	.000	401.74	422.26
6%	0%	-323.500*	3.157	.000	-333.76	-313.24
	8%	77.000*	3.157	.000	66.74	87.26
	10%	82.000*	3.157	.000	71.74	92.26
	12%	82.750*	3.157	.000	72.49	93.01
	14%	88.250*	3.157	.000	77.99	98.51
	16%	88.500*	3.157	.000	78.24	98.76
8%	0%	-400.500*	3.157	.000	-410.76	-390.24
	6%	-77.000*	3.157	.000	-87.26	-66.74
	10%	5.000	3.157	.693	-5.26	15.26
	12%	5.750	3.157	.549	-4.51	16.01
	14%	11.250*	3.157	.026	.99	21.51
	16%	11.500*	3.157	.022	1.24	21.76
10%	0%	-405.500*	3.157	.000	-415.76	-395.24
	6%	-82.000*	3.157	.000	-92.26	-71.74
	8%	-5.000	3.157	.693	-15.26	5.26
	12%	.750	3.157	1.000	-9.51	11.01
	14%	6.250	3.157	.455	-4.01	16.51
	16%	6.500	3.157	.410	-3.76	16.76
12%	0%	-406.250*	3.157	.000	-416.51	-395.99
	6%	-82.750*	3.157	.000	-93.01	-72.49
	8%	-5.750	3.157	.549	-16.01	4.51
	10%	-.750	3.157	1.000	-11.01	9.51
	14%	5.500	3.157	.597	-4.76	15.76
	16%	5.750	3.157	.549	-4.51	16.01
14%	0%	-411.750*	3.157	.000	-422.01	-401.49
	6%	-88.250*	3.157	.000	-98.51	-77.99
	8%	-11.250*	3.157	.026	-21.51	-.99
	10%	-6.250	3.157	.455	-16.51	4.01
	12%	-5.500	3.157	.597	-15.76	4.76
	16%	.250	3.157	1.000	-10.01	10.51
16%	0%	-412.000*	3.157	.000	-422.26	-401.74
	6%	-88.500*	3.157	.000	-98.76	-78.24
	8%	-11.500*	3.157	.022	-21.76	-1.24
	10%	-6.500	3.157	.410	-16.76	3.76
	12%	-5.750	3.157	.549	-16.01	4.51
	14%	-.250	3.157	1.000	-10.51	10.01

*. The mean difference is significant at the .05 level.

Homogeneous Subsets

Zona_Hambat

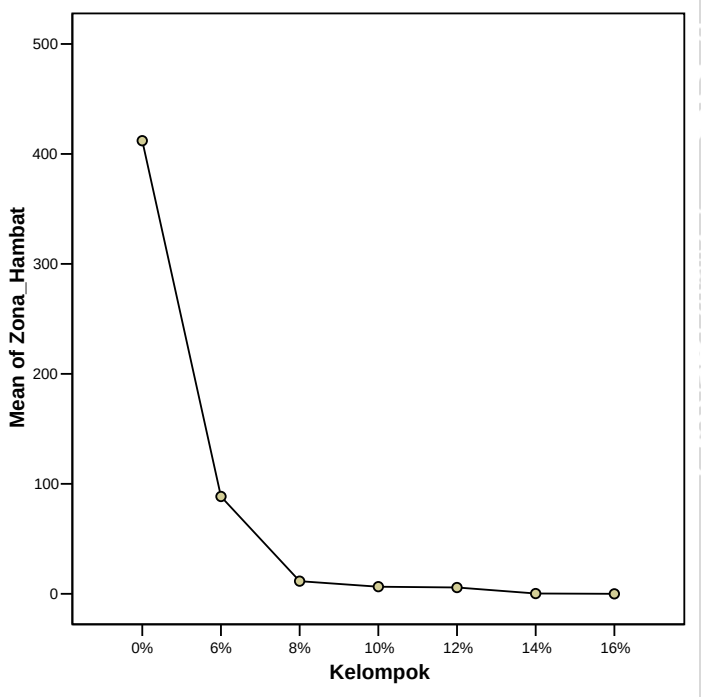
Tukey HSD[a]

Kelompok	N	Subset for alpha = .05			
		1	2	3	4
16%	4	.00			
14%	4	.25			
12%	4	5.75	5.75		
10%	4	6.50	6.50		
8%	4		11.50		
6%	4			88.50	
0%	4				412.00
Sig.		.410	.549	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Means Plots



LAMPIRAN V

DETERMINASI TUMBUHAN