

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

2.1.1 Taksonomi

Taksonomi dari *C. albicans* (Dignani, *et al.*, 2009) :

Kingdom : *Fungi*

Pylum : *Ascomycota*

Subphylum : *Ascomycotina*

Class : *Ascomycetes*

Ordo : *Saccharomycetales*

Familia : *Saccharomycetaceae*

Genus : *Candida*

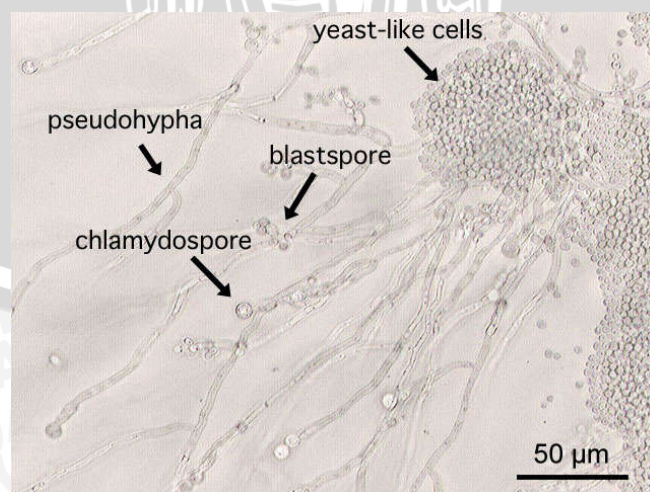
Spesies : *C. albicans*

2.1.2 Morfologi

Pada sediaan apus eksudat, *Candida* tampak sebagai ragi lonjong, bertunas, gram-positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm , dan sel-sel bertunas, gram-positif, yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa) (Brook, *et al.*, 2007). Pada agar Subouraud yang diinkubasikan pada suhu kamar, berbentuk koloni-koloni lunak berwarna coklat yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan terdiri atas sel-sel bertunas lonjong. Pertumbuhan di bawahnya terdiri atas pseudomiselium. Ini terdiri atas pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada nodus-nodus dan kadang-kadang

klamidokonidia pada ujung-ujungnya. *C. albicans* meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas; asam dari sukrosa; dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini, bersama dengan sifat-sifat koloni dan morfologi, membedakan *C. albicans* dari spesies *Candida* lainnya. *C. albicans* jauh lebih sering terjadi daripada spesies *Candida* lain dalam menyebabkan infeksi yang simtomatik (Jawetz, *et al.*, 2010).

C. albicans mempunyai tiga bentuk morfologi yaitu pertama *yeast like cells*, yang terlihat sebagai kumpulan sel berbentuk bulat atau oval dengan ukuran lebar 2-8 μm dan panjang 3-4 μm , diameter 1,5-5 μm . Sel-sel tersebut dapat membentuk *blastospore (budding cell)*. Bentuk kedua adalah *pseudohifa*, hal ini karena *blastospore* tidak lepas dan terus bersambung membentuk tunas baru. Bentuk yang ketiga adalah *chlamydospore*, yang terbentuk jika *C. albicans* dikultur pada medium yang kurang nutrisi seperti *corn meal agar*. Bentuk *pseudohifa* lebih virulen daripada *blastospore* karena *pseudohifa* berukuran lebih besar sehingga lebih sulit difagositosis oleh makrofag (Tjampakasari, 2006).



Gambar 2.1 Morfologi *C. albicans* Secara Mikroskopis dengan Perbesaran 200x (Makimura, 2002)

2.1.3 Identifikasi dan Biakan

C. albicans dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Pada kondisi anaerob, *C. albicans* mempunyai waktu generasi yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Walaupun *C. albicans* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan pertumbuhan lebih tinggi pada media cair dengan digoyang pada suhu 37°C. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali. Kemampuan *C. albicans* untuk tumbuh baik pada suhu 37°C memungkinkannya untuk tumbuh pada sel hewan dan manusia. Sedangkan bentuknya yang dapat berubah, bentuk khamir dan filament, sangat berperan dalam proses infeksi ke tubuh inang (Kusumaningtyas, 2013).

Semua specimen dibiakkan pada medium fungi atau bakteriologi. Koloni ragi diperiksa untuk melihat adanya pseudohifa. *C. albicans* diidentifikasi melalui produksi tubulus germinal atau klamidospora. Isolat kandida lain ditentukan spesiesnya melalui beberapa reaksi biokimia. Interpretasi biakan positif bervariasi sesuai specimen. Biakan positif dari daerah tubuh yang normalnya steril bersifat signifikan. Nilai diagnostik biakan urine kuantitatif bergantung pada kebutuhan specimen dan jumlah ragi. Kateter Foley yang terkontaminasi dapat menyebabkan biakan urine "positif palsu". Biakan darah positif dapat menunjukkan kandidiasis sistemik atau kandidemia transien yang disebabkan oleh jalur intravena yang terkontaminasi. Biakan sputum tidak bernilai karena spesies kandida

merupakan bagian flora oral. Biakan lesi kulit merupakan cara konfirmasi (Brook, *et al.*, 2007).

2.1.4 Struktur Fisik

C. albicans memiliki beberapa struktur fisik, antara lain sebagai berikut:

- Dinding sel *C. albicans* terdiri dari enam lapisan dari luar ke dalam adalah fribillar layer, mannoprotein, β -glucan, β -glucan-chitin, mannoprotein dan membran plasma (Kusumaningtyas, 2013). Dinding sel *C. albicans* memiliki komposisi primer diantaranya glukana, mannoprotein, dan khitin. Bagian ini berfungsi melindungi sel ragi dari lingkungannya dan memberi bentuk pada sel-sel ragi. Dinding selnya ikut berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Sekitar 80-90% dinding sel *C. albicans* terdiri dari karbohidrat dan beberapa komposisi lainnya seperti glukana, manan, dan khitin (Seydel dan Wiese, 2009).

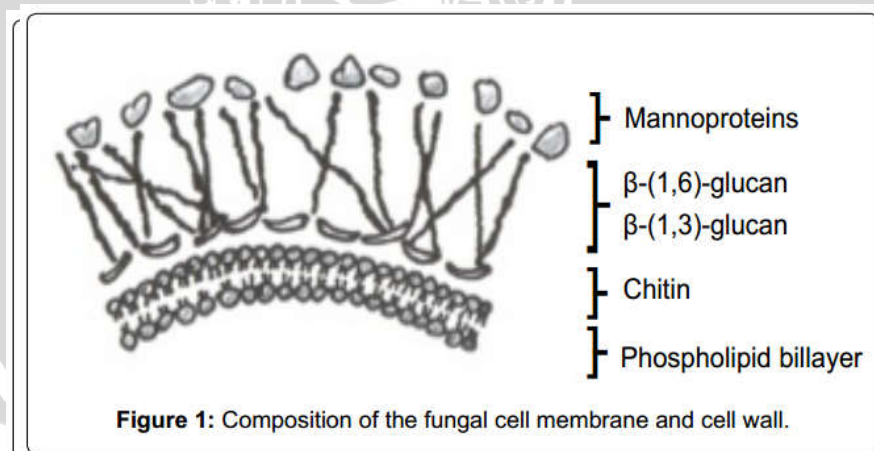


Figure 1: Composition of the fungal cell membrane and cell wall.

Gambar 2.2 Susunan membran sel dan dinding sel jamur (Freiesleben dan Jager, 2014)

- Membran sel, bagian ini terdiri dari dua lapisan fosfolipid yang berfungsi melindungi sitoplasma dan mengatur transport molekul sel. Pada membran sel terdapat membran sterol yang memiliki peranan penting sebagai tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Seydel dan Wiese, 2009).
- Mitokondria, merupakan pembangkit daya sel dan organel ini berfungsi memproduksi ATP dengan menggunakan energi yang didapat dari penggabungan oksigen dengan molekul-molekul makanan (Tjampaksari, 2006).
- Vakuola, bagian ini berfungsi sebagai tempat penyimpanan lipid dan juga berperan dalam sistem pencernaan sel (Tjampaksari, 2006).
- Nukleus, merupakan organel yang paling menonjol di dalam sel dan berfungsi sebagai tempat penyimpanan DNA kromosom yang terlindungi dalam serat-serat kromatin (Tjampaksari, 2006).

2.1.5 Struktur Antigen

Tes aglutinasi dengan serum yang terabsorpsi menunjukkan bahwa semua strain *C. albicans* termasuk dalam dua kelompok besar serologik, A dan B. Ekstrak *Candida* untuk tes serologik dan kulit tampaknya terdiri atas campuran antigen. Antibodi ini dapat diketahui melalui presipitasi, imunodifusi, imunoelektroforesis balik, aglutinasi lateks, dan tes-tes lainnya, tetapi pengenalan antibodi sirkulasi ini tidak terlalu membantu dalam mendiagnosis penyakit akibat *Candida* (Brooks, *et al.*, 2007).

2.1.6 Patogenesis

Mekanisme infeksi *C. albicans* sangat kompleks termasuk adhesi dan invasi, perubahan morfologi dan bentuk sel *khamir* ke bentuk *filament (hifa)* sebagai upaya infeksi dan penyebaran, pembentukan biofilm untuk mempertahankan diri dan sebagai salah satu faktor resistensi serta penghindaran dari sel-sel imunitas inang (Kusumaningtyas, 2007).

Kandidiasis superfisial (kutan atau mukosa) terjadi melalui peningkatan jumlah kandida lokal dan adanya kerusakan pada kulit atau epitel yang memungkinkan sistemik terjadi ketika kandida masuk ke aliran darah dan pertahanan pejamu fagositik tidak adekuat untuk menahan pertumbuhan dan penyebaran ragi. Dari sirkulasi, kandida dapat menginfeksi ginjal, melekat pada katup jantung prostetik, atau menimbulkan infeksi kandida hampir di semua tempat (missal, arthritis, meningitis, endoftalmitis).

Histologi lokal lesi kutan atau mukokutan ditandai dengan reaksi radang yang bervariasi dari abses piogenik sampai granuloma kronik. Lesi ini mengandung banyak sel ragi tunas dan pseudohifa. Bertambahnya kandida dalam jumlah besar di dalam saluran cerna sering terjadi setelah pemberian antibiotik antibakteri secara oral dan ragi dapat masuk ke dalam sirkulasi dengan melewati mukosa usus (Brooks, 2007).

Tahap pertama dalam proses infeksi ke tubuh hewan atau manusia adalah perlekatan (adhesi). Kemampuan melekat pada sel inang merupakan tahap penting dalam kolonisasi dan penyerangan (invasi) ke sel inang. Bagian pertama dari *C.albicans* yang berinteraksi dengan sel inang adalah

dinding sel. Perlekatan lapisan dinding sel dengan sel inang terjadi karena mekanisme kombinasi spesifik (interaksi antara ligand dan reseptor) dan non-spesifik (kutub elektrostatik dan ikatan *van der Waals*) yang kemudian menyebabkan serangan *C. albicans* ke berbagai jenis permukaan jaringan. Faktor lain yang mempengaruhi interaksi *C. albicans* dengan sel inang adalah hidrofobisitas pada awal perlekatan. Diduga protein pada dinding sel terlibat dalam perubahan hidrofobisitas permukaan sel dengan melepaskan *glukanase digestion* dalam jumlah tertentu. Interaksi sel-sel *C. albicans* dengan sel inang juga melibatkan fisikomekanik, fisikokimia, dan enzimatis materi mikroba serta interaksi mikro yang mengarah pada kolonisasi dan infeksi seperti perubahan medan magnet pada permukaan sel yang berinteraksi yang menyebabkan sel-sel saling melekat (Kusumaningtyas, 2013).

Ada tiga macam interaksi yang mungkin terjadi antara sel *Candida* dan sel epitel inang yaitu interaksi protein-protein (i) interaksi *lectin-like* (ii) dan interaksi yang belum diketahui (iii). Interaksi protein-protein terjadi ketika protein pada permukaan *C. albicans* mengenali ligand protein atau peptida pada sel epitelium atau endothelium. Interaksi *lectin-like* adalah interaksi ketika protein pada permukaan *C. albicans* mengenali karbohidrat pada sel epitelium atau endothelium. Interaksi yang ketiga adalah ketika komponen *C. albicans* menyerang ligand permukaan epitelium atau endothelium tetapi komponen dan mekanismenya belum diketahui dengan pasti. Mekanisme perlekatan sendiri sangat dipengaruhi oleh keadaan sel tempat dinding sel *C.*

albicans melekat, mekanisme invasi ke dalam mukosa dan sel epitelium serta reaksi adhesi tertentu yang mempengaruhi kolonisasi dan patogenitas *C. albicans* (Kusumaningtyas, 2013).

Perlekatan dan kontak fisik antara *C. albicans* dan sel inang selanjutnya mengaktifasi *mitogen activated protein kinase (Map-kinase)*. Protein kinase tersebut merupakan bagian dari jalur integritas yang diaktivasi oleh stress pada dinding sel (tempat *C. albicans* dan sel host melakukan kontak). *Map-kinase* juga diperlukan untuk pertumbuhan hifa invasif dan perkembangan biofilm pada tahap selanjutnya (Kusumaningtyas, 2013).

Biofilm merupakan koloni mikroba (biasanya penyebab suatu penyakit) yang membentuk matrik polimer organik yang dapat digunakan sebagai penanda pertumbuhan mikroba. Biofilm tersebut dapat berfungsi sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk biofilm biasanya mempunyai resistensi terhadap antimikroba biasa atau menghindar dari sistem kekebalan sel inang. Berkembangnya biofilm biasanya seiring dengan bertambahnya infeksi klinis pada sel inang sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi. Pembentukan biofilm dapat dipacu dengan keberadaan serum dan saliva dalam lingkungannya (Kusumaningtyas, 2013).

2.1.7 Manifestasi Klinik

Infeksi *C albicans* dapat menyebabkan infeksi oportunistik terutama pada penderita yang sistem imunnya menurun. Terjadinya infeksi sering

ditandai dengan adanya inflamasi akut sebagai respon dari neutrophil. Kandidiasis dapat hidup sebagai saprofit atau parasit yang terdapat dalam system pencernaan, mulut, saluran kemih, dan vagina (Siregar, 2005).

Faktor risiko yang terkait dengan kandidiasis superfisial antara lain AIDS, kehamilan, diabetes, usia muda atau tua, pil KB, dan trauma (luka bakar, maserasi kulit). Invasi ragi ke mukosa vagina menyebabkan vulvovaginitis, yang ditandai dengan iritasi, pruritus, dan duh vagina. Keadaan tersebut sering didahului oleh faktor seperti diabetes, kehamilan atau obat antibakteri yang mengubah flora mikroba, keasaman lokal, atau sekresi (Brook, *et al*, 2007).

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

1. Kandidiasis vulvovaginal tanpa penyulit (*uncomplicated*)
 - a. Terjadinya tidak sering atau sporadic, atau
 - b. Terjadinya ringan sampai sedang, atau
 - c. Terjadi pada wanita nonimunokompromis
2. Kandidiasis vulvovaginal dengan penyulit (*complicated*)
 - a. Terjadi berulang, pasien yang terkena gejala simtomatik kandidiasis vulvovaginal empat kali atau lebih dalam satu tahun oleh karena faktor predisposisi, atau
 - b. Terjadinya berat (vulva eritema luas, edema, dan terbentuk fisura), atau

- c. Terjadinya pada wanita dengan diabetes tidak terkontrol, immunosupresif (mendapat kortikosteroid jangka lama dan pasien HIV/AIDS) atau hamil.

2.2 Tumbuhan Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)

Pandan wangi adalah jenis tumbuhan monokotil dari family Pandanaceae yang memiliki daun beraroma wangi yang khas. Daunnya merupakan komponen penting dalam tradisi masakan Indonesia dan Negara-negara Asia Tenggara lainnya. Daun pandan telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai pewarna dan pemberi aroma khas pandan pada beberapa produk pangan siap santap, seperti pada beberapa jenis minuman dan makanan ringan dan juga ditambahkan saat menanak nasi sehingga memberikan aroma khas Pandan wangi (Murhadi, *et al.*, 2007)

2.2.1 Taksonomi

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i>
Kelas	: <i>Liliopsida</i>
Ordo	: <i>Pandanales</i>
Famili	: <i>Pandanaceae</i>
Genus	: <i>Pandanus</i>
Spesies	: <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb. (Margaretta <i>et al.</i> , 2011)



Gambar 2.3 Tumbuhan Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.)
(Sukandar, *et al.*, 2007)

2.2.2 Karakteristik dan Morfologi

Pandanus umumnya merupakan pohon atau semak yang tegak, tinggi 3-7 m, bercabang, kadang-kadang batang berduri, dengan akar tunjang sekitar pangkal batang. Daun umumnya besar, panjang 2 – 3 m, lebar 8 – 12, ujung daun segitiga lancip, tepi daun dan ibu tuang daun bagian bawah berduri, tekstur daun berlinin, berwarna hijau muda-hijau tua. Bunga jantan dan betina terdapat pada tumbuhan yang berbeda. Buah letaknya terminal atau lateral, soliter atau berbentuk bulir atau malai yang besar (Rahayu dan Handayani, 2008)

2.2.3 Persebaran Tanaman

Tanaman Pandan wangi dapat dengan mudah dijumpai di daerah tropis dan banyak ditanam di halaman, di kebun, di pekarangan rumah maupun tumbuh secara liar di tepi-tepi selokan yang teduh. Selain itu, tumbuhan ini dapat tumbuh liar tumbuh liar ditepi sungai, rawa, dan tempat-

tempat lain yang tanahnya agak lembab dan dapat tumbuh subur dari daerah pantai sampai di daerah dengan ketinggian 500 meter dpl (di bawah permukaan laut) (Dalimartha, 2001).

2.2.4 Manfaat

Daun Pandan wangi telah banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia sebagai pewarna dan pemberi aroma khas pandan pada beberapa produk pangan siap santap seperti beberapa jenis minuman dan makanan ringan, juga ditambahkan pada saat menanak nasi sehingga memberikan aroma yang khas (Murhadi, *et al.*, 2007). Pandan wangi selain sebagai rempah-rempah, juga digunakan sebagai bahan baku pembuatan minyak wangi (Rahayu dan Handayani, 2008). Pandan wangi juga berkhasiat untuk menghitamkan rambut, menghilangkan ketombe, rambut rontok, lemah saraf, tidak nafsu makan, rematik, sakit disertai gelisah, serta pegal linu (Dalimartha, 2001).

2.2.5 Kandungan Kimia

Kandungan yang terdapat dalam Pandan wangi diantaranya alkaloida, saponin, flavonoid, tanin, polivenol, dan zat warna diduga memiliki kontribusi terhadap aktivitas antibakteri (Arisandi dan Andriani, 2008).

2.2.5.1 Alkaloid

Alkaloid adalah senyawa-senyawa organik yang bersifat basa dan struktur kimianya mempunyai system lingkaran heterosiklis dengan nitrogen sebagai hetero atomnya. Unsur-unsur penyusun alkaloid adalah karbon,

hydrogen, nitrogen, dan oksigen. Adanya nitrogen dalam lingkaran pada struktur kimia alkaloid menyebabkan alkaloid bersifat alkali (Sumardjo, 2009).

Alkaloid memiliki kerja yang hampir sama dengan saponin (Arief, *et al.*, 2009). Alkaloid dapat mempengaruhi komponen sel jamur yaitu menghambat pertumbuhan jamur dengan cara merusak membrane sel, menyebabkan enzim aktif, yang akan mengakibatkan denaturasi protein dan mengurangi tekanan permukaan sel. Alkaloid juga menyebabkan perubahan permeabilitas membrane sel sehingga terjadi agregasi membran sel yang menyebabkan membrane sel lisis dan mati (Jawetz, *et al.*, 2005).

2.2.5.2 Tanin

Tanin merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada tanaman dan disintesis oleh tanaman. Tanin tergolong senyawa fenolik dengan karakteristiknya yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan makromolekul lainnya. Tanin dibagi menjadi dua kelompok yaitu tanin yang mudah terhidrolisis dan tanin terkondensasi. Tanin yang mudah terhidrolisis merupakan polimer *gallic* atau *ellagic acid* yang berikatan ester dengan sebuah molekul gula, sedangkan tanin terkondensasi merupakan polimer senyawa flavonoid dengan ikatan karbon-karbon. Tanin dapat berikatan dengan dinding sel mikroorganisme dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme atau aktivitas enzim (Jayanegara dan Sofyan, 2008).

Tanin memiliki efek antifungi karena kemampuannya menghambat sintesis chitin yang merupakan komponen penting pada pembentukan

dinding sel jamur (Huang, *et al.*, 2008). Terjadinya kerusakan pada dinding sel fungi menyebabkan kerusakan membran sel yaitu hilangnya sifat permeabilitas membrane sel sehingga keluar masuknya zat-zat antara lain air, nutrisi, enzim-enzim tidak terseleksi. Apabila enzim keluar dari dalam sel, maka akan terjadi hambatan metabolisme sel dan selanjutnya akan mengakibatkan terhambatnya pembentukan ATP yang diperlukan untuk pertumbuhan dan perkembangan sel. Bila hal ini terjadi maka akan terjadi kematian fungi (Hayati, *et al.*, 2010).

2.2.5.3 Saponin

Saponin mempunyai toksisitas yang tinggi terhadap fungi. Mekanisme utama aktivitas antifungal dari saponin adalah interaksinya dengan membran sterol. Saponin yang berikatan dengan sterol pada membran akan membentuk agregasi. Agregasi ini menimbulkan pembentukan lubang pada membran atau mengekstrak sterol pada membran dengan membentuk kompleks tubular atau bulat di luar membran (Chandra, 2010).

2.2.5.4 Flavonoid

Efek flavonoid terhadap macam-macam organisme sangat banyak macamnya dan dapat menjelaskan mengapa tumbuhan yang mengandung flavonoid dipakai dalam pengobatan tradisional. Flavonoid merupakan pereduksi yang baik karena menghambat banyak reaksi oksidasi, baik secara enzim maupun non enzim (Robinson, 1995). Flavonoid memiliki efek antifungi dengan mendenaturasi ikatan protein pada membran sel sehingga membrane sel menjadi lisis dan kemungkinan dapat menembus kedalam inti

sel (Sulistiyawati dan Mulyani, 2009). Sebagai zat antimikroba, flavonoid juga memiliki efek yaitu dapat meracuni protoplasma, merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel mikroba (Rahmawati dkk, 2012).

Golongan flavonoid *apigenin* dan *quercetrin* memiliki mekanisme inhibisi pertumbuhan jamur dengan cara meningkatkan permeabilitas membrane sel. Peningkatan permeabilitas sel menyebabkan kebocoran sel yang kemudian diikuti kematian sel-sel jamur. Kedua zat tersebut juga diduga menghambat aktivitas membran-membran sitoplasma dan menurunkan aktivitas enzim ATPase yang membuat sintesis DNA menjadi terhambat (Cushnie dan Lamb, 2005).

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi adalah kegiatan penarikan kandungan kimia yang dapat larut sehingga terpisah dari bahan yang tidak dapat larut dengan pelarut cair. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan ke dalam golongan minyak atsiri, alkaloid, flavonoid, dan lain-lain. Dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia akan mempermudah pemilihan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat.

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 2000).

Metode ekstraksi dengan menggunakan pelarut ada beberapa cara yaitu:

1) Cara Dingin

a. Maserasi

Proses penyarian simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperature ruang (kamar). Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk kedalam rongga sel yang mengandung zat aktif yang larut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif didalam dan diluar sel. Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, methanol, etanol-air, atau pelarut lainnya. Maserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut setelah dilakukan penyaringan maserat pertama dan seterusnya.

Metode ini metode yang baik digunakan untuk penyarian zat mudah larut dalam cairan penyari, pengerjaannya mudah, peralatan yang digunakan sederhana, jumlah sampel banyak, tidak memerlukan pemanasan dan perlakuan yang khusus serta dapat menghindari terjadinya penguraian zat aktif dalam sampel akibat pengaruh suhu yang terlalu tinggi.

b. Perkolasi

Cara penyarian yang dilakukan dengan mengalirkan cairan penyari melalui serbuk simplisia yang telah dibasahi. Proses perkolasi dimulai dari penampungan ekstrak secara terus menerus sampai diperoleh seluruh ekstrak.

2) Cara Panas

a. Refluks

Ekstraksi dengan pelarut pada temperature titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relative konstan dengan adanya pendingin balik.

b. Sokletasi

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik

c. Digesti

Maserasi kinetic (dengan pengadukan secara berkelanjutan) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperature ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50°C.

d. Infussion

Merupakan proses penyarian yang digunakan untuk menyari zat aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Infundasi dilakukan dengan cara mencampur serbuk dengan air secukupnya dalam sebuah panic kemudian dipanaskan dengan pemanas air selama 15 menit yang dihitung mulai dari suhu didalam panic mencapai 90°C sambil berkali-kali diaduk. Infusa diserukai sewaktu masih panas dengan menggunakan kain flannel.

e. Dekok

Dekok adalah infuse pada waktu lebih lama (≥ 30 menit) dari temperatur sampai titik didih air.

(Depkes RI, 2000)

2.4 Mekanisme Kerja Obat Antifungi

Aktivitas antijamur dapat diperoleh dengan menghancurkan sel jamur patogen. Dengan melihat susunan sel jamur, setidaknya terdapat 6 mekanisme aktivitas antijamur yang berbeda yaitu sebagai berikut (Freiesleben dan Jager, 2014) :

1. Menghambat pembentukan dinding sel: Dinding sel jamur terutama terdiri dari β -glucan. Jika sintesis dari senyawa ini dihambat, maka integritas dinding sel akan mengganggu.
2. Gangguan membran sel
Ergosterol sangat penting untuk membran sel. Jika sterol ini terikat oleh obat antijamur atau sintesisnya dihambat oleh inhibitor biosintesis ergosterol, maka integritas membran sel akan terganggu sehingga membran mengalami kebocoran.
3. Disfungsi mitokondria jamur

Penghambatan dari transpor elektron mitokondria akan mengakibatkan penurunan potensi membran mitokondria. Inhibisi dapat terjadi dengan menghambat pompa proton dalam rantai respirasi sehingga menyebabkan penurunan produksi ATP dan kematian sel.

4. Menghambat pembelahan sel

Penghambatan pembelahan sel dapat terjadi melalui terhambatnya polimerisasi mikrotubulus sehingga menghalangi pembentukan gelendong mitosis.

5. Menghambat sintesis RNA/DNA atau sintesis protein

Jika agen antijamur memasuki sel, misalnya melalui transportasi aktif di ATPase, dan mengganggu RNA, dapat menyebabkan sintesis RNA rusak dan terhambatnya transkripsi DNA.

6. Menghambat *efflux pumps*

efflux pumps dimiliki oleh semua sel hidup dan memiliki fungsi untuk mengangkut zat beracun dari sel. Transportasi ini sering mencakup transportasi akumulasi obat keluar dari sel jamur. Ekspresi berlebih dari *efflux pumps* dapat menyebabkan resistansi obat sehingga dengan menghambat *efflux pumps* diyakini dapat mengurangi resistensi obat tersebut.

2.5 Uji Antifungi

2.5.1 Metode Dilusi

Cara ini digunakan untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal) dari obat antimikroba. Terdapat dua metode dilusi yaitu dilusi cair dan dilusi agar (Dzen, *et al*, 2003).

2.5.1.1 Metode Dilusi Cair (Broth Dilution)

Cara ini digunakan untuk menentukan kadar hambat minimal dan kadar bunuh minimal dari obat antifungi ataupun bakteri. Pengujian ini

dilakukan dengan menggunakan metode dilusi tabung. Langkah awal yang dikerjakan adalah satu seri tabung reaksi yang digunakan, diisi media cair dan beberapa sel jamur yang diuji dengan kepadatan 10^4 CFU/ml. Selanjutnya, obat yang sudah diencerkan secara seri dimasukkan ke dalam masing-masing tabung reaksi. Setelah itu, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan selanjutnya kekeruhan yang terjadi pada tabung harus diamati (Kumar, *et al*, 2010).

Kadar hambat minimal obat adalah konsentrasi terendah obat pada tabung yang menunjukkan bahwa hasil biakan yang mulai terlihat jernih, yang berarti tidak ada pertumbuhan mikroba. Selanjutnya biakan dari semua tabung yang jernih diinokulasi dengan media agar padat, setelah biakan dari seluruh tabung yang jernih diinokulasi dengan media agar yang padat kemudian dilakukan inkubasi kembali. Pada keesokan harinya dilakukan pengamatan untuk mengetahui ada atau tidaknya koloni mikroba yang tumbuh (Dzen, *et al.*, 2003).

2.5.1.2 Metode Dilusi Agar

Untuk menentukan KHM obat, dapat juga dengan cara menggunakan medium agar padat yang disebut dengan metode E test (Dzen, *et al*, 2003). Pada pengujian dengan metode dilusi agar diperlukan 6 cawan dan 1 cawan sebagai kontrol. Larutan antifungi dibuat dengan kadar menurun menggunakan teknik pengenceran kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah selesai diinkubasi, amati dan hitung pertumbuhan jamur yang terdapat pada cawan (Kumar, *et al.*, 2010).

2.5.2 Metode Difusi (Diffusion)

Metode difusi yang paling sering digunakan adalah difusi cakram. Prinsip dari metode ini adalah sebagai berikut. Obat ditunjukkan kedalam kertas saring (cakram kertas). Cakram kertas yang mengandung obat tertentu ditanam pada media perbenihan agar padat yang telah dicampur dengan mikroba yang diuji kemudian diinkubasikan 37°C selama 18-24 jam. Selanjutnya diamati adanya area (zona) jernih disekitar cakram kertas yang menunjukkan tidak adanya pertumbuhan mikroba (Dzen, *et al*, 2003). Menurut Dzen *et al.* (2003), untuk mengevaluasi hasil uji kepekaan tersebut (apakah isolat mikroba sensitif atau resistan terhadap obat), dapat dilakukan dua cara seperti berikut ini.

- A. Cara Kirby Bauer, yaitu dengan membandingkan diameter dari area jernih (zona hambatan) di sekitar cakram dengan tabel standar yang dibuat oleh NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standard). Dengan tabel NCCLS ini, dapat diketahui kriteria sensitif, sensitif intermediet dan resisten.
- B. Cara Joan-Stokes, yaitu dengan membandingkan radius zona hambatan yang terjadi antara bakteri kontrol yang sudah diketahui kepekaannya terhadap obat tersebut dengan isolat bakteri yang diuji. Pada cara Joan-Stokes, prosedur uji kepekaan untuk bakteri kontrol dan bakteri uji dilakukan bersama-sama dalam satu piring agar.