

**REPOSITORY.UB.AC.ID**

**UJI EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* (L.) Pers)  
SEBAGAI ANTIFUNGI TERHADAP *Candida albicans* SECARA IN  
VITRO**

**TUGAS AKHIR**  
**Untuk Memenuhi Persyaratan**  
**Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh :**

**Sela Pricilia**

**NIM : 165070100111031**

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



## DAFTAR ISI

	Halaman
Halaman Judul	i
Halaman Pengesahan	ii
Kata Pengantar	iii
Abstrak	v
Abstract	vi
Daftar Isi	vii
Daftar Gambar	x
Daftar Tabel	xi
Daftar Lampiran	xii
Daftar Singkatan	xiii
<b>BAB 1 PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penulisan	4
1.4.1 Manfaat Akademis	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 <i>Candida albicans</i>	5
2.1.1 Morfologi dan Identifikasi	5
2.1.2 Struktur Antigen	7
2.1.3 Patogenesis dan Patologi	8
2.1.4 Faktor Predisposisi	9
2.1.4.1 Faktor Endogen	9
2.1.4.2 Faktor Eksogen	10
2.1.5 Resistensi	10
2.1.6 Manifestasi Klinis	11

2.2 Daun Inggu ( <i>Ruta angustifolia</i> )	15
2.2.1 Determinasi dan Deskripsi Morfologi	15
2.2.2 Kandungan Kimia <i>Ruta angustifolia</i>	17
2.2.2.2 Saponin	17
2.2.2.3 Tanin	18
2.3 Aktivitas Antifungi	19
2.4. Metode Ekstraksi	20
2.4.1. Teknik Maserasi	20
2.5 Uji Aktivitas Antimikroba	21
2.5.1 Metode Dilusi	21
2.5.2 Metode Difusi	22
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN</b>	
3.1 Kerangka Konsep	23
3.2 Deskripsi Kerangka Konsep	24
3.3 Hipotesis Penelitian	24
<b>BAB 4 METODE PENELITIAN</b>	
4.1 Desain Penelitian	25
4.2 Sampel Penelitian	25
4.3 Pengulangan	25
4.4 Variabel Penelitian	26
4.4.1 Variabel bebas	26
4.4.2 Variabel tergantung	26
4.5 Tempat dan Waktu Penelitian	27
4.6 Alat dan Bahan	27
4.6.1 Alat	27
4.6.2 Bahan	27
4.7 Definisi Operasional	28
4.8 Prosedur Penelitian	30
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Inggu	30
4.8.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	31
4.8.2.1 Pewarnaan Gram	31

4.8.2.2 Uji <i>Germinating Tube</i>	32
4.8.3 Persiapan Suspensi Uji <i>Candida albicans</i>	32
4.8.4 Uji Antifungi Ekstrak Daun Inggau	33
4.9 Analisis Data	37
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA</b>	
5.1 Hasil Identifikasi Fungi	38
5.2 Gambaran Ekstrak Daun Inggau	39
5.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM	39
5.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM	41
5.5 Analisis Data	43
5.5.1 Uji Normalitas dan Homogenitas	44
5.5.2 Uji <i>One-Way ANOVA</i>	44
5.5.3 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	45
5.5.4 Uji Korelasi dan Regresi	46
<b>BAB 6 PEMBAHASAN</b>	
6.1 Penelitian Pendahuluan	49
6.2 KHM (Kadar Hambat Minimum)	49
6.3 KBM (Kadar Bunuh Minimum)	49
6.4 Penelitian terkait Daun Inggau dan <i>Candida albicans</i>	50
6.5 Mekanisme Antifungi Daun Inggau	55
6.6 Keterbatasan Penelitian	55
<b>BAB 7 PENUTUP</b>	
7.1 Kesimpulan	57
7.2 Saran	57
Daftar Pustaka	59
Lampiran	64
Pernyataan Keaslian Tulisan	72

**HALAMAN PENGESAHAN**

**TUGAS AKHIR**

**UJI EKSTRAK ETANOL DAUN INGGU (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) SEBAGAI  
ANTIFUNGI TERHADAP *Candida albicans* SECARA IN VITRO**

Oleh :

**Sela Pricilia**

**NIM. 165070100111031**

Telah diuji pada

Hari : Selasa

Tanggal : 24 September 2019

Dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji I

dr. Nuretha Hevy Purwaningtyas, M.Sc

NIK. 2012087903202001

Pembimbing I/Penguji II,

Prof. Dr. dr. Noorhamdani A.S. DMM Sp. MK (K)  
NIP. 195011101980021001

Pembimbing II/Penguji III,

Dr. dr. Seskoati Prayitnaningsih, Sp. M (K)  
NIP. 196810232005012001

Mengetahui,

Ketua Program Studi Pendidikan Dokter

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

NIP. 196310221996012001



## ABSTRAK

Pricilia, Sela. 2019. **Uji Ekstrak Etanol Daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) sebagai Antifungi terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro***. Tugas akhir, Program Studi S1 Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) Prof. Dr. dr. Noorhamdani AS., DMM., Sp, MK (K) (2) Dr. dr. Seskoati Prayitnaningsih, Sp. M(K).

*Candida albicans* merupakan penyebab infeksi oportunistik tersering yang menyerang manusia khususnya pada keadaan imunodefisiensi. Kandidiasis oral merupakan suatu infeksi yang paling sering dijumpai dalam rongga mulut manusia, dengan prevalensi 40% di Indonesia. Kandidiasis sistemik menyebabkan peningkatan angka kematian sekitar 71%-79%. Sementara itu, salah satu terapi utama untuk kandidiasis ini sudah banyak dilaporkan mengalami resistensi. Pengobatan alternatif yang efektif terus dicari untuk menanggulangi resistensi ini. Salah satunya adalah kandungan saponin dan tanin yang terdapat dalam daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) yang telah diketahui sebagai senyawa antifungi yang efektif. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun inggu terhadap pertumbuhan fungi *Candida albicans* secara in-vitro. Sampel diperoleh dari stok fungi milik Laboratorium Mikrobiologi FKUB. Konsentrasi ekstrak yang dipakai yaitu 0%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% dan 25%. Metode yang digunakan adalah metode dilusi tabung. Hasil uji *one way* ANOVA menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan pada perubahan konsentrasi ekstrak daun inggu terhadap jumlah koloni *Candida albicans* ( $p < 0,05$ ). Uji korelasi menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun inggu menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans* (Korelasi,  $r = -0,822$ ;  $p < 0,05$ ). Kesimpulan pada penelitian ini yaitu ekstrak etanol daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) mempunyai efek antifungi terhadap *Candida albicans* dengan kadar bunuh minimumnya adalah 25%, sementara kadar hambat minimumnya tidak dapat ditentukan dengan metode dilusi tabung.

**Kata kunci:** *Candida albicans*, ekstrak etanol daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers), antifungi.

## ABSTRACT

*Candida albicans* is the most common cause of opportunistic infection in human especially in immunodeficiency person. Oral candidiasis is the most common manifestation in human, its prevalence in Indonesia is 40%. Having systemic candidiasis increases the mortality rate to 71%-79%. Instead of that, one of the ultimate therapy that used to cure candidiasis has developed resistance. Therefore, an effective antifungal therapy is in the search. Inggu's leaf which contain saponin and tannin have been known to be an effective antifungal compounds. This study was aimed to determine the effectiveness of inggu's leaf ethanol extracts to inhibit the growth of *Candida albicans* in vitro. The samples were obtained from fungal stock provided by the microbiology laboratory of the School of Medicine Brawijaya University. The concentrations of extract used were 0%, 15%, 17,5%, 20%, 22,5% and 25%. The used method was the tube dilution. The statistical test one-way ANOVA showed significant differences in the changes of inggu's leaf extract concentrations on the *Candida albicans* colony numbers ( $p < 0.05$ ). The correlation test showed that inggu's leaf ethanol extract inhibit the growth of *Candida albicans* colony (correlation,  $r = -0.822$ ;  $p < 0.05$ ). The conclusion is that inggu's leaf (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) ethanol extract has an antifungal effect against *Candida albicans* with minimum bactericidal concentration of 25% and the minimum inhibitory concentration can't be proved with tube dilution method.

**Keywords:** *Candida albicans*, inggu's leaf (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) ethanol extract, antifungal

## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Penelitian tentang antifungi terus berkembang karena jamur merupakan salah satu organisme yang sering menyebabkan penyakit pada manusia. *Candida albicans* adalah salah satu spesies jamur dari Genus *Candida* yang paling sering menimbulkan manifestasi klinis. Patogen ini dapat dengan mudah menginfeksi apabila kulit dalam keadaan tidak intak. *Candida albicans* mampu menyebarkan infeksi dengan cepat jika tidak segera ditangani. Kondisi terparah dari infeksi jamur ini didapatkan jika terjadi invasi ke peredaran darah (Brooks *et al*, 2013).

*Candida albicans* menempati peringkat utama sebagai penyebab infeksi oportunistik terbanyak di Indonesia. Manifestasi tersering yang ditimbulkan oleh *Candida albicans* adalah Kandidiasis Oral dan Vulvovaginal. Prevalensi Kandidiasis Oral pada pasien HIV di Indonesia mencapai angka 40% (Shaleh *et al*, 2017).

Kandidiasis Vulvovaginal merupakan penyakit yang paling sering dikeluhkan oleh wanita. Sekitar 70-75% wanita pernah terinfeksi Kandidiasis Vulvovaginal sekali semasa hidupnya dan umumnya terjadi pada wanita usia subur serta 40-50% di antaranya cenderung mengalami kekambuhan (Sobel, 2008).

Selain Kandidiasis Oral dan Vulvovaginal, pada orang tertentu dengan defisiensi *Th1* dapat pula terjadi Kandidiasis Mukokutan kronis (Kenneth *et al*, 2015). Beberapa kondisi khusus misalnya pada pasien AIDS dan Leukemia, kemungkinan terjadi kandidiasis sistemik akan meningkat. Kandidiasis sistemik dapat berdampak ke mata, jantung, serta meningen (Brooks *et al*, 2013). Kandidiasis sistemik juga dapat menyebabkan peningkatan angka mortalitas sebesar 71%-79% pada penderitanya (Heriyanty, 2008).

Penelitian terbaru menyatakan bahwa *Candida albicans* mengalami resistensi terhadap obat golongan Azole. Obat golongan ini memiliki cara kerja menghambat biosintesis ergosterol jamur, tetapi menurut penelitian *University of Tennessee Health Science Center USA* di tahun 2017, resistensi *Candida albicans* terhadap obat Azole sudah meningkat pesat. Resistensi ini disebabkan karena adanya gen *ERG11* pada jamur yang menyebabkan turunnya efektivitas Azole khususnya Fluconazole (Sarah *et al*, 2017).

Salah satu tumbuhan yang dapat dimanfaatkan sebagai obat yaitu daun Inggu. Daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) sudah lama dikenal sebagai tanaman herbal di Indonesia. Tumbuhan herbal ini sering dimanfaatkan untuk mengurangi nyeri, menurunkan panas, menetralkan racun, mengobati cacingan, mencegah kejang, dan membantu penyembuhan luka. Daun tanaman ini mengandung banyak zat seperti minyak atsiri, Saponin sebesar 2.13%, tanin 7.04%, dan flavonoid 1.67% (Noer *et al*, 2018).

Ekstrak flavonoid dari daun inggu cukup sering diteliti kadar hambat dan kadar bunuhnya sebagai antifungi beberapa spesies jamur. Berbeda dengan ekstrak saponin dan taninnya yang sejauh ini hanya pernah diteliti

manfaatnya sebagai penghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* (Dyah, 2017). Saponin sendiri berfungsi menurunkan tegangan permukaan membran dan tanin berfungsi menghambat pertumbuhan dinding sel jamur (Yang, 2018). Saponin dan tanin akan diekstrak menggunakan teknik maserasi untuk mendapatkan jumlah substansi yang banyak. Setelah itu akan dilarutkan dengan etanol yang memiliki kemampuan melarutkan semua zat baik polar dan non polar.

Dari uraian di atas dapat diketahui bahwa *Candida albicans* adalah jamur yang berbahaya, terkait manifestasi yang ditimbulkan serta adanya resistensi terhadap beberapa jenis antifungi. Apabila hal ini tidak segera ditangani, maka angka mortalitas karena infeksi oportunistik *Candida albicans* akan terus bertambah. Oleh karena itu, perlu adanya substansi antifungi baru yang mudah didapat serta memiliki efektivitas yang baik. Salah satu yang dapat dimanfaatkan adalah ekstrak etanol daun Inggau yang diharapkan terbukti secara ilmiah efektif membunuh *Candida albicans* dengan cara menghambat pertumbuhan dinding sel dan juga menurunkan tegangan permukaan.

## **1.2 Rumusan Masalah**

- 1.2.1** Apakah terdapat efek antifungi pada ekstrak etanol daun Inggau (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) terhadap *Candida albicans*?
- 1.2.2** Berapakah dosis efektif yang dapat menghambat dan membunuh koloni *Candida albicans*?

## **1.3 Tujuan Penelitian**

### **1.3.1 Tujuan Umum**

Untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun Inggau (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) mempunyai efek antifungi terhadap *Candida albicans*.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Mengetahui kadar hambat minimal (KHM) dan kadar bunuh minimal (KBM) pada jamur *Candida albicans* dengan menggunakan ekstrak etanol daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) sebagai antifungi.

### 1.4. Manfaat Penelitian

#### 1.4.1. Manfaat Akademis

- a. Sebagai sumbangan informasi ilmu pengetahuan yang dapat digunakan sebagai dasar penelitian lebih lanjut.
- b. Memberikan informasi tentang penggunaan senyawa etanol ekstrak daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) sebagai referensi atau acuan dalam penelitian selanjutnya terhadap penyakit lainnya.

#### 1.4.2. Manfaat Praktis

- a. Sebagai penemuan alternatif antifungi baru yang dapat diaplikasikan dalam masyarakat.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 *Candida albicans*

##### 2.1.1 Morfologi dan Identifikasi

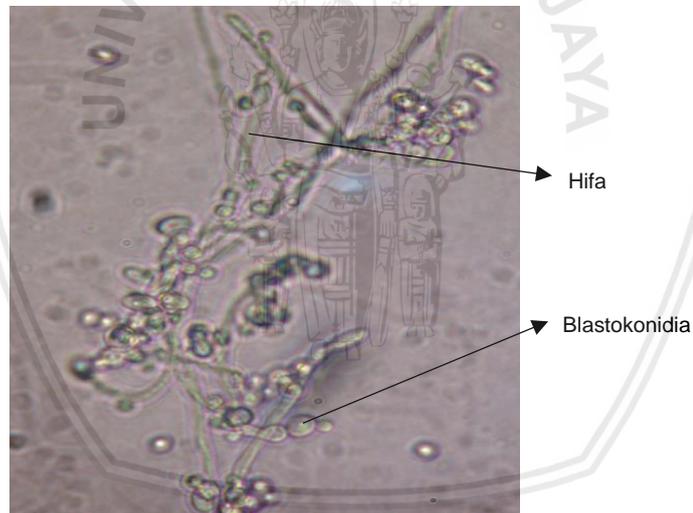
Klasifikasi *Candida albicans* (Anggraini, 2017) :

Divisio	: Thallophyta
Subdivisio	: Fungi
Classis	: Deuteromycetes
Ordo	: Moniliales
Familia	: Cryptococcaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>

Apabila di kultur, *Candida* akan tampak sebagai sel ragi yang berbentuk lonjong dan berukuran 3-6  $\mu\text{m}$ . Jamur ini juga membentuk pseudohifa ketika tunasnya melanjutkan pertumbuhan tetapi gagal menempel, kemudian memproduksi sebuah rantai sel yang memanjang yang mengandung septa antar selnya. Tidak seperti spesies *Candida* yang lain, *Candida albicans* merupakan jamur dimorfik, selain berbentuk yeast dan pseudohifa juga dapat membentuk hifa (Brooks *et al.*, 2013).

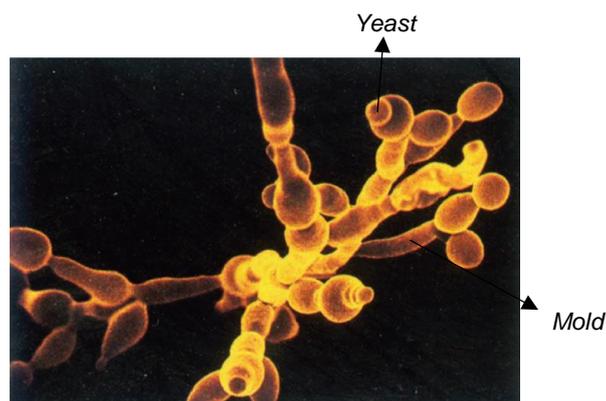
Saat diinokulasi selama 24 jam pada suhu ruangan, *Candida* memproduksi koloni berwarna krem, lembut, dan beraroma ragi. Pseudohifa tampak sebagai bentukan di bawah permukaan agar. Pseudomiselium terdiri atas pseudohifa yang membentuk blastokonidia pada nodus-nodus dan kadangkala klamidokonidia pada ujung-ujungnya (Tortora *et al.*, 2004).

Ada dua tes morfologi yang dapat membedakan *Candida albicans* dengan spesies *Candida* lainnya yaitu dengan cara menginkubasi di serum selama 90 menit di suhu ruangan, sel ragi *Candida albicans* akan membentuk hifa atau disebut *germ cell*. Cara yang kedua adalah pada media yang kekurangan nutrisi, *Candida albicans* akan membentuk klamidospora yang berbentuk sferis. *Candida albicans* meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas; dan tidak bereaksi dengan laktosa. Peragian karbohidrat ini, bersama dengan sifat-sifat koloni dan morfologi, membedakan *Candida albicans* dari spesies *Candida* lainnya (Brooks *et al.*, 2013).



Gambar 2.1 Bentuk Morfologi *Candida albicans* (Brooks *et al.*, 2013)

Terdapat bentukan *germ tube* (hifa) khas *Candida albicans* yang memanjang disertai bentukan blastokonidianya.



Gambar 2.2. Dimorfisme *Candida albicans* (Kenneth, *et al.*, 2015)

*Candida albicans* memiliki 2 bentukan yaitu *mold* (hifa) dan *yeast* sehingga dikatakan jamur dimorfik.

Dinding sel *C. albicans* berfungsi sebagai pelindung dan target dari beberapa antimikotik. Dinding sel juga berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utama dinding sel tersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi dari lingkungannya. *C. albicans* memiliki struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm. Komposisi primer terdiri dari Glukan, Manan dan Kitin. Dinding sel *C. albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda. Membran sel *C. albicans* seperti sel eukariotik lainnya terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktifitas enzim seperti Mannan Sintase, Kitin Sintase, Glukan Sintase, ATPase dan protein yang mentransport fosfat. Terdapatnya membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antimikotik dan kemungkinan merupakan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel (Bonang, 1979).

### 2.1.2 Struktur Antigen

Tes aglutinasi dengan serum yang terabsorpsi membagi *Candida albicans* menjadi dua kelompok besar yaitu tipe A dan tipe B. Saat *C. albicans* menginfeksi

terjadi pelepasan komponen dari dinding sel seperti Manan, Glukan, polisakarida dan juga glikoprotein. Makromolekul ini dapat menghambat pertahanan tubuh inang beserta respon imun yang melibatkan *Th1*, *Th2*, dan *Th17* (Brooks *et al.*, 2013).

### 2.1.3 Patogenesis dan patologi

Patogenesis *C. albicans* diawali dengan perubahan bentuk dari ragi menjadi hifa yang berkaitan erat dengan meningkatnya potensiasi patogenitas dari *C. albicans*. Pada preparat histologis, hifa hanya terlihat ketika *C. albicans* akan melakukan invasi baik di jaringan superfisial maupun profundus. Hifa membantu jamur ini untuk melakukan penempelan pada sel epitelial manusia. Salah satu mediatornya adalah Hwp1 (*Hyphal wall protein*) yang ditemukan hanya pada permukaan *germ tube* dan hifa. Selain itu, ada beberapa protein lagi yang berfungsi untuk penetrasi dan adhesi antara lain Fibronektin, Kolagen dan Laminin. Hifa juga memproduksi Proteinase dan Fosfolipase yang mampu merusak sel epitel dan memfasilitasi invasi. Hifa juga mensekresi Aspartic Proteinases (Saps) yang mampu merusak keratin dan kolagen dan memfasilitasi invasi ke jaringan yang lebih profundus (Kenneth *et al.*, 2015).

Ketika hifa berhasil melakukan invasi dan masuk ke dalam mukosa maka terjadilah Kandidiasis mukokutan. Pada kandidiasis mukokutan, karakter lesi yang terbentuk bervariasi mulai dari abses piogenik hingga terbentuk granuloma kronis. Lesi tersebut mengandung sel ragi dan juga pseudohifa dari *C. albicans*. Jika kondisi ini tidak segera diobati maka *C. albicans* dapat masuk ke peredaran darah melalui mukosa intestinal dan menurunkan efektivitas dari mekanisme fagositosis sebagai salah satu pertahanan imun tubuh. Sekali masuk ke sirkulasi, Candida

dapat menginfeksi ginjal, menempel di katup jantung, dan menimbulkan manifestasi lain seperti *Arthritis*, *Meningitis* dan juga *Endophthalmitis* yang apabila tidak segera ditangani dapat memberikan prognosis yang sangat buruk (Brooks *et al.*, 2013).

#### 2.1.4 Faktor Predisposisi

Infeksi *Candida* dapat terjadi apabila ada faktor predisposisi, baik endogen maupun eksogen.

##### 2.1.4.1 Faktor Endogen

1. Perubahan fisiologik
  - a) Kehamilan, karena perubahan pH dalam vagina
  - b) Kegemukan
  - c) Debilitas
  - d) Iatrogenik, misal kateter intravena, kateter saluran kemih
  - e) Endokrinopati, penyakit diabetes mellitus
  - f) Penyakit kronis, seperti tuberculosis, lupus erythematosus
  - g) Pemberian antimikroba yang intensif
  - h) Terapi progesteron
  - i) Terapi kortikosteroid
  - j) Penyalahgunaan narkotik intravena
2. Umur
3. Imonologik (imunodefisiensi)

(Brooks *et al.*, 2013)

#### 2.1.4.2 Faktor Eksogen

1. Iklim panas dan kelembaban
2. Kebersihan kulit
3. Kontak pada penderita

(Brooks *et al.*, 2013)

#### 2.1.5 Resistensi

Resistensi didefinisikan sebagai tidak terhambatnya pertumbuhan mikroba dengan pemberian antibiotik secara sistemik dengan dosis normal yang seharusnya atau kadar hambat minimalnya. Resistensi merupakan masalah individual epidemiologi yang menggambarkan ketahanan mikroba terhadap antimikroba tertentu yang dapat berupa resistensi alamiah, resistensi karena adanya mutasi spontan (resistensi kromosomal) dan resistensi silang. Cross resistance atau resistensi silang adalah resistensi suatu obat yang diikuti dengan obat lain yang belum pernah dipaparkan yaitu karena adanya faktor R pada sitoplasma (resistensi ekstrakromosomal) atau resistensi karena pemindahan gen yang resistensi atau faktor R atau plasmid. Ada berbagai mekanisme yang menyebabkan suatu populasi mikroba menjadi resisten terhadap antimikroba.

Mekanisme tersebut antara lain adalah:

- a) Mikroorganisme memproduksi enzim inaktivator atau penghancur antibiotik.
- b) Terjadinya perubahan permeabilitas terhadap obat
- c) Adanya perubahan struktur target obat yang dilakukan mikroorganisme.

- d) Terjadinya perubahan jalur metabolik yang menjadi target obat.
- e) Terjadi perubahan enzimatik sehingga mikroba meskipun masih dapat hidup dengan baik tapi kurang sensitif terhadap antimikroba (Rahayu, 2018).

### 2.1.6 Manifestasi Klinis

Bentuk-bentuk kandidiasis yang lazim :

#### 1. Mulut

Klasifikasi kandidiasis dalam rongga mulut:

- a. Kandidiasis pseudomembranosis akut (*thrush*)  
Manifestasi ini terbatas di orofaring tetapi dapat menyebar ke esofagus dan ke saluran pencernaan. Lesinya tampak sebagai plak berwarna putih yang bentukannya biasa disebut *cottage cheese* yang menempel pada permukaan mukosa mulut (Lewis, 1998).
- b. Kandidiasis eritematus  
Kandidiasis eritematus merupakan komplikasi yang terjadi apabila lesi kandidiasis pseudomembranosis terkelupas. Pada keadaan ini akan timbul bercak kemerahan dengan permukaan datar yang berada di mukosa mulut (Lewis, 1998).
- c. *Angular Cheilitis*  
*Angular Cheilitis* merupakan kondisi umum yang terlihat sebagai inflamasi pada salah satu atau kedua ujung mulut. Terdapat kolonisasi *candida* pada sudut mulut, baik sendiri maupun kombinasi dengan *Staphylococcus* atau *Streptococcus* (Lewis, 1998).

d. Candidal Leukoplakia

Candidal Leukoplakia merupakan salah satu akibat infestasi *Candida spp.* yang tampak sebagai penebalan epitelium yang tidak dapat dihilangkan pada mukosa (Lewis, 1998).

2. Genetalia wanita

Vulvoganitis menyerupai sariawan, tetapi menimbulkan rasa gatal yang hebat dan juga ditandai dengan adanya sekret. Timbulnya vulvoganitis bisa dipermudah oleh pH alkali. Dalam keadaan normal, pH yang asam dinetralkan oleh flora normal vagina. Seringkali ditemukan pada orang dengan keadaan defisiensi sistem imun (Murray *et al.*, 2016).

3. Kulit

Infeksi kulit terutama terjadi pada bagian-bagian tubuh seperti ketiak, lipatan paha, lipatan-lipatan dibawah payudara. Infeksi paling sering ditemukan pada pasien dengan obesitas dan diabetes. Daerah- daerah ini menjadi kemerahan dan mengeluarkan cairan serta dapat terbentuk vesikel. Infeksi *Candida* pada kulit antara jari-jari tangan paling sering terjadi setelah pencelupan dalam air yang berulang dan lama (Murray *et al.*, 2016).

4. Kuku

Pada kuku dapat menimbulkan rasa sakit, bengkak dan juga kemerahan yang menyerupai penyakit Paronikia piogenik. Infeksi pada kuku ini dapat mengakibatkan penebalan dan alur transversal pada kuku dan akhirnya kehilangan kuku (Murray *et al.*, 2016).

## 5. Saluran Pencernaan

Salah satunya adalah esofagitis dan biasanya merupakan penjalaran dari sariawan di mulut. Biasanya timbul pada penderita AIDS serta penderita-penderita lain yang *immunodeficiency*, terutama mereka yang mendapat pengobatan antibiotika jangka panjang (Murray *et al.*, 2016).

## 6. Kandidiasis sistemik

Infeksi *Candida* pada kulit yang tak kunjung berhenti dapat memicu terjadinya kandidiasis mukokutan kronis. Kondisi ini disebabkan oleh defisiensi Limfosit T yang bertanggungjawab terhadap infeksi *Candida*. Kandidiasis mukokutan kronis dapat menyebar ke banyak organ di tubuh seperti saluran kencing, peritoneum, hati, limpa, sistem saraf pusat, jantung, mata, serta tulang dan sendi.

### a. Saluran kencing

Jika infeksi sudah memasuki saluran kencing manifestasi yang muncul dapat bervariasi beberapa di antaranya adalah terbentuknya abses di ginjal, *Urethritis*, dan *Cystitis* (Antinori *et al.*, 2016).

### b. Peritoneum

Manifestasi di peritoneum biasanya terjadi pada pasien yang barusaja melakukan operasi pada saluran pencernaannya atau mengalami perforasi usus. Infeksi ini dapat terlokalisir di perut tetapi bisa pula mempengaruhi organ terdekat yang menyebabkan kandidiasis hematogenus (Murray *et al.*, 2016).

c. Hematogenus

Kandidiasis hematogenus dapat berupa akut atau kronis. Salah satu contohnya adalah kandidiasis hepatosplenik kronis yang ditandai dengan munculnya gejala berupa demam, adanya peningkatan *alkaline phosphatase*, dan lesi multipel di hati dan limpa (Antinori *et al.*, 2016).

d. Sistem saraf pusat

Kandidiasis di sistem saraf pusat bisa merupakan infeksi sekunder atau berhubungan dengan prosedur *neurosurgical*. Manifestasinya mirip sekali dengan *Meningitis* dan dapat menjadi kronis (Murray *et al.*, 2016).

e. Jantung

Infeksi dapat sampai di jantung karena persebaran jamur melalui darah, sering ditemukan pada pasien dengan kerusakan katup jantung. Pasien dengan kondisi ini menerima implan katup jantung yang terkontaminasi *Candida*. Gejala klinis yang muncul menyerupai *Endocarditis* yang disebabkan oleh bakteri dengan disertai demam, dan terdengar adanya *murmur* pada pemeriksaan auskultasi (Vyas, 2014).

f. Mata

Mata merupakan bagian yang sering terlibat dalam infeksi *Candida*. Penyakitnya berupa *Chorioretinitis* dan *Endophthalmitis*. Karena alasan ini, seluruh pasien yang beresiko terinfeksi *Candida* harus melakukan pemeriksaan mata (Antinori *et al.*, 2016).

g. Tulang dan sendi

Manifestasi yang terjadi di tulang dan sendi biasanya merupakan sekuel dari infeksi *Candida*. Infeksi ini akan muncul beberapa bulan setelah pengobatan kandidemia berhasil (Murray *et al.*, 2016).

## 2.2 Daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers)

### 2.2.1 Determinasi dan Deskripsi Morfologi

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (Berkeping dua/dikotil)
Ordo	: Sapindales
Famili	: Rutaceae (Suku jeruk-jerukan)
Genus	: <i>Ruta</i>
Spesies	: <i>Ruta angustifolia</i> (L.) Pers (Materia Medika, 2019)



► Daun Inggu

Gambar 2.3 Daun Inggu (Sunda, 2018)

Daun inggu berbentuk lanset, tepi daunnya menggulung ke bawah, warna hijau kelabu.

Tanaman Inggü berasal dari Eropa bagian selatan dan Afrika Utara. Inggü merupakan tanaman jenis perdu yang tumbuh tegak dengan tinggi 1,5 m. Tumbuhan ini biasanya ditanam di kebun dan sering ditemukan di daerah pegunungan sampai ketinggian 1000 m dpl. Pada kelembaban yang tinggi, tanaman Inggü dapat tumbuh dengan baik (Richardson *et al.*, 2016). Inggü dikenal masyarakat sebagai tanaman herbal yang dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit antara lain demam, influenza, batuk, radang paru, epilepsi, hepatitis, kejang pada anak, infeksi parasit, nyeri ulu hati, nyeri dada, hernia, bisul, haid tidak teratur, radang kulit bernanah, memar akibat benturan benda keras, gigitan ular berbisa dan serangga dan keracunan obat atau racun (Dalimartha, 1999).

Daun Inggü termasuk golongan daun majemuk menyirip rangkap ganjil, tidak bertangkai, helai daun berbentuk lanset atau jorong memanjang, panjang 6 sampai 10 cm, lebar 1,5 sampai 2,5 cm, tepi daun menggulung ke bawah, permukaan atas licin, warna hijau kelabu, ibu tulang daun dan tulang cabang menonjol pada permukaan bawah, warna hijau keputih-putihan, batang bulat, bagian atas beralur tidak jelas, ruas-ruas pendek, batang beserta cabang licin berwarna abu-abu kecoklatan (Depkes RI, 1989).

Bunganya berkelamin dua atau bunga sempurna (bunga majemuk), berwarna kuning atau hijau kecoklatan. Mahkota berbentuk mangkok dan berwarna kuning. Buah kecil, lonjong, terbagi atas 4 kotak dan berwarna coklat. Benang sarinya berjumlah delapan belas helai yang berada di tengah tangkai sari (*New England Wild Flower Society*, 2018).

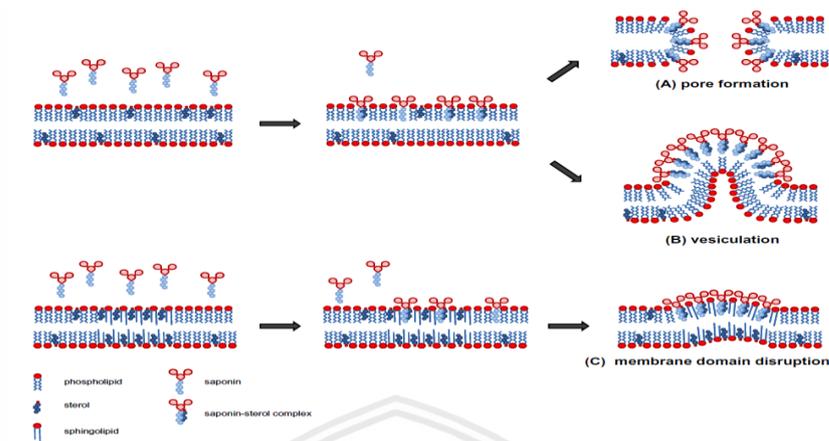
Organ yang berfungsi untuk transport nutrisi pada tumbuhan Inggu ini berwarna hijau muda. Batangnya berkayu, tegak, dan bulat. Selain itu, batang tanaman ini memiliki percabangan simpodial (Rudiyanto, 2015).

## 2.2.2 Kandungan Kimia *Ruta angustifolia* (L.) Pers

Daun *Ruta angustifolia* (L.) Pers mengandung minyak atsiri, Saponin, Tanin, dan juga Flavonoid yang mendukung perannya sebagai tanaman herbal yang memiliki banyak khasiat untuk kesehatan. Kandungan saponin dan tanin inilah yang sering dimanfaatkan sebagai antifungi dan antibakteri (Fania, 2013).

### 2.2.2.1 Saponin

Saponin merupakan suatu glikosida yang berat molekul dan kepolarannya tinggi. Saponin diketahui merupakan surfaktan yang kuat dan dapat membentuk busa bila dikocok dalam air. Saponin adalah zat hidrofilik dan juga larut dalam etanol tetapi tidak larut dalam eter. Berdasarkan penelitian, didapatkan efek antifungi saponin yang bekerja dengan cara menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) membran sterol dari *Candida albicans* sehingga menyebabkan lisisnya membran sel (Yang, 2018). Saponin dapat membentuk kompleks dengan kolesterol yang merupakan salah satu penyusun membran sel jamur. Kompleks Saponin-Kolesterol ini yang menyebabkan terbentuknya lubang pada membran sel sehingga permeabilitasnya terganggu dan memudahkan saponin untuk bisa menembus ke dalam sel (Netala *et al.*, 2014).



Gambar 2.4 Mekanisme antifungi saponin (Netala *et al.*,2014)

### 2.2.2.2 Tanin

Tanin merupakan senyawa kimia yang tergolong dalam senyawa polifenol. Tanin mempunyai kemampuan mengendapkan protein, karena mengandung sejumlah kelompok ikatan fungsional yang kuat dengan molekul protein yang selanjutnya akan menghasilkan ikatan silang yang besar dan kompleks yaitu protein tanin. Tanin mempunyai berat molekul 0,5-3 KD. Tanin alami larut dalam air dan memberikan warna pada air, warna larutan bervariasi dari warna terang sampai warna merah gelap atau coklat, karena setiap tanin memiliki warna yang khas tergantung sumbernya (Deaville *et al.*, 2010).

Tanin biasanya ditemui di kulit kayu pada pohon dan bertindak sebagai barier terhadap mikroorganisme seperti bakteri dan fungi. Tanin disebut juga Asam Tanat dan Asam Galotanat, ada yang tidak berwarna tetapi ada juga yang berwarna kuning atau coklat. Asam Tanat mempunyai berat molekul 1.701. Tanin terdiri dari sembilan molekul Asam Galat dan molekul glukosa. Tanin juga dapat melindungi kulit dengan cara mengikat protein menjadi tahan terhadap enzim proteolitik (Kusumo, 2017).

Mekanisme antifungi yang dimiliki tanin adalah menghambat menghambat pembentukan enzim C-14 demetilase yang berperan dalam sintesis ergosterol dan menghambat sintesis kitin pada dinding sel. Kemampuan inhibisi sintesis kitin yang dimiliki oleh tanin ini disebabkan karena besarnya daya polimerasi yang terdapat pada gugus hidroksil di cincin B dalam struktur kimia tanin (Kurniawan, 2015).

### 2.3 Aktivitas Antifungi

Mekanisme antifungi adalah sebagai berikut (Firmansyah, 2015) :

a) Gangguan sintesis ergosterol

Ergosterol berfungsi untuk menjaga integritas membran sel jamur dengan cara mengatur fluiditas dan keseimbangan dinding membran sel jamur. Obat yang bekerja mengganggu sintesis ergosterol dapat mengikat secara langsung ergosterol dan *channel ion* di membran sel jamur. Hal ini menyebabkan adanya gangguan permeabilitas berupa kebocoran ion kalium dan menyebabkan kematian sel. Pada antijamur yang tidak langsung mekanismenya adalah mengganggu demetilasi ergosterol pada jalur sitokrom P450.

b) Penghambatan sintesis asam nukelat

Kerja obat antijamur yang mengganggu sintesis asam nukleat adalah dengan cara menterminasi secara dini rantai RNA dan menginterupsi sintesis DNA.

c) Penghambatan pembentukan glukukan

Obat antijamur seperti golongan Ekinokandin menghambat pembentukan  $\beta$ 1,3 Glukan yang diketahui berperan dalam membentuk dan menjaga dinding sel tetap rigid.

d) Penghambatan mitosis fungi

Efek antifungi ini terjadi karena adanya senyawa antibiotik Griseofulvin yang mampu mengikat protein mikrotubuli dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong, menimbulkan penghambatan pertumbuhan.

## 2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah proses pengambilan zat aktif dalam suatu bagian tanaman yang diinginkan. Proses penyarian ini membutuhkan pelarut organik misalnya etanol untuk bisa menembus dinding dan masuk ke rongga sel dengan tujuan mengambil zat aktif yang terdapat di dalamnya. Zat aktif tersebut kemudian akan terlarut bersama dengan pelarutnya.

Ada beberapa macam metode ekstraksi yaitu ekstraksi padat-cair dan cair-cair tergantung pada bentuk bahan yang ingin diekstraksi. Ekstraksi pada bahan alam seperti daun, kulit batang atau akar menggunakan metode padat-cair. Salah satu metodenya adalah maserasi (Atmojo, 2011).

### 2.4.1 Teknik Maserasi

Ekstraksi dengan metode maserasi dilakukan dengan cara merendam bahan dalam pelarut yang sesuai selama tiga hari pada temperatur kamar yang terlindung dari cahaya. Pelarut akan menembus

dalam melalui dinding sel. Zat aktif yang terdapat di dalam sel akan larut karena adanya perbedaan konsentrasi sesuai mekanisme proses difusi pada umumnya. Hal tersebut akan berulang sampai terjadi keseimbangan konsentrasi. Selama proses maserasi berlangsung, dilakukan pengadukan dan penggantian pelarut setiap hari. Endapan yang diperoleh dipisahkan dan filtratnya dipekatkan (Atmojo, 2011).

## 2.5 Uji Aktivitas Antimikroba

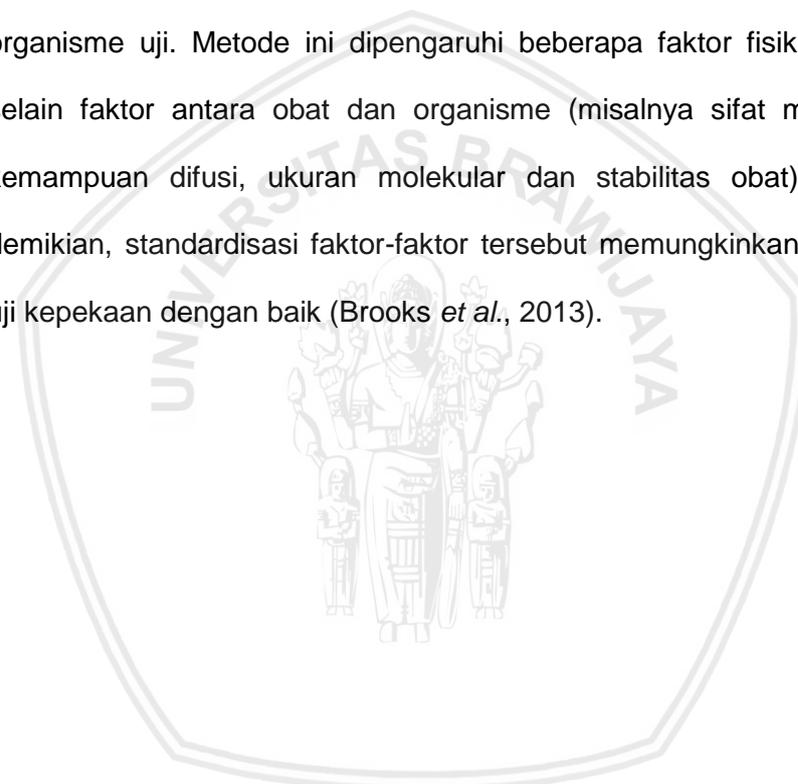
Penentuan kepekaan mikroba terhadap antimikroba dapat dilakukan dengan salah satu dari dua metode pokok yakni dilusi atau difusi. Penting sekali untuk menggunakan metode standar untuk mengendalikan semua faktor yang mempengaruhi aktivitas antimikroba (Brooks *et al.*, 2013).

### 2.5.1 Metode Dilusi

Metode ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap, baik dengan media cair atau padat. Setelah itu, media diinokulasi fungi uji dan dieramkan. Pada tahap akhir antimikroba dilarutkan dengan kadar yang menghambat atau mematikan. Uji kepekaan cara dilusi agar memakan waktu yang cukup banyak dan penggunaannya dibatasi pada keadaan tertentu saja. Uji kepekaan cara dilusi cair dengan menggunakan tabung reaksi, tidak praktis dan jarang dipakai, namun kini ada cara yang lebih sederhana dan banyak dipakai, yakni menggunakan *microdilution plate*. Keuntungan uji mikrodilusi cair adalah bahwa uji ini memberi hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri (Brooks *et al.*, 2013).

### 2.5.2 Metode Difusi

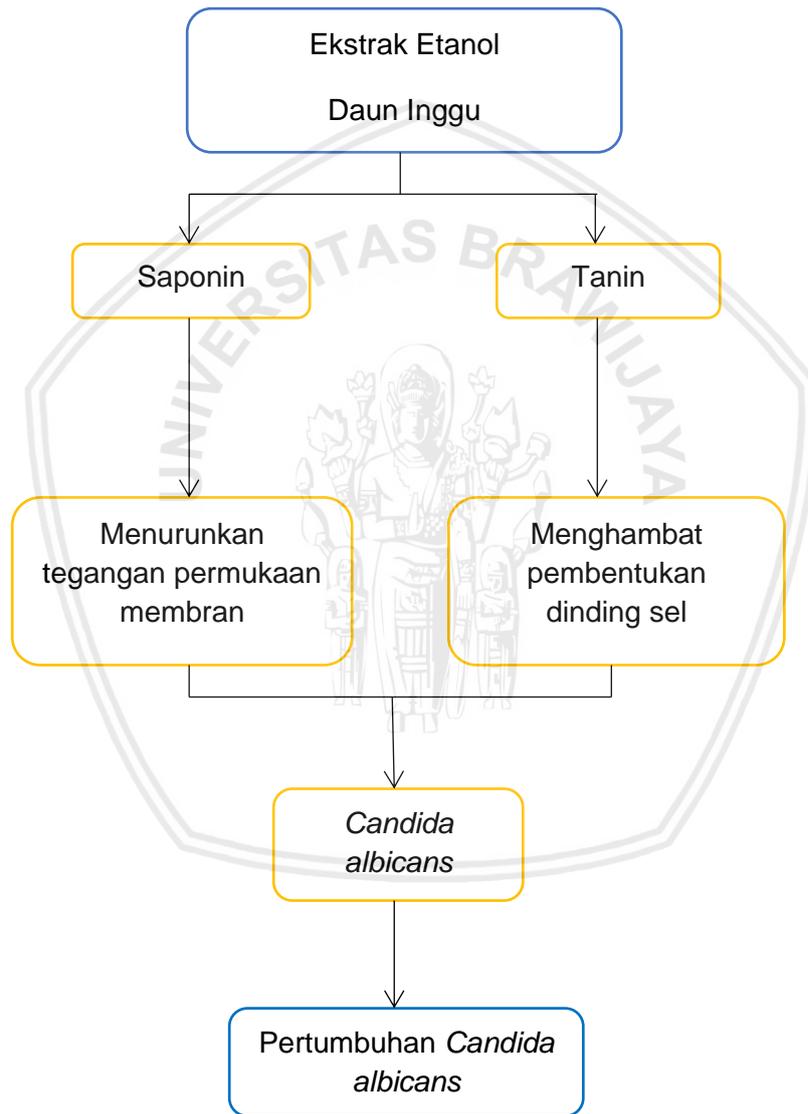
Metode yang paling sering digunakan adalah metode difusi agar. Cakram kertas saring diisi sejumlah obat yang ditempatkan pada medium padat yang sebelumnya telah diinokulasi fungi uji pada permukaannya. Setelah diinkubasi, diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar cakram dapat dipergunakan mengukur kekuatan hambatan obat terhadap organisme uji. Metode ini dipengaruhi beberapa faktor fisik dan kimia, selain faktor antara obat dan organisme (misalnya sifat medium dan kemampuan difusi, ukuran molekular dan stabilitas obat). Meskipun demikian, standardisasi faktor-faktor tersebut memungkinkan melakukan uji kepekaan dengan baik (Brooks *et al.*, 2013).



**BAB 3**

**KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS**

**3.1 Kerangka Konsep**



Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan :



= Efek ekstrak etanol daun Inggu



= Variabel yang diteliti

### 3.2 Deskripsi Kerangka Konsep

Daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L). Pers) akan diekstrak menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol 96%, dimana ekstrak ini mengandung saponin dan tanin. Senyawa saponin memiliki mekanisme kerja dapat menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) membran sel dari *Candida albicans* sedangkan tanin mampu menghambat sintesis kitin yang berfungsi dalam pembentukan dinding sel pada fungi. Kandungan zat aktif tersebut (dalam sebuah ekstrak, berbagai macam dosis) akan diujicobakan ke fungi biakan sehingga dari percobaan itu dapat diketahui kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum ekstrak etanol daun inggu (*Ruta angustifolia* (L). Pers). Kadar hambat minimum akan diamati secara kualitatif dengan melihat bayangan garis dari tabung yang berisi campuran fungi dengan ekstrak, sedangkan kadar bunuh minimum akan dihitung dari jumlah koloni *Candida albicans* pada medium SDA menggunakan *colony counter* sesuai syarat  $< 0,1\%$  *original inoculum*.

### 3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L). Pers) mempunyai efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara in vitro.

## BAB 4

### METODE PENELITIAN

#### 4.1 Desain Penelitian

Pada penelitian uji efektivitas ekstrak etanol daun Inggü terhadap *Candida albicans* ini penulis menggunakan metode *true experimental design* dengan *post test only control group design*. Penulis akan melakukan uji laboratorium yang bertujuan untuk mengetahui, menganalisa dan membuktikan efek antifungi dari ekstrak etanol daun Inggü (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) terhadap pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Metode uji kepekaan antifungi yang akan digunakan adalah metode dilusi tabung. Cara ini meliputi 2 tahap, yaitu pengujian bahan di media cair untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan dilanjutkan dengan penggoressan pada media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) untuk menentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol daun Inggü tersebut dalam kaitannya dengan penghambatan pertumbuhan koloni *Candida albicans*.

#### 4.2 Sampel Penelitian

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

#### 4.3 Pengulangan

Banyaknya pengulangan yang diperlukan untuk penelitian ini dapat dihitung dengan menggunakan rumus (Solimun, 2001):

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

Keterangan :

p = jumlah perlakuan

n = jumlah ulangan yang diperlukan

Penelitian ini menggunakan 5 konsentrasi dari ekstrak etanol daun Inggu, satu kontrol bahan dan satu kontrol fungsi ( $p = 5+2 = 7$ ) maka didapatkan jumlah pengulangan:

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

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

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

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variabel bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah ekstrak etanol daun Inggu dengan konsentrasi tertentu yang diperoleh melalui eksplorasi (penelitian pendahuluan).

##### 4.4.2 Variabel tergantung

Variabel tergantung pada penelitian ini adalah pertumbuhan *Candida albicans* yaitu dengan melihat kekeruhan pada tabung untuk menentukan KHM dan jumlah koloni *Candida albicans* pada media agar padat (SDA) untuk menentukan KBM.

#### 4.5 Tempat dan Waktu Penelitian

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

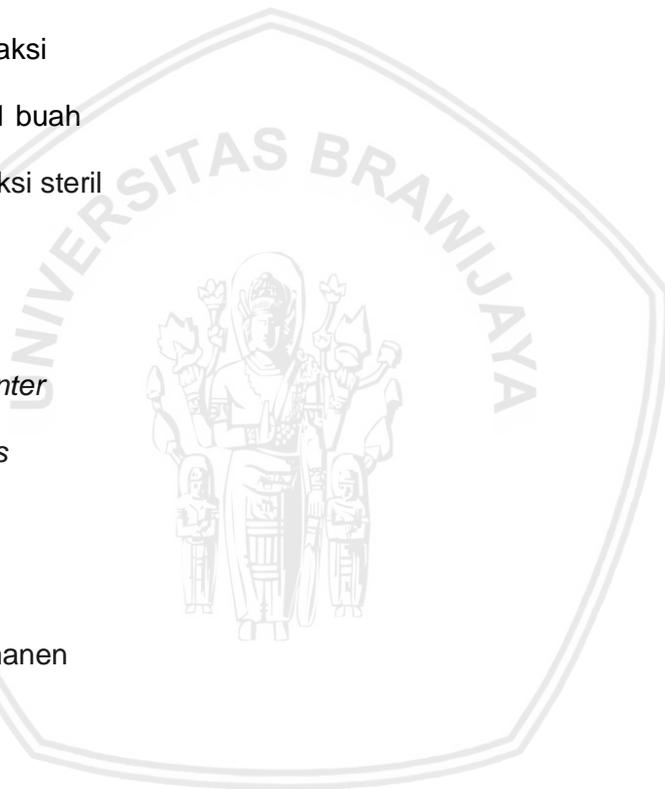
#### 4.6 Alat dan Bahan

##### 4.6.1 Alat

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

##### 4.6.2 Bahan

1. Isolat fungi
2. Serum mamalia



3. *Object glass*
4. Mikroskop
5. Tabung reaksi
6. Pipet steril
7. Inkubator
8. Hasil ekstraksi
9. Perbenihan cair fungi dengan kepadatan  $10^3$  CFU/ml
10. Aquades
11. *Vortex*
12. SDA
13. Ose
14. Bunsen
15. *Sabouraud broth*
16. Larutan NaCl

#### 4.7 Definisi Operasional

- a. Daun Inggü (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) yang digunakan dalam penelitian ini berasal dari UPT Balai Materia Medika Batu.
- b. Ekstrak daun Inggü adalah kadar atau konsentrasi daun Inggü yang didapatkan dengan metode maserasi atau ekstraksi dingin dengan menggunakan pelarut etanol 96%.
- c. Uji efektivitas adalah uji untuk menentukan kemampuan ekstrak etanol daun Inggü (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* melalui hasil pengamatan KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Bunuh Minimum).

- d. KHM (Kadar Hambat Minimum) adalah kadar atau konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol daun Inggau yang mampu menghambat pertumbuhan fungi *Candida albicans*.
- e. KBM (Kadar Bunuh Minimum) adalah konsentrasi minimal larutan ekstrak etanol daun Inggau yang mampu membunuh fungi, ditandai dengan tidak terdapatnya pertumbuhan koloni fungi pada medium agar padat yang telah dilakukan streaking dengan satu ose larutan ekstrak etanol daun Inggau (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) atau dengan jumlah koloni fungi  $< 0,1\%$  *original inoculum*.
- f. *Original inoculum* adalah inokulasi fungi dengan konsentrasi  $10^3$  CFU/mL yang diinokulasikan pada media agar padat dan digunakan untuk menentukan KBM.
- g. Kontrol fungi (tabung dengan fungi tanpa larutan ekstrak etanol daun Inggau) adalah tabung dengan konsentrasi 0% yang dapat digunakan untuk mengetahui apakah fungi yang digunakan terkontaminasi atau tidak.
- h. Kontrol bahan adalah bahan berupa larutan ekstrak etanol daun Inggau untuk mengetahui mengecek sterilitas ekstrak etanol yang dipakai.
- i. % adalah persentase konsentrasi akhir larutan ekstrak etanol daun Inggau setelah ditambah fungi.
- j. Pengamatan kualitatif digunakan untuk menentukan skor pertumbuhan *Candida albicans* berdasarkan bayangan tiga garis hitam yang tampak di balik tabung. Kriteria skoring adalah sebagai berikut:  
0 : jernih (ketiga garis nampak jelas)

1 : agak keruh (garis pertama dan kedua tampak, garis ketiga tidak tampak)

2 : keruh (garis pertama tampak, garis kedua dan ketiga tidak tampak)

3 : sangat keruh (ketiga garis tidak tampak)



Semakin rendah skor, menunjukkan semakin efektifnya bahan coba.

- k. Pengamatan kuantitatif digunakan untuk menentukan pertumbuhan fungsi *Candida albicans* secara kuantitatif dengan cara menghitung koloni jamur dengan *colony counter*.

#### 4.8 Prosedur Penelitian

Prosedur penelitian meliputi pembuatan ekstrak etanol daun Inggü, identifikasi fungsi uji (*Candida albicans*), persiapan suspensi uji *Candida albicans*, dan uji antifungi ekstrak etanol daun Inggü.

##### 4.8.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Inggü

Proses ekstraksi:

- Serbuk daun Inggü sebanyak 100 gram ditimbang.
- Sampel dimasukkan ke dalam gelas erlenmeyer ukuran 1 liter.
- Kemudian direndam dengan 900 ml etanol 96%.
- Dikocok hingga benar-benar tercampur ( $\pm$  30 menit).
- Didiamkan selama 1 malam sampai mengendap.

- f. Proses ekstraksi ini dilakukan sampai hasil ekstraksi jernih. Kemudian hasil ekstraksi siap untuk dievaporasi.

Proses Evaporasi:

- a. Diambil lapisan atas campuran etanol 96% dengan zat aktif daun Inggu yang sudah terlarut, lalu dimasukkan dalam labu evaporasi 1 liter.
- b. Labu evaporasi dipasang pada evaporator.
- c. *Water bath* diisi dengan air sampai penuh.
- d. Semua rangkaian alat dipasang, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (diatur sampai suhu 90°C, sesuai dengan titik didih etanol), lalu disambungkan dengan aliran listrik.
- e. Larutan etanol 96% dibiarkan memisah dengan zat aktif yang sudah ada dalam labu.
- f. Ditunggu sampai aliran etanol 96% berhenti menetes pada labu penampung ( $\pm 1,5$  sampai 2 jam untuk 1 labu).
- g. Ekstrak kemudian ditimbang dengan neraca analitik.
- h. Masukkan hasil ekstraksi dalam botol plastik dan masukkan dalam freezer.

#### 4.8.2 Identifikasi *Candida albicans*

##### 4.8.2.1 Pewarnaan Gram

1. Gelas objek dibersihkan dengan kapas, kemudian dilewatkan di atas api untuk menghilangkan lemak dan dibiarkan dingin.
2. Satu ose (1  $\mu$ l) aquades steril ditetaskan pada gelas objek ditambah sedikit biakan fungi yang diambil menggunakan ose, selanjutnya disuspensikan

dengan aquades pada gelas objek dan diratakan. Untuk sediaan cair tidak perlu disuspensikan dengan aquades.

3. Sediaan dikeringkan di udara, kemudian dilakukan fiksasi dengan cara melewatkan sediaan di atas api.
4. Sediaan pada gelas objek ditetesi dengan kristal violet selama 1 menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air.
5. Sediaan ditetesi dengan lugol selama 1 menit. Sisa lugol dibuang dan dibilas dengan air.
6. Sediaan ditetesi dengan alkohol 96% selama 5-10 detik atau sampai warna cat luntur. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air.
7. Sediaan ditetesi safranin selama ½ menit. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air.
8. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap.
9. Sediaan dilihat di bawah mikroskop dengan lensa objektif perbesaran 1000x.
10. Hasil positif : *Candida albicans* tercat ungu (Gram positif), bentuk *budding*.

#### **4.8.2.2 Uji Germinating Tube**

1. Isolat fungi diambil dari perbenihan dengan menggunakan ose yang sudah disterilisasi dengan cara pembakaran.
2. Dimasukkan tabung yang berisi serum mamalia 0,5 ml.
3. Diinkubasikan pada 37°C selama ± 4 jam.
4. Kultur di dalam serum diambil menggunakan ose dan diletakkan pada gelas objek, lalu ditutup dengan gelas penutup.
5. Diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x.

6. Dicari bentukan *pseudohifa* memanjang khas *Candida albicans*

#### 4.8.3 Persiapan Suspensi Uji *Candida albicans*

1. Dipersiapkan fungi *Candida albicans* dari SDA yang telah diuji konfirmasi.
2. Diambil 5 koloni ( $d \geq 1$  mm) dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 5 ml NaCl 0,85% steril. Kemudian diukur *Optical Density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada  $\lambda = 530$  nm. Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi sel yang mengandung  $1 \times 10^6$  hingga  $5 \times 10^6$  CFU/ml dengan rumus  $n_1 \times v_1 = n_2 \times v_2$  (Tille, 2018).
3. Untuk mendapatkan suspensi sel yang mengandung  $0,5 \times 10^3$  hingga  $2,5 \times 10^3$  CFU/ml dilakukan dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung yang mengandung  $10^6$  CFU/ml) untuk dicampur dengan 9 ml NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi sel dengan konsentrasi  $10^5$  CFU/ml. Proses dilanjutkan dua kali hingga mencapai konsentrasi suspensi fungi yang digunakan untuk tes, yaitu  $0,5 \times 10^3$  hingga  $2,5 \times 10^3$  CFU/ml (Tille, 2018).

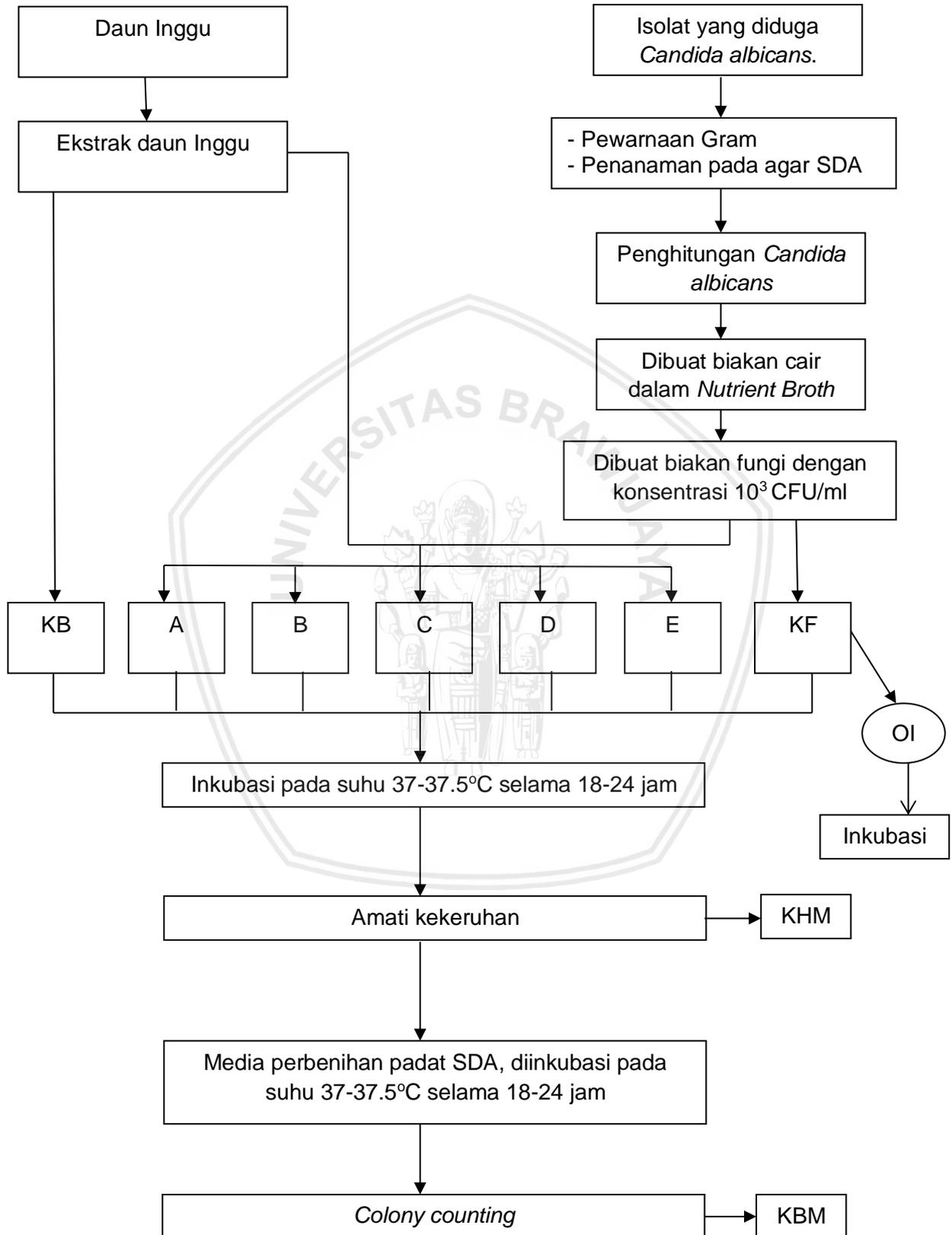
#### 4.8.4 Uji Antifungi Ekstrak Daun Inggu

- Siapkan 7 tabung steril, beri tanda KF, A, B, C, D, E, dan KB (kontrol bahan). Kontrol bahan (KB) adalah ekstrak daun Inggu. Kontrol fungsi (KF) adalah biakan fungi *Candida albicans* dengan konsentrasi  $10^3$  CFU/ml.
- Masukkan  $1-x_1$  ml aquades steril ke dalam tabung bertanda A, lalu tambahkan  $x_1$  ml ekstrak daun Inggu.
- Masukkan  $1-x_2$  ml aquades steril ke dalam tabung bertanda B, lalu tambahkan  $x_2$  ml ekstrak daun Inggu.

- Masukkan  $1-x_3$  ml aquades steril ke dalam tabung bertanda C, lalu tambahkan  $x_3$  ml ekstrak daun Inggü.
- Masukkan  $1-x_4$  ml aquades steril ke dalam tabung bertanda D, lalu ditambahkan  $x_4$  ml ekstrak daun Inggü.
- Masukkan  $1-x_5$  ml aquades steril ke dalam tabung bertanda E, lalu ditambahkan  $x_5$  ml ekstrak daun Inggü.
- Masukkan 1 ml aquades steril ke dalam tabung bertanda konsentrasi 0%.
- Tambahkan 1 ml biakan cair *Candida albicans* ke dalam setiap tabung kecuali tabung kontrol bahan.
- Dimasukkan 2 ml ekstrak daun Inggü ke dalam tabung bertanda KB.
- Dari tabung bertanda KF diambil 1 ose untuk diinokulasikan pada NAP (sebagai *original inoculum* (OI)).
- Semua tabung dan plate *original inoculum* diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}$ - $37,5^{\circ}$  C selama 18-24 jam.
- Setelah 18-24 jam, diperhatikan dan dicatat derajat kekeruhan pada semua tabung. Cara membaca derajat kekeruhan adalah dengan meletakkan sebuah kertas putih dibelakang tabung, dimana sebelumnya pada kertas tersebut digambar sebuah garis hitam, kemudian garis hitam tersebut diperhatikan dari depan tabung. Konsentrasi paling rendah yang tidak menunjukkan kekeruhan adalah KHM.
- Jumlah koloni pada *original inoculum* dihitung dengan menggunakan *colony counter*.
- Untuk mengetahui KBM, lakukan penggoresan dari seluruh tabung pada media NAP, kemudian diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}$ - $37,5^{\circ}$  C selama 18-24 jam.

- Setelah 18-24 jam hitung jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh dengan *colony counter*, konsentrasi terendah dengan jumlah koloni kurang dari 0,1% *original inoculum* adalah KBM.





Gambar 4.1 Alur Kerja Penelitian

#### 4.9 Analisis Data

Dari data yang diperoleh dapat dibuat grafik yang menggambarkan adanya hubungan antara larutan ekstrak daun Inggau dalam berbagai konsentrasi dengan tingkat kekeruhan larutan suspensi fungi uji, dimana semakin tinggi konsentrasi larutan yang digunakan, maka semakin jernih larutan suspensi fungi uji. Sebelum dilakukan analisis data, terlebih dahulu dilakukan uji normalitas untuk mengetahui normalitas sebaran data dan uji homogenitas untuk mengetahui varians data termasuk dalam golongan homogen atau tidak. Apabila uji normalitas dan uji homogenitas menunjukkan bahwa data sebarannya normal dan homogen maka dilanjutkan dengan uji *one way* ANOVA, apabila sebaliknya dilakukan uji *Kruskal Wallis*.

Analisis data menggunakan uji statistik dengan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha < 0,05$ ). Uji statistik ini digunakan untuk mengetahui pengaruh pemberian berbagai macam konsentrasi larutan ekstrak daun Inggau terhadap jumlah koloni fungi *Candida albicans*. Sedangkan untuk mengetahui hubungan antara peningkatan konsentrasi ekstrak dengan penurunan jumlah koloni jamur digunakan uji regresi linier sederhana dengan taraf kepercayaan 95%.

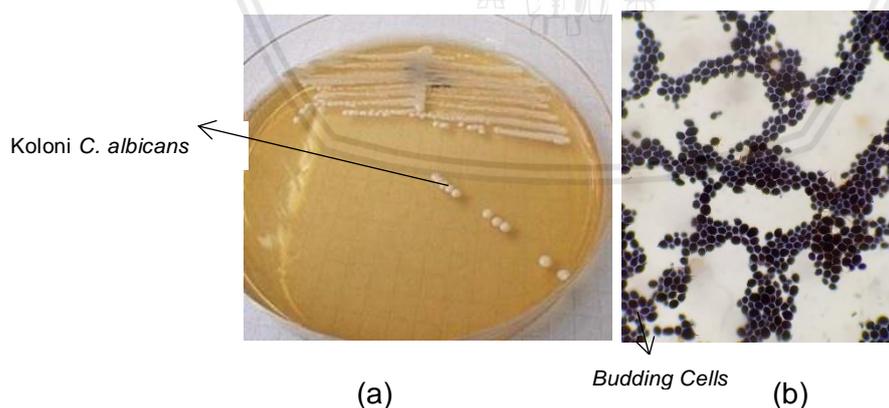
## BAB 5

## HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

## 5.1 Hasil Identifikasi Fungi

*Candida albicans* yang digunakan pada penelitian ini diperoleh dari stok milik Laboratorium Mikrobiologi FKUB Malang. Sediaan fungi ini di-*streaking* ulang di media *Sabraud Dextrose Agar* (SDA). Fungi ini kemudian dilakukan identifikasi dengan pewarnaan Gram. Hasil pengamatan pada medium SDA menunjukkan gambaran koloni *Candida albicans* yang berbentuk bulat dengan permukaan sedikit cembung seperti yang terlihat pada Gambar 5.1a. Teksturnya halus dan licin. Koloni berwarna putih kekuningan dan berbau seperti tape.

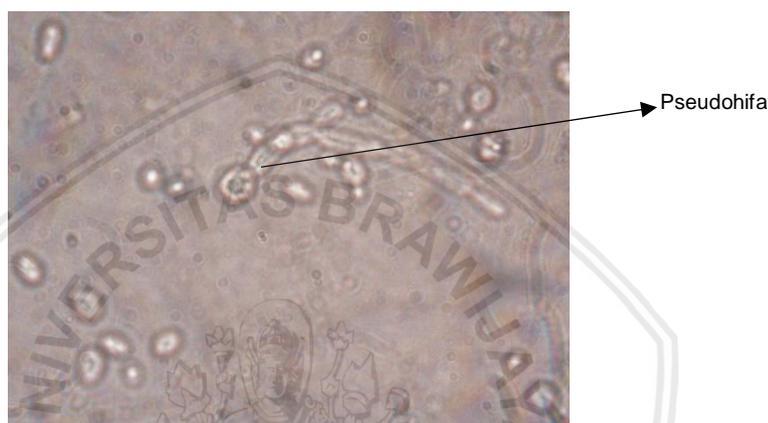
Hasil perwarnaan Gram dan pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000x, didapatkan bentukan *budding cells* berwarna ungu yang menandakan kalau fungi ini memiliki struktur dinding sel yang dapat menyerap warna ungu dari *Crystal violet* seperti terlihat pada Gambar 5.1b.



Gambar 5.1 Morfologi Koloni dan Sel *Candida albicans*

(a) Koloni *Candida albicans* pada Medium SDA yang berwarna putih kekuningan dan permukaannya sedikit cembung; (b) Gambaran Mikroskopis Fungi *Candida albicans* pada Pengecatan Gram Menunjukkan Sifat Gram Positif dan Terdapat *Budding Cells*

Setelah dilakukan pewarnaan Gram, dilakukan Uji *germinating tube* yang bertujuan untuk membedakan *Candida albicans* dengan jenis *Candida* lainnya. Uji ini telah dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Brawijaya. Pada pengamatan didapati bentukan pseudohifa memanjang khas *Candida albicans* seperti terlihat pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Hasil Identifikasi *Candida albicans* dengan Uji *Germ Tube*

Pada hasil uji *germ tube* didapatkan gambaran pseudohifa khas *Candida albicans* yang bentuknya memanjang

## 5.2 Gambaran Ekstrak Daun Inggu

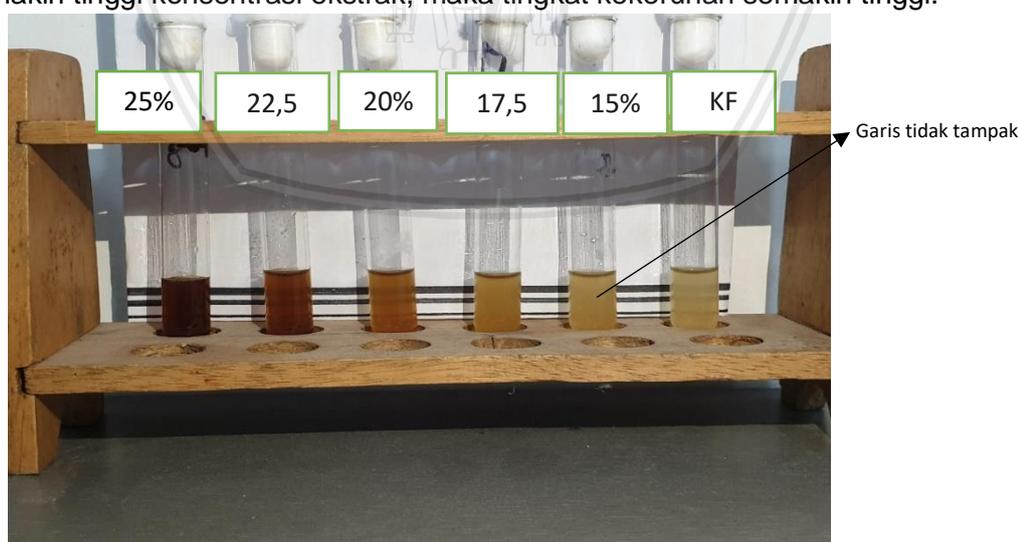
Ekstrak daun inggu berwarna hijau kecoklatan dan keruh. Ekstraknya kental dan sukar larut dalam air.

## 5.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan dan Analisis terhadap KHM

Pada penelitian ini digunakan lima macam konsentrasi ekstrak daun inggu yaitu 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, 25%, dan konsentrasi 0% sebagai kontrol fungsi atau fungsi tanpa ekstrak. KHM (Kadar Hambat Minimal) adalah kadar terkecil dari antifungi dalam hal ini ekstrak daun inggu, yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan fungi. KHM diamati dengan melihat garis yang diletakkan dari

belakang tabung dengan jelas. Garis ini diamati pada tabung yang telah diinkubasi selama kurang lebih 18 jam.

Berdasarkan hasil pengamatan, semua tabung menunjukkan kekeruhan, sehingga KHM tidak dapat ditentukan. Penyebab dari kekeruhan ini diduga antara lain karena adanya perlakuan asam berlebih yang kemungkinan terdapat pada etanol selaku pelarut ekstraksi. Etanol memiliki pH yang hampir sama dengan air, tetapi bisa lebih asam. Saponin, tanin dan zat aktif lainnya yang terdapat dalam ekstrak daun inggu kelarutannya akan meningkat apabila diberi perlakuan asam. Hal ini terjadi karena ion positif pada asam yang menyebabkan zat yang semula bermuatan netral menjadi bermuatan positif, sehingga kelarutannya bertambah (Claudio *et al.*, 2015). Perlakuan asam berlebih akan menyebabkan terbentuknya gugus agliko saponin yang tidak dapat larut dalam air. Gugus ini hanya akan terbentuk dari hasil hidrolisis dalam suasana asam. Jadi, kekeruhan bukan disebabkan karena ada atau tidaknya fungi tetapi karena konsentrasi ekstrak. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak, maka tingkat kekeruhan semakin tinggi.



Gambar 5.3 Hasil Pengamatan Kekeruhan Isolat *Candida albicans*

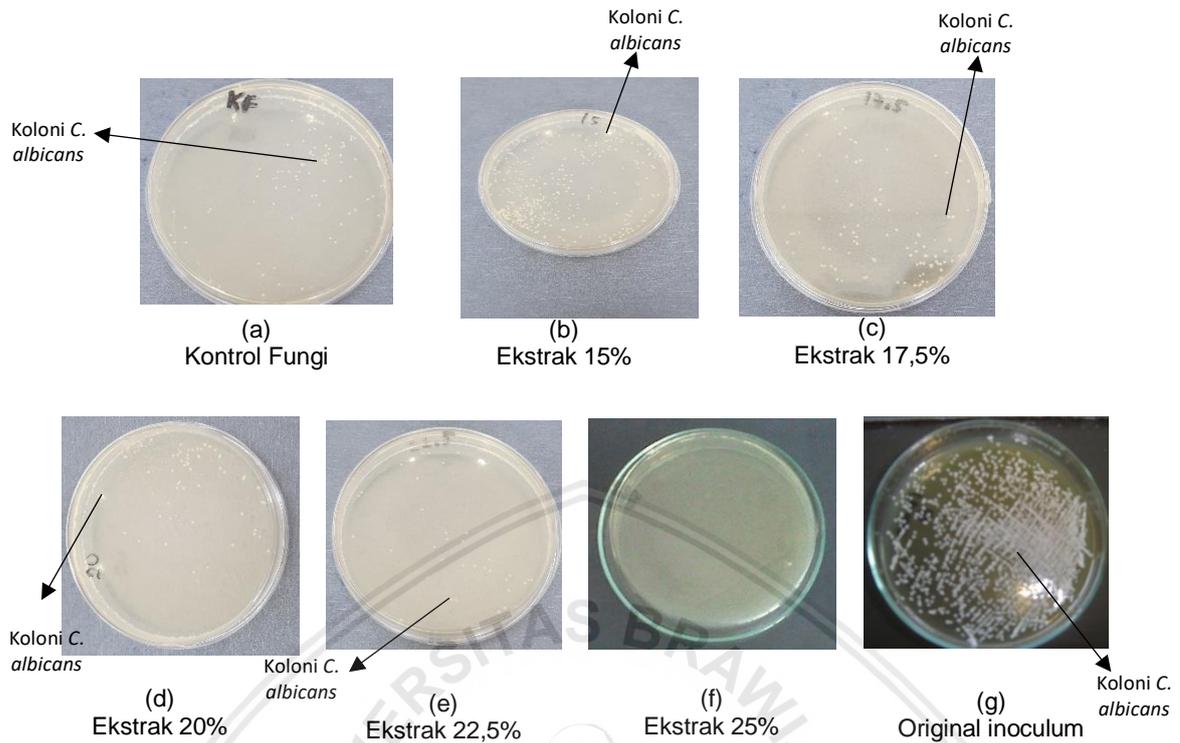
Setelah diinkubasi didapatkan tabung yang keruh ditandai dengan tidak tampaknya ketiga garis di belakang tabung. Dari hasil ini maka KHM tidak dapat ditentukan.

#### 5.4 Hasil Penentuan KBM dan Analisis terhadap KBM

Setelah tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C dan diamati tingkat kekeruhannya untuk melihat KHM, tiap konsentrasi ekstrak tersebut diinokulasi pada SDA. Kemudian, SDA diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi SDA dihitung keesokan harinya dengan menggunakan *colony counter* dengan empat pengulangan.

KBM (Kadar Bunuh Minimal) adalah kadar terendah dari antifungi yang dapat membunuh fungi (ditandai dengan tidak tumbuhnya kuman pada SDA) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*original inoculum/OI*) pada medium SDA yang telah dilakukan penggoresan sebanyak satu ose (1 µl) (Tille, 2018). Hasil streaking fungi pada SDA dapat dilihat pada Gambar 5. 4.

Dari hasil pertumbuhan dan penghitungan koloni keempat isolat fungi *Candida albicans* tersebut dapat ditentukan kadar bunuh minimal dari ekstrak daun inggu, yaitu tidak tumbuhnya koloni atau jumlah koloni < dari 0,1% dari *original inoculum* pada SDA. Pada penelitian ini untuk kontrol fungi dilakukan pengenceran sebanyak 3 kali untuk memudahkan penghitungan jumlah koloni fungi, sehingga jumlah total kontrol fungi yang tampak pada *plate* nantinya akan dikalikan dengan 1000. Hasil penghitungan koloni yang tumbuh di SDA pada masing-masing dapat dilihat pada Tabel 5.1. Jumlah koloni dihitung dengan menggunakan *colony counter*.



Gambar 5.4 Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* pada *Sabouraud Dextrose Agar*

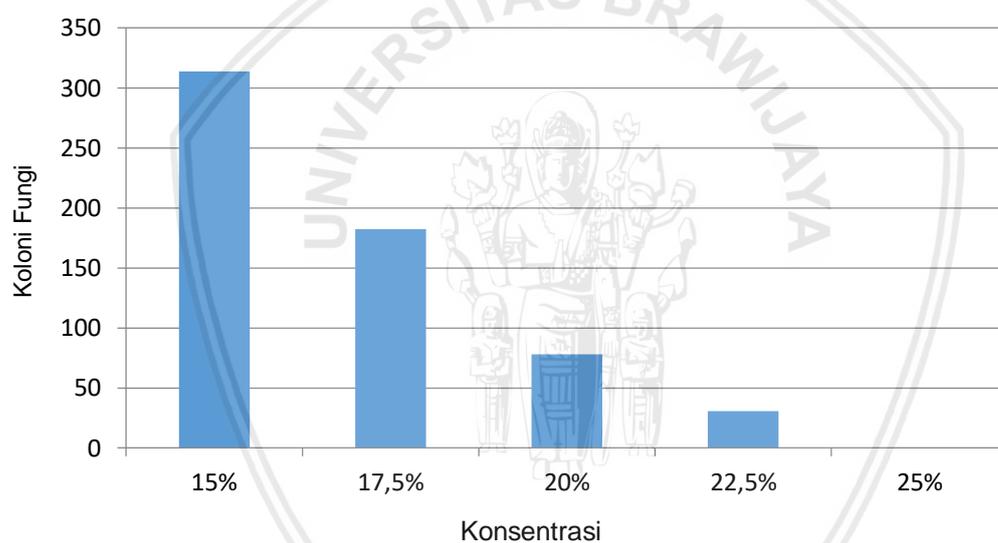
Semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun inggu, semakin sedikit jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada medium SDA.

Tabel 5.1 Hasil Penghitungan Koloni Fungi yang Tumbuh Pada SDA

KONSENTRASI EKSTRAK	JUMLAH KOLONI PER ISOLAT				RATA – RATA
	Ulangan I	Ulangan II	Ulangan III	Ulangan IV	
0%	∞	∞	∞	∞	∞
15%	505	501	491	485	495,5
17,5%	112	96	90	85	95,75
20%	72	70	69	65	69
22,5%	37	29	27	25	29,5
25%	0	0	0	0	0
OI	2335	1997	2201	2217	2187.5

Keterangan: ∞ = Tidak terbatas (tidak bisa dihitung karena terlalu banyak)  
OI = *Original Inoculum* (kontrol fungi yang telah diinkubasi untuk pembandingan dalam penghitungan koloni)

Data pada Gambar 5.4 dan Tabel 5.1 yang merupakan data hasil perhitungan jumlah koloni dibuat grafik rerata jumlah koloni yang menunjukkan hubungan antara pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun inggu dengan jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada medium SDA. Grafik rerata jumlah koloni menunjukkan adanya penurunan yang berarti pada peningkatan ekstrak daun inggu. Untuk mengetahui gambaran interaksi antara perubahan konsentrasi ekstrak terhadap rata-rata jumlah koloni, maka dapat dilihat pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Grafik Hasil Jumlah Koloni Tiap Isolat terhadap Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Inggu

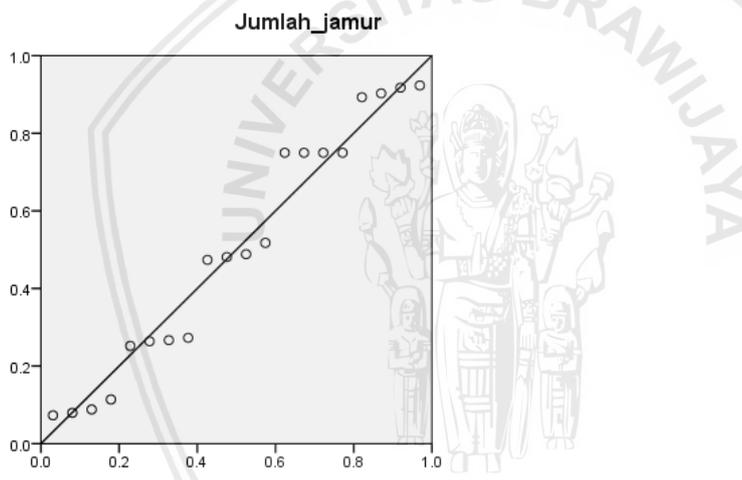
Adanya penambahan konsentrasi sebesar 2,5% menyebabkan penurunan jumlah koloni fungi yang signifikan

## 5.5 Analisis Data

Hasil penelitian ini dianalisis menggunakan analisis statistik SPSS versi 16.0 untuk *windows*. Dalam perhitungan hasil penelitian ini digunakan taraf kepercayaan 95% ( $\alpha = 0,05$ ).

### 5.5.1 Uji Normalitas dan Homogenitas

Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui sebaran data penelitian yang telah diambil, apakah sebarannya normal atau tidak. Dari hasil analisis statistik didapatkan data berada di dekat garis diagonal yang berarti data memiliki sebaran yang normal. Setelah dilakukan uji normalitas, dilanjutkan dengan dilakukannya uji homogenitas untuk mengetahui apakah variansi data penelitian sama atau tidak. Hasil yang didapatkan menunjukkan signifikansi diatas 0,05 sehingga dapat disimpulkan data memiliki variansi yang homogen.



Gambar 5.6 Hasil Uji Normalitas dengan *Probability Plot*

#### Uji Homogenitas

Levene Statistic	Signifikansi
2,690	0,072

Tabel 5.1. Hasil Uji Homogenitas

### 5.5.2 Uji *One-Way ANOVA*

*One-Way ANOVA* merupakan pengujian untuk membandingkan rata-rata jumlah fungi pada masing-masing konsentrasi ekstrak daun inggu. Dari hasil uji

*One-Way ANOVA* (Lampiran 3.1) didapatkan angka signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ). Hal ini berarti efek perubahan konsentrasi ekstrak daun inggu terhadap jumlah koloni rata-rata empat isolat *Candida albicans* adalah berbeda secara signifikan pada taraf kepercayaan 95%.

ANOVA	
	Signifikansi
Antar Kelompok	0,000
Dalam Kelompok	
Total	

Tabel 5.2 Hasil Uji One-Way ANOVA

### 5.5.3 Uji *Post Hoc Tukey*

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparisons*). Uji ini menentukan rata-rata jumlah fungi pada setiap konsentrasi daun inggu berbeda secara signifikan atau tidak. Dari hasil uji *Post Hoc Tukey* (lampiran 3.2) dapat diketahui bahwa ada perbedaan yang signifikan di setiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ).

Untuk mengetahui kelompok konsentrasi mana yang rata-ratanya tidak berbeda dilakukan uji lanjut *Homogenous Subsets* pada lampiran 3.3. asil *Post Hoc test (Tukey's Test)* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan jumlah koloni fungi *Candida albicans* yang dihasilkan pada medium SDA antara berbagai konsentrasi ekstrak daun inggu ( $p < 0.05$ ).

Perbandingan Berganda

jumlah\_jamur  
LSD

(i) konsentrasi	(j) konsentrasi	Perbedaan rata-rata	Std. Error	Sig.	Taraf Kepercayaan 95%	
					Batas atas	Batas bawah
konsentrasi 15%	konsentrasi 17.5%	399.750 <sup>*</sup>	5.075	.000	388.93	410.57
	konsentrasi 20%	426.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	415.68	437.32
	konsentrasi 22.5%	466.000 <sup>*</sup>	5.075	.000	455.18	476.82
	konsentrasi 25%	495.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	484.68	506.32
konsentrasi 17.5%	konsentrasi 15%	-399.750 <sup>*</sup>	5.075	.000	-410.57	-388.93
	konsentrasi 20%	26.750 <sup>*</sup>	5.075	.000	15.93	37.57
	konsentrasi 22.5%	66.250 <sup>*</sup>	5.075	.000	55.43	77.07
	konsentrasi 25%	95.750 <sup>*</sup>	5.075	.000	84.93	106.57
konsentrasi 20%	konsentrasi 15%	-426.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	-437.32	-415.68
	konsentrasi 17.5%	-26.750 <sup>*</sup>	5.075	.000	-37.57	-15.93
	konsentrasi 22.5%	39.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	28.68	50.32
	konsentrasi 25%	69.000 <sup>*</sup>	5.075	.000	58.18	79.82
konsentrasi 22.5%	konsentrasi 15%	-466.000 <sup>*</sup>	5.075	.000	-476.82	-455.18
	konsentrasi 17.5%	-66.250 <sup>*</sup>	5.075	.000	-77.07	-55.43
	konsentrasi 20%	-39.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	-50.32	-28.68
	konsentrasi 25%	29.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	18.68	40.32
konsentrasi 25%	konsentrasi 15%	-495.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	-506.32	-484.68
	konsentrasi 17.5%	-95.750 <sup>*</sup>	5.075	.000	-106.57	-84.93
	konsentrasi 20%	-69.000 <sup>*</sup>	5.075	.000	-79.82	-58.18
	konsentrasi 22.5%	-29.500 <sup>*</sup>	5.075	.000	-40.32	-18.68

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

Tabel 5.3 Hasil Uji *Post Hoc*.

#### 5.5.4 Uji Korelasi dan Regresi

Uji Korelasi (Lampiran 4.1) menunjukkan angka signifikansi 0.000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti terdapat hubungan yang bermakna antara pemberian ekstrak daun inggu dengan jumlah koloni fungi *Candida albicans*. Besar koefisien korelasi *Pearson* yaitu  $R = -0,822$ . Tanda negatif menunjukkan hubungan yang terbalik yaitu bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun inggu maka semakin sedikit jumlah koloni fungi yang tumbuh, dan sebaliknya. Nilai 0,822 menunjukkan bahwa

terdapat hubungan antara perlakuan konsentrasi dengan pertumbuhan fungi (nilai lebih dari 0,5).

Analisis regresi digunakan untuk mengukur besarnya pengaruh satu variabel bebas terhadap variabel tergantung. Dalam penelitian ini uji regresi digunakan untuk mengetahui sejauh mana hubungan antara peningkatan konsentrasi dengan kemampuan penghambatan terhadap koloni.

Koefisien Determinasi R Kuadrat ( $R^2$ ) sebesar 0,676 berarti bahwa kontribusi pemberian ekstrak daun inggu dalam menurunkan jumlah koloni fungi *Candida albicans* sebesar 67,6% sedangkan sisanya 32,4% disebabkan oleh faktor-faktor lain yang tidak diteliti. Faktor-faktor tersebut bisa merupakan akibat dari lama penyimpanan ekstrak atau akibat resistensi fungi itu sendiri..

Hubungan antara perubahan konsentrasi ekstrak daun inggu dengan pertumbuhan koloni fungi *Candida albicans* dapat dinyatakan dengan rumus  $Y = 455.125 - 105.725X$ . Y adalah jumlah koloni fungi *Candida albicans* sedangkan X adalah konsentrasi ekstrak daun inggu. Hal ini berarti tanpa pemberian ekstrak daun inggu maka jumlah koloni *Candida albicans* yang dihasilkan di medium SDA akan meningkat konstan yaitu 455.125. Dengan pengaruh ekstrak maka setiap peningkatan konsentrasi ekstrak daun inggu sebesar 1% justru menyebabkan penurunan jumlah koloni fungi hingga 105.725 koloni fungi.

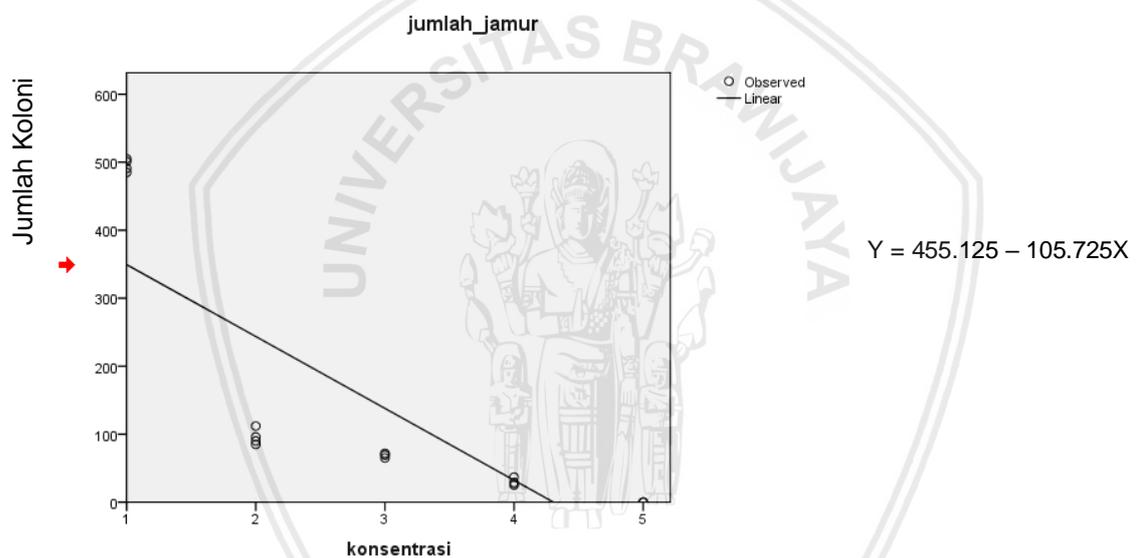
#### Uji Korelasi

Model	Koefisien Korelasi (R)	Koefisien Determinasi ( $R^2$ )
1	0,822	0,676

Uji Regresi

Model	Koefisien Tidak		Signifikansi
	Terstandard		
1	B	Standar	0,000
		Error	
	455.125	57,224	
	-105.725	17,254	

Tabel 5.4 Hasil Uji Korelasi dan Regresi



Gambar 5.7 Grafik Persamaan Linier Uji Regresi dari Jumlah Koloni *Candida albicans* terhadap Konsentrasi Ekstrak Daun Inggu

Pada grafik dapat disimpulkan tanpa pemberian ekstrak daun inggu maka jumlah koloni *Candida albicans* akan meningkat konstan sebesar 455.125 dan setiap peningkatan konsentrasi ekstrak daun inggu sebesar 1% menyebabkan penurunan jumlah koloni fungsi hingga 105.725 koloni fungsi.

## BAB 6

### PEMBAHASAN

#### 6.1 Penelitian Pendahuluan

Sebelum dimulai penelitian, dilakukan uji eksplorasi terlebih dahulu untuk mendapatkan konsentrasi perlakuan. Berdasarkan hasil uji eksplorasi didapatkan pada konsentrasi 25% sudah tidak didapatkan pertumbuhan koloni fungi *Candida albicans*. Lalu dilakukan perapatan dosis dengan selisih 2,5% yaitu, konsentrasi 15%, 17,5%, 20%, 22,5%, dan 25%. Hasilnya pada konsentrasi 25% tidak didapatkan adanya pertumbuhan koloni fungi.

#### 6.2 KHM (Kadar Hambat Minimum)

Berdasarkan hasil pengamatan, KHM tidak dapat ditentukan karena semua tabung menunjukkan kekeruhan. Penyebab dari kekeruhan ini kemungkinan antara lain karena banyaknya zat-zat aktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun inggu, sehingga cairan ekstrak sangat kental dan keruh. Saat sebelum dan setelah diinkubasi terlihat pola bahwa semakin tinggi konsentrasi, hasil dilusi tabung akan semakin keruh, karena kandungan ekstrak dalam tabung menjadi lebih banyak.

#### 6.3 KBM (Kadar Bunuh Minimum)

Berdasarkan hasil goresan / *streaking* dan inkubasi selama 18-24 jam pada masing-masing konsentrasi dilusi tabung pada SDA menunjukkan bahwa pada konsentrasi 25% tidak terdapat pertumbuhan fungi. Pada dosis 15%, 17,5%, 20%, dan 22,5% masing – masing dihitung jumlah koloninya menggunakan *colony counter*. Pada setiap konsentrasi terdapat perbedaan jumlah koloni fungi seperti

yang terlihat pada Tabel 5.1. Didapatkan jumlah koloni fungi yang berbeda di tiap pengulangan.

#### **6.4 Penelitian terkait Daun Inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) dan *Candida albicans***

Daun inggu merupakan daun yang sudah sangat sering sekali dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat. Khasiatnya sebagai tanaman herbal sudah dimanfaatkan untuk menyembuhkan berbagai penyakit seperti mengurangi inflamasi, anti kejang, membunuh parasit, dan juga sebagai antibakteri. Penelitian tahun 2017 menunjukkan bahwa kandungan saponin dan tanin pada daun inggu merupakan kombinasi yang baik apabila dimanfaatkan sebagai antifungi (Dyah, 2017).

Daun inggu belum pernah dilakukan uji coba secara *in vitro* terhadap *Candida albicans* sebelumnya. Daun Inggu hanya pernah diuji cobakan fraksi non polarnya yang terdiri dari kumarin, flavonoid, terpenoid dan alkaloid pada larvasida *Anopheles aconitus* dan *Anopheles maculatus*. Hasilnya didapatkan efektivitas yang baik pada ekstrak etanol daun inggu ini (Fania, 2013).

Pada tahun 2017, telah dilakukan penelitian tentang efek antifungi beberapa tanaman yang salah satunya adalah daun inggu terhadap *Malazzesia furfur* yang diketahui merupakan penyebab ketombe pada rambut manusia. Penelitian tersebut merupakan kali pertama daun inggu dimanfaatkan sebagai antifungi setelah beberapa penelitian sebelumnya, daun inggu hanya digunakan untuk antibakteri dan juga anti parasit.

Tabel 6.1 Hasil Uji Fitokimia pada beberapa Jenis Tanaman

**Tabel 1. Hasil Uji Skrining Fitokimia**

No	Sampel	Alkaloid	Flavonoid	Kuinon	Saponin	Tanin
1	Daun apukat	+	+	+	-	+
2	Daun bambu tali	-	+	-	+	-
3	Daun dadap serep	+	+	-	+	+
4	Daun inggu	+	+	+	+	+
5	Biji jintan hitam	+	-	+	+	+
6	Daun johar	+	+	+	+	+
7	Daun komak	-	+	+	+	+
8	Daun nagasari	+	+	+	+	+
9	Kulit buah pisang	+	+	+	-	+
10	Daun sidaguri	-	+	+	-	+
11	Daun kethuk	-	+	+	-	-
12	Daun tomat	+	-	+	+	-

Menurut penelitian yang dilakukan Noer di tahun 2018 didapatkan kadar saponin, tanin dan flavonoid dari daun inggu berturut-turut adalah 2,13%, 7,04%, dan 1,67% (Noer *et al*, 2018). Dari penelitian ini dapat disimpulkan bahwa saponin dan tanin memiliki kadar yang lumayan besar di dalam daun inggu dan mendukung hipotesis bahwa daun inggu dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal.

Penelitian-penelitian pada tahun sebelumnya banyak yang mencoba herbal lain untuk menghambat dan membunuh koloni *Candida albicans* secara *in vitro*. Salah satunya adalah pemanfaatan daun sirih hijau (*Piper betle* L.) dan daun sirih merah (*Piper procatum*). Hasil dari penelitian ini membuktikan bahwa daun sirih hijau dan merah mampu menghambat pertumbuhan koloni fungi ini dengan zona hambat masing-masing sebesar 28,71 mm dan 15,46 mm (Gunawan *et al.*, 2015).

Selain daun sirih, adapula penelitian yang memanfaatkan kandungan minyak atsiri yang terdapat pada tanaman cengkeh untuk dijadikan antifungi. Setelah dilakukan penelitian dapat disimpulkan KHM nya sebesar 0,5% dengan diameter zona hambat sebesar 5,67 mm (Mbatu *et al.*, 2018). Adapula yang mencoba meneliti manfaat daun dewa (*Gynura pseudochina*). Hasilnya didapatkan KHM pada konsentrasi 10% (Erwid, 2018).

Hasil serupa didapatkan pada penelitian menggunakan ekstrak air kayu secang (*Caesalpinia sappan* L.). Pada penelitian ini dapat ditarik kesimpulan bahwa ekstrak air kayu secang mampu menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans* dengan KHM sebesar 20%. KHM ini ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar lubang perforasi pada bahan uji (Karlina *et al.*, 2016).

Pada tahun 2018 silam juga dilakukan percobaan menggunakan kulit durian (*Durio zibethinus* L.) untuk menghambat pertumbuhan *Candia albicans*. Dari penelitian ini didapatkan hasil bahwa fraksi polar dari kulit durian mampu menekan angka pertumbuhan fungi ini pada konsentrasi 8%. Fraksi polar kulit durian ini telah diteliti dan mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, dan alkaloid. Untuk menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*, senyawa yang paling efektif adalah flavonoid (Mulyani *et al.*, 2019).

Dari sekian banyak tanaman yang telah dicoba dan memiliki efek sebagai fungistatik, adapula tanaman yang tidak menunjukkan aktivitas antifungi apapun seperti penelitian menggunakan daun kelor ini. Daun kelor (*Moringa oleifera* Lamk.) juga masuk ke dalam jajaran tanaman herbal yang telah diujicoba khasiatnya sebagai antifungi di tahun 2015. Tetapi, sesuai hasil penelitian daun kelor tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans*. Hal ini diduga karena senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada daun kelor bukan merupakan flavonoid golongan flavanon dan flavan sehingga tidak memiliki aktivitas natifungi yang cukup poten. Selain itu saponin yang terkandung juga memiliki terlalu banyak gugus gula sehingga tidak cukup mampu untuk merusak permeabilitas membran fungi ini (Kurniawan, 2015).

Ekstrak kulit batang banyuru (*Pterospermum celebicum* Miq.) dan ekstrak lengkuas (*Alpinia galangal* (L.) Willd.) pernah diuji efektivitas antifunginya terhadap

*Candida albicans*. Hasilnya kedua ekstrak ini tidak memiliki efek antifungi terhadap fungi penyebab kandidiasis ini. Pada penelitian ini dilakukan kombinasi kedua ekstrak tersebut untuk mengetahui potensiasinya sebagai antifungi. Setelah diuji pada *Candida albicans*, hasilnya masih tidak ada aktivitas antifungi terhadap fungi ini (Marzuki *et al.*, 2018).

**Tabel 6.2** Komparasi Penelitian Pendahuluan terkait *Candida albicans* dan Daun Inggu.

No	Tanaman yang Dimanfaatkan sebagai Ekstrak	Mikroorganisme yang Digunakan	KHM	KBM
1	Daun sirih hijau ( <i>Piper betle</i> L.) dan daun sirih merah ( <i>Piper procatum</i> )	<i>Candida albicans</i>	+	-
2	Cengkeh ( <i>Syzygium aromaticum</i> )	<i>Candida albicans</i>	+	-
3	Daun dewa ( <i>Gynura pseudochina</i> )	<i>Candida albicans</i>	+	-
4	Air kayu secang ( <i>Caesalpinia sappan</i> L.)	<i>Candida albicans</i>	+	-
5	Kulit durian ( <i>Durio zibethinus</i> L.)	<i>Candida albicans</i>	+	-
6	Daun kelor ( <i>Moringa oliifera</i> Lamk.)	<i>Candida albicans</i>	-	-
7	Kulit batang banyuru ( <i>Pterospermum celebicum</i> Miq. )	<i>Candida albicans</i>	-	-
8	Lengkuas ( <i>Alpinia galangal</i> (L.) Willd. )	<i>Candida albicans</i>	-	-

9	Daun inggu ( <i>Ruta angustifolia</i> (L.) Pers.)	<i>Candida albicans</i>	+	*	+
---	---	-------------------------	---	---	---

Keterangan : \* = KHM ada tetapi tidak bisa ditentukan dengan metode dilusi tabung.

Berdasarkan tabel tersebut, dapat ditarik kesimpulan bahwa dibandingkan dengan penelitian-penelitian sebelumnya, ekstrak etanol daun inggu pada penelitian ini memiliki potensiasi yang sangat baik. Kebanyakan ekstrak hanya dapat menghambat pertumbuhan koloni tetapi tidak mampu membunuh *Candida albicans*. Berbeda dengan ekstrak etanol daun inggu yang mampu menghambat dan membunuh koloni fungi ini karena memiliki dua kandungan utama yaitu saponin dan tanin. Saponin yang memiliki cara kerja mendisrupsi membran sel jamur ini memiliki mekanisme kerja yang sama dengan Nystatin selaku obat pilihan utama untuk kandidiasis. Sementara tanin yang bekerja menghambat pembentukan dinding sel jamur memiliki mekanisme kerja yang sama dengan Fluconazole yang juga merupakan terapi utama kandidiasis. Gabungan mekanisme kerja kedua zat ini sangat sinergis dalam menghambat serta membunuh koloni *Candida albicans* secara *in vitro*.

Pada penelitian ini dipilih ekstrak etanol dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman sampel dengan pelarut organik yang digunakan pada temperatur ruangan. Maserasi merupakan teknik yang menguntungkan karena alat-alat yang digunakan sederhana, biayanya relatif rendah, prosesnya relatif hemat penyari dan juga tanpa melalui proses pemanasan. Teori dari maserasi ini adalah ketika bahan yang akan dilakukan maserasi direndam dalam pelarut yang diinginkan misalnya air atau etanol, maka cairan pelarut akan menembus dinding sel. Di dalam dinding sel, terdapat zat aktif

yang dibutuhkan dalam proses ekstraksi. Pertemuan antara pelarut dan zat aktif di dalam dinding sel tersebut yang memediasi terjadinya pelarutan (Luigi, 2015).

### 6.5 Mekanisme Antifungi Daun Inggu

Mekanisme aksi dari obat antifungi bermacam-macam, dapat melalui gangguan pada membran sel, penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel fungi, penghambatan sintesis protein fungi, dan penghambatan mitosis fungi. Beberapa literatur dari penelitian terdahulu menyebutkan bahwa kandungan saponin dan tanin pada daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) memiliki efek antifungi. Senyawa saponin bekerja sebagai antifungi dengan menurunkan tegangan permukaan (*surface tension*) membran sterol dari *Candida albicans*. Sedangkan tanin memiliki kemampuan menghambat sintesis *chytin* yang digunakan untuk pembentukan dinding sel pada fungi.

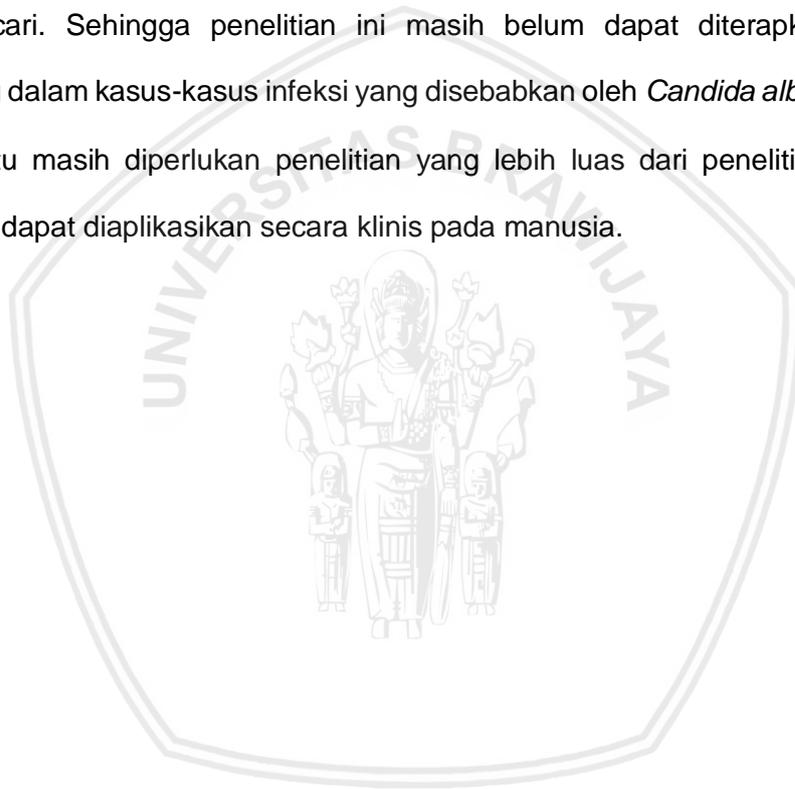
### 6.6 Keterbatasan Penelitian

Penelitian antifungi yang terdapat pada daun inggu ini memiliki keterbatasan, yaitu etanol yang dipakai sebagai pelarut belum dipastikan pH nya sebelum digunakan sehingga dapat menimbulkan keadaan asam apabila pH nya dibawah netral. Keadaan asam ini yang berpengaruh terhadap kekeruhan ekstrak karena adanya peningkatan kelarutan zat aktif akibat perlakuan asam yang berlebih. Selain itu, diperlukan adanya studi eksplorasi yang lebih lanjut terkait penyebab kekeruhan ekstrak etanol ini.

Penelitian ini memiliki validitas internal yang tinggi ditandai dengan hubungan sebab akibat yang kuat berdasarkan analisis data dengan uji ANOVA.

Namun, penelitian ini belum dapat diaplikasikan secara *general*, dengan kata lain memiliki validitas eksternal yang rendah.

Uji lanjutan mengenai farmakokinetik, farmakodinamik, toksisitas, efek samping juga uji secara *in vivo* dari ekstrak ini sendiri masih diperlukan. Selain itu, perbedaan geografi antar negara dan antar daerah dalam satu negara, perlu diperhitungkan. Begitu juga dengan metode ekstraksi yang lebih efektif masih perlu dicari. Sehingga penelitian ini masih belum dapat diterapkan secara langsung dalam kasus-kasus infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Oleh karena itu masih diperlukan penelitian yang lebih luas dari penelitian ini agar nantinya dapat diaplikasikan secara klinis pada manusia.



## BAB 7

### PENUTUP

#### 7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan maka dapat diambil kesimpulan bahwa :

- 7.1.1 Ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) mempunyai efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.
- 7.1.2 Kadar Hambat Minimum (KHM) ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) terhadap fungsi *Candida albicans* tidak dapat ditentukan pada penelitian ini, sedangkan Kadar Bunuh Minimum (KBM) ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) terhadap *Candida albicans* adalah pada konsentrasi 25%.

#### 7.2 Saran

- 7.2.1 Diperlukan penelitian lebih lanjut tentang KHM (Kadar Hambat Minimum) dari ekstrak daun inggu terhadap koloni *Candida albicans*.
- 7.2.2 Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai zat-zat aktif lainnya yang terdapat dalam daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) yang mempunyai efek sebagai antifungi.
- 7.2.3 Diperlukan penelitian lanjutan mengenai efek antifungi ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) secara *in vivo* pada berbagai hewan coba maupun *clinical trial* untuk melihat farmakodinamik, farmakokinetik dan toksisitas ekstrak daun inggu (*Ruta angustifolia* (L.) Pers) agar pemanfaatan ekstrak ini dapat diaplikasikan ke manusia.

- 7.2.4 Diperlukan studi eksplorasi lebih lanjut mengenai penyebab kekeruhan ekstrak etanol daun inggu.
- 7.2.5 Diperlukan adanya pengecekan pH terlebih dahulu sebelum menggunakan etanol sebagai pelarut ekstraksi agar bisa mengurangi salah satu penyebab kekeruhan ekstrak.



## DAFTAR PUSTAKA

- Anggraini, Akhfa Muntaha, 2017. *Uji Efektivitas Ekstrak Daun Rambutan (Nephelium lappaceum L.) terhadap Pertumbuhan Candida albicans*, (Online), (<http://repository.unimus.ac.id/802/>, diakses tanggal 29 September 2018).
- Antinori S, Millazzo L, Sollima S, Galli M, Corbellino M. 2016. *Candidemia and Invasive Candidiasis in Adults : A Narrative Review*. Eur J Intern Med.
- A S Shaleh, Fahrial , M L Siregar and K F Jamil, 2017. *CD4 Descriptions at Various Clinical HIV/AIDS Stages with Tuberculosis and Non-Tuberculosis Opportunistic Infections at dr. Zainoel Abidin Hospital in Banda Aceh, Indonesia*, (<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/125/1/012032/pdf>, diakses tanggal 29 September 2018).
- Atmojo, Dwi Susilo. 2011. *Ekstraksi (Pengertian, Prinsip Kerja, dan Jenis-jenis Ekstraksi)*, (Online), ([https://www.academia.edu/7395598/Ekstraksi\\_Pengertian\\_Prinsip\\_Kerja\\_jenis-jenis\\_Ekstraksi](https://www.academia.edu/7395598/Ekstraksi_Pengertian_Prinsip_Kerja_jenis-jenis_Ekstraksi), diakses tanggal 2 Desember 2018).
- Bonang, G, 1979, *Mikrobiologi Kedokteran*, 43, Jakarta: Gramedia Pustaka Utama.
- Brooks, G. F., Carroll, K. C., Butel, J. S., Morse, S. A., Mietzner, T. A. 2013. *Jawetz, Melnick & Adelberg's Medical Microbiology, 26th Edition*. New York : McGraw-Hill Education.
- Claudio, Marcia C. Neves, Karina Shimizu, Jose N. Canongia Lopes, Mara G. Freire, Joao P. 2015. *The Magic of Aqueous Solution of Ionic Liquids : Ionic Liquids as Powerful Class of Cationic Hydrotropes*, (Online), (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4568318/>, diakses tanggal 7 Juli 2019).
- Dalimartha S.1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia* jilid I. Jakarta.
- Dyah, Susilowati. 2017. *Eksplorasi Ekstrak Etanol Beberapa Tumbuhan Berpotensi sebagai Antiketombe*, (Online), (<http://jurnalnasional.ump.ac.id/index.php/JRST/article/view/1671>, diakses tanggal 29 September 2018).
- Erwid, Fatchur Rachman. 2018. *Efektivitas Daun Dewa (Gynura pseudochina) terhadap Pertumbuhan Candida albicans pada Plat Dasar Gigi Tiruan Resin Akrilik*.

- Frazier, R. A., Deaville, E. R., Green, R. J., Stringano, E., Willoughby, I., Plant, J., & Mueller-Harvey, I. 2010. Interactions of Tea Tannins and Condensed Tannins with Proteins. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*.
- Gunawan, Adi, Eriawati, Zuraidah. 2015. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Sirih (Piper sp) terhadap Pertumbuhan Jamur Candida albicans*.
- Heriyanty, 2008. *Patogenensis Kandidiasis Oral pada Penderita Diabetes Mellitus*. ([https://www.academia.edu/31999619/ASUHAN\\_KEPERAWATAN\\_kandidiasis\\_.docx](https://www.academia.edu/31999619/ASUHAN_KEPERAWATAN_kandidiasis_.docx), diakses tanggal 29 September 2018).
- Jiwintarum, Yunan,. Urip., Anas Fadli Wijaya., Maruni Wiwin Diarti. 2017. *Media Alami untuk Pertumbuhan Candida albicans Penyebab Kandidiasis dari Tepung Biji Kluwih (Artocarpus communis)*, (Online), (<http://poltekkes-mataram.ac.id/wp-content/uploads/2018/01/10.-Yunan-Jiwintarum.pdf>, diakses tanggal 27 Oktober 2018).
- Karlina, Yenni, Putranti Adirestuti, Dewi Melati Agustin, Nurul Lalily Fadhillah, Nida Fauziyyah, Desi Malita. 2016. *Pengujian Potensi Antijamur Ekstrak Air Kayu Secang terhadap Aspergillus niger dan Candida albicans*.
- Kayser, FH, Bienz, KA, Eckert, J & Zinkernagel, RM. 2005. *Fungi as Human Pathogens : Medical Microbiology*. New York : Thieme Stuttgart.
- Kenneth R, Ray G. 2015. *Sherris Medical Microbiology : An Introduction to Infectious Diseases*. United States of America: McGraw Hill.
- Kurniawan, Dwi. 2015. *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Antijamur Daun Kelor (Moringa oleifera Lamk) terhadap Candida albicans secara In Vitro*, (Online), (<https://media.neliti.com/media/publications/193617-ID-uji-aktivitas-antijamur-ekstrak-etanol-d.pdf>, diakses tanggal 27 Oktober 2018).
- Kusumo, G. G., Fernanda, M. H. F., & Asroriyah, H. 2017. *Identifikasi Senyawa Tanin Pada Daun Kemuning (Murraya panicullata L. Jack) dengan Berbagai Jenis Pelarut Pengekstraksi*. *Journal of Pharmacy and Science*.
- Lewis MAO & Phillip JL. 1998. *Tinjauan Klinis Penyakit Mulut*. Jakarta: Widya Medika.
- Luigi, Albrigi. 2015. *Maceration*, (Online), (<https://albrigiinherba.com/extraction/maceration/>, diakses tanggal 27 Oktober 2019).

- Marzuki, Asnah, M. Natsir Djide, Sartika, Rosany T. 2018. *Uji Aktivitas Ekstrak Kulit Batang Banyuru (Pterospermum celebicum Miq.) dan Ekstrak Lengkuas (Alpinia galangal (L.) Willd.) sebagai Antifungi terhadap Trichophyton rubrum, Candida albicans dan Aspergillus niger.*
- Materia Medica. 2019. *Determinasi Tanaman Daun Inggau.* Batu: Dinas Kesehatan Propinsi Jawa Timur UPT Materia Medica
- Mbatu, Rosanti Suryanti Tince, I Putu Bayu Kenanda, I Gede Yeyen Suharta, Wiwik Susannah Rita. 2018. *Aktivitas Minyak Atsiri Daun Cengkeh sebagai Antijamur terhadap Candida albicans.*
- Mulyani, Yuli Wahyu Tri, Subur Widodo, Lisa Selviani. 2019. *Fraksi Etanol Ekstrak Kulit Durian (Durio zibethinus L.) sebagai Antifungi terhadap Trichophyton mentagrophytes dan Candida albicans.*
- Murray, P.R., Rosenthal, K.S., Pfaller, M.A., 2016, *Medical Microbiology.* Philadelphia : Elsevier Mosby.
- Netala, Vasudeva Reddy, Sukendu B.G, Puspalatha B, Dandu A, Vijaya T. 2014. *Triterpenoid Saponins : A Review in Biosynthesis, Applications, and Mechanism of Their Action,* (Online), (<https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/2807/7596>, diakses tanggal 2 Desember 2018).
- New England Wild Flower Society, 2018. *Ruta graveolens,* (Online), (<https://gobotany.newenglandwild.org/species/ruta/graveolens/>, diakses tanggal 27 Oktober 2018).
- Noer, Shafa, Rosa, Efri. 2018. *Penetapan Kadar Senyawa Fitokimia (Tanin, Saponin Dan Flavonoid Sebagai Kuersetin) Pada Ekstrak Daun Inggau (Ruta angustifolia L., diakses tanggal 19 Oktober 2018).*
- Putri, Fania, 2013, *Aktivitas Larvasida Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Daun Inggau terhadap Larva Nyamuk Anopheles aconitus dan Anopheles maculatus beserta Prodil Kromatografinya,* diakses tanggal 22 September 2018.
- Rahayu, Eka. 2018. *Antibiotika, Resistensi, dan Rasionalitas Terapi,* (Online), (<http://ejournal.uin-malang.ac.id/index.php/sainstis/article/view/1861/pdf>, diakses tanggal 19 Oktober 2018).

- Richardson, Jaime Stella Moses. 2016. *Chalepin: Isolated from Ruta angustifolia L. Pers Induces Mitochondrial Mediated Apoptosis in Lung Carcinoma Cells*, (Online), ([https://www.researchgate.net/publication/309402536\\_Chalepin\\_Isolated\\_from\\_Ruta\\_angustifolia\\_L\\_Pers\\_induces\\_mitochondrial\\_mediated\\_apoptosis\\_in\\_lung\\_carcinoma\\_cells](https://www.researchgate.net/publication/309402536_Chalepin_Isolated_from_Ruta_angustifolia_L_Pers_induces_mitochondrial_mediated_apoptosis_in_lung_carcinoma_cells), diakses tanggal 27 Oktober 2018).
- Rudiyanto, Arif. 2018. *Inggus, Ruta angustifolia L*, (Online), (<https://www.biodiversitywarriors.org/isi-katalog.php?idk=3818&judul=Inggus>, diakses tanggal 27 Oktober 2018).
- Sarah G Whaley, Elizabeth R. Berkow, Jeffrey M, Rybak, Andrew T. Nishimoto, Katherine S. Barker, dan P. David Roger. 2017. *Azole Antifungal Resistance in Candida albicans and Emerging Non-Candida Species*, (Online), (<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.02173/full>, diakses tanggal 22 September 2018).
- Shaleh, Fahrial, ML Siregar, KF Jamil. 2017. CD4 Descriptions at Various Clinical HIV/AIDS Stages with Tuberculosis and Non-Tuberculosis Opportunistic Infections at dr. Zainoel Abidin Hospital in Banda Aceh, Indonesia, (Online), (<http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1755-1315/125/1/012032/pdf>, diakses tanggal 22 September 2018)
- Sobel JD. 2008. Vulvovaginal Candidiasis. In: Holmes KK, editor. *Sexually Transmitted Diseases*. 4th ed. New York : Mc Graw Hill
- Solimun. 2001. *Diktat Metodologi Penelitian LKIP dan PKM Kelompok Agrokompleks*. Malang : Universitas Brawijaya.
- Suhardi. 1992. "*Khitin dan Khitosan*", Pusat Antar Universitas Pangan dan Gizi UGM, Yogyakarta.
- Sunda. 2018. *Khasiat Obat dan Tanaman Daun Inggus*, (Online), (<https://asgar.or.id/health/makanan-dan-minuman-sehat/khasiat-obat-dan-manfaat-dari-tanaman-inggu/>, diakses tanggal 27 Oktober 2018).
- Tille, Patricia. 2018. *Bailey and Scott's Diagnostic Microbiology*. Fourteen edition. Philadelphia : Elsevier Mosby.
- Tortora, G.J, Funke, B.R., & Case, C.L. 2004. *Microbiology an Introduction*. Eight edition. San Fransisco : Benjamin Cummings.

Vyas JA. 2014. Endocarditis. Medline Plus. December 7, (Online), (<https://medlineplus.gov/ency/article/001098.htm>, diakses tanggal 25 September 2019).

Yang, Longfei. 2018. *Antifungal Effects of Saponin Extract drom Rhizomes of Dioscorea panthaica Prain et Burk against Candida albicans*, (Online), (<https://www.hindawi.com/journals/ecam/2018/6095307/abs/>, diakses tanggal 27 Oktober 2018).



LAMPIRAN 1

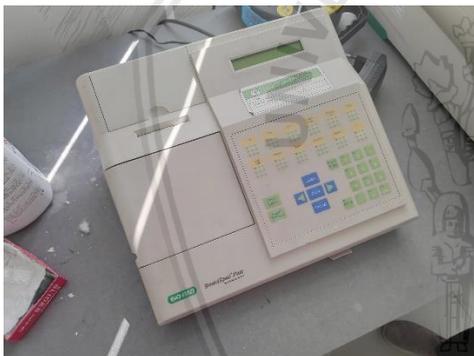
ALAT DAN BAHAN PENELITIAN



(a)



(b)



(c)



(d)

Gambar 1 (a) Vortex, Bunzen, Pipet ml, Ose, Tabung, Rak tabung, Pemantik; (b) Inkubator;

(c) Spektrofotometer; (d) Colony counter



Gambar 2 Daun Inggu

LAMPIRAN 2

UJI NORMALITAS DAN HOMOGENITAS

2.1 Uji Normalitas Sebaran Data untuk Jumlah Koloni

Untuk menguji apakah sampel penelitian mempunyai sebaran data yang normal, maka dalam penelitian ini digunakan uji *Shapiro-Wilk* terhadap tiap-tiap variabel.

**Tests of Normality<sup>b</sup>**

		Kolmogorov-Smirnov <sup>a</sup>			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
jumlah_jamur	konsentrasi 15%	.226	4	.	.946	4	.691
	konsentrasi 17.5%	.241	4	.	.926	4	.573
	konsentrasi 20%	.250	4	.	.953	4	.734
	konsentrasi 22.5%	.288	4	.	.887	4	.369

a. Lilliefors Significance Correction

b. jumlah\_jamur is constant when konsentrasi = konsentrasi 25%. It has been omitted.

Nilai signifikansi > 0.05 berarti bahwa distribusi data normal.

2.2 Uji Homogenitas Variansi Data Untuk Jumlah Koloni

**Test of Homogeneity of Variances**

imlh jamur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.690	4	15	.072

Nilai signifikansi = 0,072 ( $p > 0,05$ ) yang berarti data mempunyai ragam (varians) yang relatif homogen.



LAMPIRAN 3

ANALISIS One Way ANOVA

3.1 Oneway

ANOVA

jumlah\_jamur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	261734.700	4	65433.675	1.714E3	.000
Within Groups	572.500	15	38.167		
Total	262307.200	19			

Nilai signifikansi = 0,000 ( $p < 0,05$ ) yang berarti bahwa ada perbedaan signifikan pada perubahan konsentrasi terhadap jumlah koloni fungi.

3.2 Post Hoc Tests

Multiple Comparisons

jumlah\_jamur  
LSD

(I) konsentrasi	(J) konsentrasi	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
konsentrasi 15%	konsentrasi 17.5%	399.750*	5.075	.000	388.93	410.57
	konsentrasi 20%	426.500*	5.075	.000	415.68	437.32
	konsentrasi 22.5%	466.000*	5.075	.000	455.18	476.82
	konsentrasi 25%	495.500*	5.075	.000	484.68	506.32
konsentrasi 17.5%	konsentrasi 15%	-399.750*	5.075	.000	-410.57	-388.93
	konsentrasi 20%	26.750*	5.075	.000	15.93	37.57
	konsentrasi 22.5%	66.250*	5.075	.000	55.43	77.07
	konsentrasi 25%	95.750*	5.075	.000	84.93	106.57
konsentrasi 20%	konsentrasi 15%	-426.500*	5.075	.000	-437.32	-415.68
	konsentrasi 17.5%	-26.750*	5.075	.000	-37.57	-15.93
	konsentrasi 22.5%	39.500*	5.075	.000	28.68	50.32
	konsentrasi 25%	69.000*	5.075	.000	58.18	79.82
konsentrasi 22.5%	konsentrasi 15%	-466.000*	5.075	.000	-476.82	-455.18
	konsentrasi 17.5%	-66.250*	5.075	.000	-77.07	-55.43
	konsentrasi 20%	-39.500*	5.075	.000	-50.32	-28.68
	konsentrasi 25%	29.500*	5.075	.000	18.68	40.32
konsentrasi 25%	konsentrasi 15%	-495.500*	5.075	.000	-506.32	-484.68
	konsentrasi 17.5%	-95.750*	5.075	.000	-106.57	-84.93
	konsentrasi 20%	-69.000*	5.075	.000	-79.82	-58.18
	konsentrasi 22.5%	-29.500*	5.075	.000	-40.32	-18.68

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



Keterangan :

Dengan uji *Post Hoc Tukey* dapat diketahui perbedaan antar tiap pasangan kelompok sampel (konsentrasi dan jumlah koloni). Terdapat perbedaan yang signifikan hampir di setiap pasangan kelompok sampel yang ditunjukkan oleh angka signifikansi 0,000 ( $p < 0,05$ ).

### 3.3 Homogeneous Subsets

jumlah\_jamur

konsentrasi		N	Subset for alpha = 0.05				
			1	2	3	4	5
Tukey HSD <sup>a</sup>	konsentrasi 25%	4	.00				
	konsentrasi 22.5%	4		29.50			
	konsentrasi 20%	4			69.00		
	konsentrasi 17.5%	4				95.75	
	konsentrasi 15%	4					495.50
	Sig.			1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Keterangan :

Rata-rata perbedaan berada pada kolom yang berbeda menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna (signifikan).

## LAMPIRAN 4

## ANALISIS KORELASI DAN REGRESI

## 4.1 Correlations

Correlations

		jumlah_jamur	konsentrasi
jumlah_jamur	Pearson Correlation	1	-.822**
	Sig. (2-tailed)		.000
	N	20	20
konsentrasi	Pearson Correlation	-.822**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	
	N	20	20

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

Keterangan:

- Nilai signifikansi = 0,000 ( $p < 0,05$ ) menunjukkan adanya hubungan yang signifikan antara perlakuan dan jumlah koloni.
- Nilai koefisien korelasi ( $r = -0,822$ ) menunjukkan kekuatan korelasinya sangat kuat dan mempunyai hubungan terbalik.

## 4.2 Regression

**Variables Entered/Removed<sup>a</sup>**

Model	Variables Entered	Variables Removed	Method
1	konsentrasi <sup>a</sup>	.	Enter

a. All requested variables entered.

b. Dependent Variable: jumlah\_jamur

**Model Summary**

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.822 <sup>a</sup>	.676	.658	109.122

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

**ANOVA<sup>b</sup>**

Model		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
1	Regression	447111.025	1	447111.025	37.549	.000 <sup>a</sup>
	Residual	214335.925	18	11907.551		
	Total	661446.950	19			

a. Predictors: (Constant), konsentrasi

b. Dependent Variable: jumlah\_jamur

**Coefficients<sup>a</sup>**

Model		Unstandardized Coefficients		Standardized Coefficients	t	Sig.
		B	Std. Error	Beta		
1	(Constant)	455.125	57.224		7.953	.000
	konsentrasi	-105.725	17.254	-.822	-6.128	.000

a. Dependent Variable: jumlah\_jamur

Keterangan:

- Nilai signifikansi  $p < 0,05$  menunjukkan ada pengaruh yang signifikan antara variabel independen terhadap variabel dependen.
- Estimasi ekstrak yang dibutuhkan hingga tidak ada koloni fungi yang tumbuh (jumlah koloni = 0) adalah  $Y = 455.125 - 105.725X$ .

## LAMPIRAN 5

## SURAT KETERANGAN EKSTRAK DAUN INGGU

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

Jl. Soekarno - Hatta No. 09 Telp (0341) 404430 - 404424 Malang, 65101  
Contact Person : Zulriadi (0341) 9158630 HP. 0813 3456 8567

No : 623 / UP-TK / EK / VII / 2019  
Perihal : Surat Keterangan  
Lampiran : 1 Lembar

Yang bertanda tangan dibawah ini :

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

Dengan ini menerangkan bahwa :

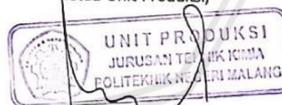
Nama : Sela Pricilla  
Nim : 165070100111031

Jurusan : Program Studi Kedokteran  
Instansi : Fakultas Kedokteran  
Universitas Brawijaya

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

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dipergunakan sebagaimana mestinya.

Malang, 19 Juli 2019  
Ketua Unit Produksi,



Ir. Sri Rulianah, M.TP  
NIP.196302111988032001



## LAMPIRAN 6

## SURAT KETERANGAN DAUN INGGU



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

Nomor : 074/220A/102.7/2019  
Sifat : Biasa  
Perihal : **Determinasi Tanaman Inggü**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : SELA PRICILIA  
NIM : 16507010011031  
Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN, UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman inggü

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)  
Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)  
Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)  
Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)  
Kelas : Magnoliopsida (Berkeping dua/ dikotil)  
Sub Kelas : Rosidae  
Ordo : Sapindales  
Famili : Rutaceae (Suku jeruk-jerukan)  
Genus : Ruta  
Spesies : *Ruta angustifolia* (L.) Pers  
Sinonim : *Ruta chalepensis* L. var. *angustifolia*, *Ruta graveolens* L.  
Nama Daerah : Inggü (Sunda), godong minggu (Jawa), aruda (Melayu), anruda busu (Makasar)  
Kunci Determinasi : 1b-2b-3b-4b-12b-13b-14b-17b-18b-19b-20b-21b-22b-23b-24b-25b-26b-27a-28b-29b-30b-31a-32a-33a-34a-35a-36d-37b-38b-39b-41b-42b-44b-45b-46e-50b-51b-53b-54b-56b-57b-58b-59b-72b-73b-74a-75b-76a-77a-78b-103c-104b-106b-107a-108b-109a-110a-111b-112b-114b-1b-2b-5b-9a-10b-1.

2. Morfologi

: Tanaman inggü tumbuh berupa semak dengan tinggi ±1.5 m. Batang inggü berkayu, bulat, percabangan simpodial, dan berwarna hijau muda. Daunnya majemuk, anak daun lanset atau bulat telur, pangkal runcing, ujung tumpul, tepi rata, panjang 8-20 m, lebar 2-6 mm, dan pertulangannya tidak jelas. Bunganya majemuk, kelopak bentuk segitiga, hijau, putik satu, kuning; benang sari delapan, duduk pada dasar bunga; kepala sari kuning, mahkota bentuk mangkok, dan berwarna kuning. Buahnya kecil, lonjong, terbagi menjadi 4 kotak, coklat. Bijinya berbentuk ginjal, kecil, hitam. Akar inggü berupa akar tunggang, bulat, bercabang, dan berwarna putih kekuningan.

3. Nama Simplisia : Rutae Folium/ Daun Inggü.

4. Kandungan Kimia : Daun mengandung minyak atsiri metal-nonilketone sampai 90%, ketone, pinena, l-limonena, cineol, asam rutinat, kokusaginin, edulinine, skimmianine, bergapten, graveoline, graveolinine, asam modic, rutin, rhamno glikosid, quersetin flavenol, xanthotoxin, alkaloida, saponin, flavonoid, dan polifenol.

5. Penggunaan : Penelitian

6. Daftar Pustaka

- Anonim. <http://www.iptek.net.id/inggu>, diakses tanggal 29 oktober 2010.
- Backer, C.A. dan Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes only)*, Vol. I. Groningen: NVP. Noordhoff.
- Backer, C.A. dan Bakhuizen Van Den Brink, R.C. 1963. *Flora of Java (Spermatophytes only)*, Vol. II. Groningen: NVP. Noordhoff.
- Dalimartha, Setiawan. 2005. *Atlas tumbuhan obat Indonesia, Jilid I*. Jakarta: Trubus Agriwidya.

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

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

