



**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KECAMBAH
KACANG HIJAU (*Vigna radiata*) SEBAGAI ANTIFUNGI
TERHADAP *Candida albicans*
SECARA *IN VITRO***

SKRIPSI

**UNTUK MEMENUHI PERSYARATAN MEMPEROLEH
GELAR SARJANA KEDOKTERAN GIGI**

**OLEH:
NAUFAL FADHLI HARDICKDO**

165160107111004

**PROGRAM STUDI SARJANA KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG**

2019





HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KECAMBAH
KACANG HIJAU (*Vigna radiata*) SEBAGAI ANTIFUNGI
TERHADAP *Candida albicans* SECARA *IN VITRO***



Oleh:
Naufal Fadhli Hardickdo
165160107111004

Menyetujui untuk diuji:

Pembimbing I / Penguji III

drg. Lukman Hakim Hidayat, Sp. PM
NIK. 2012038204161001

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL KECAMBAH
KACANG HIJAU (*Vigna radiata*) SEBAGAI ANTIFUNGI
TERHADAP *Candida albicans* SECARA *IN VITRO***

Oleh:
Naufal Fadhli Hardickdo
165160107111004

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

Menyetujui,
Pembimbing

drg. Lukman Hakim Hidayat, Sp.PM
NIK. 2012038204161001

Malang
Mengetahui,

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

drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG
NIP. 198004092008122004

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Naufal Fadhli Hardickdo

NIM : 165160107111004

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis ini benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri.

Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan Tugas Akhir ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 23 September 2019

Yang Membuat Pernyataan

Naufal Fadhli Hardickdo

165160100111007

ABSTRAK

Hardickdo, Naufal Fadhli. 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Sebagai Antifungi Terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*. Skripsi, Program studi Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) drg. Lukman Hakim Hidayat Sp. PM

Oral candidiasis adalah salah satu infeksi oportunistis dalam rongga mulut yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Namun perawatan dengan menggunakan obat yang saat ini tersedia dapat menimbulkan beberapa efek samping. Maka dari itu diperlukan alternatif lain seperti Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*). Tanaman ini memiliki zat aktif berupa flavonoid dan fenol yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan efektivitas ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* L) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan rancangan eksperimental murni menggunakan metode dilusi cair. Penelitian diawali dengan penelitian pendahuluan menggunakan ekstrak dengan konsentrasi 12000 mg/ml, 6000 mg/ml, 3000 mg/ml, 1500 mg/ml, 750 mg/ml, dan 375 mg/ml yang kemudian dilanjutkan uji perapatan dengan konsentrasi 9000 mg/ml, 8400 mg/ml, 7800 mg/ml, 7200 mg/ml, 6600 mg/ml, 6000 mg/ml, 5400 mg/ml, dan 4800 mg/ml. Penelitian ini menggunakan kontrol negatif (konsentrasi ekstrak 0%) dan kontrol positif (nistatin 1%). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 9000 mg/ml dapat membunuh *Candida albicans* secara *in vitro*. Analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan $\alpha=0,05$ menunjukkan hasil signifikan dan uji korelasi Spearman menunjukkan arah korelasi negatif yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin sedikit koloni *Candida albicans* yang terbentuk. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak Kecambah Kacang Hijau mampu membunuh *Candida albicans* dengan konsentrasi sebesar 9000 mg/ml.

Kata Kunci: *Candida albicans*, ekstrak Kecambah Kacang Hijau, antifungi, dilusi cair



ABSTRACT

Hardickdo, Naufal Fadhli. 2019. *Effectiveness Experiment of Ethanol Extract of Green Bean Sprouts (Vigna radiata) As Antifungal Against Candida albicans In Vitro*. Skripsi. Program studi Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) drg. Lukman Hakim Hidayat Sp. PM

Oral candidiasis is an opportunistic infection in the oral cavity caused by Candida albicans. However treatments using currently available drugs can cause some side effects. Therefore another alternative is needed such as Green Bean Sprouts (Vigna radiata). This plant has active substances in the form of flavonoids and phenols which function as inhibitors of the growth of Candida albicans. The purpose of this study was to prove the effectiveness of ethanolic extracts of mung bean sprouts (Vigna radiata L) as an antifungal against Candida albicans in vitro. This research is a purely experimental design using the liquid dilution method. The study began with a preliminary study using extracts with concentrations of 12000 mg / ml, 6000 mg / ml, 3000 mg / ml, 1500 mg / ml, 750 mg / ml, and 375 mg / ml which was then continued with a concentration test with a concentration of 9000 mg / ml, 8400 mg / ml, 7800 mg / ml, 7200 mg / ml, 6600 mg / ml, 6000 mg / ml, 5400 mg / ml, and 4800 mg / ml. This study uses a negative control (extract concentration of 0%) and positive control (nystatin 1%). The results showed the extract with a concentration of 9000 mg / ml can kill Candida albicans in vitro. Data analysis using the Kruskal-Wallis test with $\alpha = 0.05$ showed significant results and the Spearman correlation test showed the direction of the negative correlation which means the higher the concentration of the extract used, the fewer colonies of Candida albicans formed. The conclusion of this study is the extract of Green Bean Sprouts can kill Candida albicans with a concentration of 9000 mg / ml.

Keywords: *Candida albicans, Green Bean Sprouts extract, antifungal*



KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas rahmat, karunia, dan ridho-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Sebagai Antifungi Terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*” untuk memenuhi tugas mata kuliah Metodologi Penelitian Ilmiah 1.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini tidak dapat terselesaikan tanpa adanya bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terimakasih yang sebesar – besarnya kepada:

1. drg. R. Setyohadi, M.S selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas kesempatan mengembangkan diri yang diberikan kepada penulis
2. drg. Yuliana Ratna Kumala, Sp.KG selaku Ketua Program Studi Sarjana Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas kesempatan mengembangkan diri yang diberikan kepada penulis
3. drg. Lukman Hakim Hidayat, Sp. PM selaku dosen pembimbing yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberikan saran serta bimbingan kepada penulis hingga terselesaikannya skripsi ini.
4. drg. Viranda Sutanti, M.Si selaku penguji 1 yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberi saran dan kritik kepada penulis hingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik
5. drg. Nenny Prasetyaningrum, M.Ked selaku penguji 2 yang telah meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam memberi saran dan kritik kepada penulis hingga skripsi ini dapat tersusun dengan baik
6. Seluruh Dosen dan Staf Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya atas segala ilmu yang telah diberikan kepada penulis.
7. Orang tua, keluarga, serta kerabat, atas doa dan motivasi yang tidak henti – hentinya kepada penulis.
8. Safira Yusinta Rubiyanti yang selalu memberikan dorongan, motivasi, dan semangat untuk menyelesaikan skripsi ini.
9. Teman – teman satu kelompok di departemen Ilmu Penyakit Mulut (Hafsah, Risa, Rafli, Ayu, Ema), atas seluruh dukungan



yang diberikan, serta selalu antusias dalam pelaksanaan penelitian.

10.Seluruh teman – teman Kesatria Bumantara angkatan 2016 Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya, atas segala bentuk dukungan moral dan doa yang diberikan kepada penulis.

11.Semua pihak yang telah mendukung penulis, yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu.

Semoga Allah SWT senantiasa mencurahkan rahmat-Nya dan membalas seluruh amal kebaikan mereka. Penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih memiliki banyak kekurangan, karena keterbatasan pengetahuan, kemampuan, dan pengalaman penulis.

Oleh karena itu, penulis akan menerima dengan tangan terbuka atas segala kritik dan saran yang membangun demi kebaikan penulis kedepannya.

Malang, 26 Desember 2019

Penulis,



DAFTAR ISI

Halaman

Judul i

Halaman Persetujuan ii

Halaman Pengesahan Skripsi iii

Pernyataan keaslian tulisan iv

Abstrak v

Abstract vi

Kata Pengantar vii

Daftar Isi ix

Daftar Gambar xii

Daftar Tabel... xiii

Daftar Singkatan xiv

BAB I PENDAHULUAN 1

1.1. Latar Belakang 1

1.2. Rumusan Masalah 2

1.3. Tujuan 2

1.3.1 Tujuan umum 2

1.3.2 Tujuan khusus 2

1.4. Manfaat Penelitian 3

1.4.1 Manfaat Akademik 3

1.4.2 Manfaat Praktisi 3

BAB II TINJAUAN PUSTAKA 4

BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS 23

3.1 Kerangka Konsep Penelitian 23

3.2 Hipotesis Penelitian 24

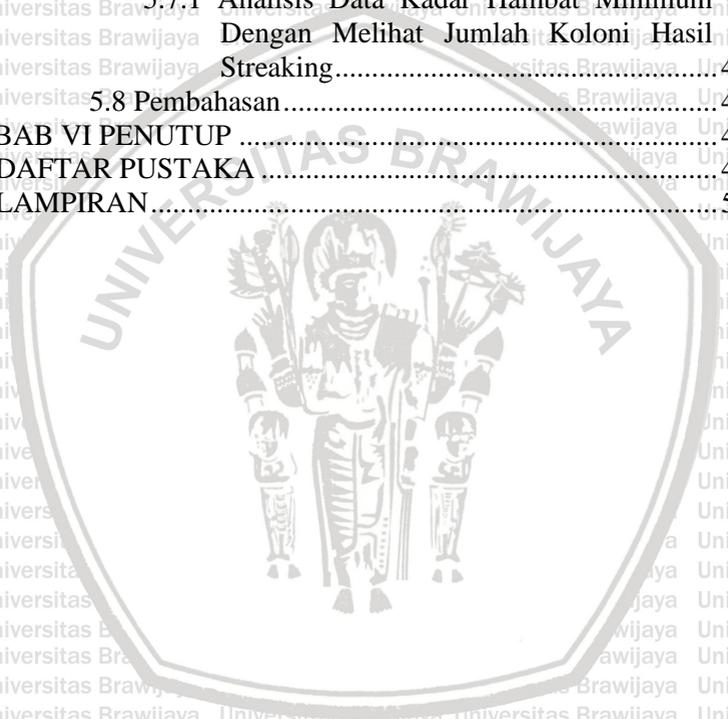
BAB IV METODE PENELITIAN 25

4.1 Rancangan Penelitian 25



4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	25
4.3 Sampel Penelitian	25
4.3.1 Pengulangan Sampel	25
4.3.2 Variabel dan Kontrol Penelitian	26
4.3.2.1 Variabel Penelitian	26
4.3.2.2 Kontrol Penelitian	26
4.4 Alat dan Bahan	26
4.4.1 Penyediaan Kecambah Kacang Hijau	26
4.4.2 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (<i>Vigna Radiata</i>)	26
4.4.3 Alat dan Bahan Identifikasi Jamur	26
4.4.3.1 Alat dan bahan identifikasi jamur dengan pewarnaan gram ..	26
4.4.3.2 Alat dan bahan untuk identifikasi jamur dengan uji <i>germ tube</i>	26
4.4.3.3 Alat dan bahan untuk uji daya anti jamur kecambah kacang hijau (<i>Vigna radiata</i>) melalui metode dilusi cair	26
4.5 Definisi operasional	27
4.6 Prosedur Penelitian	28
4.6.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i>)	28
4.6.2 Pengenceran Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i>)	28
4.6.3 Uji Identifikasi Jamur	29
4.6.3.1 Uji Pewarnaan Gram	29
4.6.3.2 Uji <i>Germ Tube</i>	29
4.6.4 Pembuatan Suspensi Jamur Uji	29
4.6.5 Uji Efektivitas Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (<i>Vigna radiata</i>) Sebagai Antijamur <i>Candida albicans</i> Menggunakan Metode Dilusi Cair	30
4.7 Skema Alur Penelitian	33
4.8 Analisis Data	34

BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	35
5.1 Hasil Identifikasi Jamur.....	35
5.1.1 Hasil Pewarnaan Gram.....	35
5.1.2 Hasil Tes <i>Germ Tube</i>	35
5.2 Hasil Ekstraksi Kecambah Kacang Hijau.....	36
5.3 Uji Pendahuluan Dengan Metode Dilusi Tabung..	36
5.5 Kadar Hambat Minimum (KHM).....	37
5.6 Kadar Bunuh Minimum (KBM).....	37
5.7 Analisis Data	39
5.7.1 Analisis Data Kadar Hambat Minimum Dengan Melihat Jumlah Koloni Hasil Streaking.....	40
5.8 Pembahasan.....	42
BAB VI PENUTUP	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN	58



DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 2.1 Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 5

Gambar 2.2 Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 5

Gambar 2.3 Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 7

Gambar 2.4 Hasil Uji Gram 10

Gambar 2.5 Hasil Uji CHROMagar 10

Gambar 2.6 (1) (Atas) *Candida albicans* yang divisualisasikan oleh mikroskop *differential interference contrast* (DIC) (*bar* = 10 μ m). (Bawah) Representasi skematik dari setiap morfologi. (2) Struktur dinding *Candida albicans* 11

Gambar 2.7 Kandidiasis Pseudomembranosa 15

Gambar 2.8 *Erythematous candidiasis* 15

Gambar 2.9 *Denture stomatitis* 16

Gambar 2.10 *Disc Diffusion* 17

Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram pada *Candida albicans* dengan Perbesaran 1000 \times 35

Gambar 5.2 Hasil Tes *Germ Tube* dengan Perbesaran 1000 \times 36

Gambar 5.3 Hasil Dilusi Tabung Uji Pendahuluan 37

Gambar 5.4 Hasil Uji Pendahuluan 37

Gambar 5.5 Hasil Uji Perapatan 38

Gambar 5.6 Grafik Rerata Jumlah Koloni Jamur 39



DAFTAR TABEL

Halaman

Tabel 5.1	Perhitungan Koloni Jamur yang Tumbuh Pada SDA	38
Tabel 5.2	Hasil Uji Normalitas dan <i>Kruskal Wallis</i> Jumlah Koloni.....	40
Tabel 5.3	Hasil Uji <i>Spearman</i>	41



DAFTAR SINGKATAN

CFU/ml *Colony Forming Unit/milliliter*

IU *International Unit*

KBM *Kadar Bunuh Minimum*

KHM *Kadar Hambat Minimum*

OD *Optical Density*

SDL *Saboroud Dextrose Liquid*

SPSS *Statistical Product of Service Solution*

UPT *Unit Pelaksana Teknis*



ABSTRAK

Hardickdo, Naufal Fadhli. 2019. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) Sebagai Antifungi Terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*. Skripsi, Program studi Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) drg. Lukman Hakim Hidayat Sp. PM

Oral candidiasis adalah salah satu infeksi oportunistis dalam rongga mulut yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Namun perawatan dengan menggunakan obat yang saat ini tersedia dapat menimbulkan beberapa efek samping. Maka dari itu diperlukan alternatif lain seperti Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*). Tanaman ini memiliki zat aktif berupa flavonoid dan fenol yang berfungsi sebagai penghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk membuktikan efektivitas ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata* L) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Penelitian ini merupakan rancangan eksperimental murni menggunakan metode dilusi cair. Penelitian diawali dengan penelitian pendahuluan menggunakan ekstrak dengan konsentrasi 12000 mg/ml, 6000 mg/ml, 3000 mg/ml, 1500 mg/ml, 750 mg/ml, dan 375 mg/ml yang kemudian dilanjutkan uji perapatan dengan konsentrasi 9000 mg/ml, 8400 mg/ml, 7800 mg/ml, 7200 mg/ml, 6600 mg/ml, 6000 mg/ml, 5400 mg/ml, dan 4800 mg/ml. Penelitian ini menggunakan kontrol negatif (konsentrasi ekstrak 0%) dan kontrol positif (nistatin 1%). Hasil penelitian menunjukkan ekstrak dengan konsentrasi 9000 mg/ml dapat membunuh *Candida albicans* secara *in vitro*. Analisis data menggunakan uji *Kruskal-Wallis* dengan $\alpha=0,05$ menunjukkan hasil signifikan dan uji korelasi Spearman menunjukkan arah korelasi negatif yang berarti semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang digunakan, semakin sedikit koloni *Candida albicans* yang terbentuk. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak Kecambah Kacang Hijau mampu membunuh *Candida albicans* dengan konsentrasi sebesar 9000 mg/ml.

Kata Kunci: *Candida albicans*, ekstrak Kecambah Kacang Hijau, antifungi, dilusi cair

ABSTRACT

Hardickdo, Naufal Fadhli. 2019. *Effectiveness Experiment of Ethanol Extract of Green Bean Sprouts (Vigna radiata) As Antifungal Against Candida albicans In Vitro*. Skripsi. Program studi Sarjana Kedokteran Gigi Universitas Brawijaya. Pembimbing (1) drg. Lukman Hakim Hidayat Sp. PM

Oral candidiasis is an opportunistic infection in the oral cavity caused by Candida albicans. However treatments using currently available drugs can cause some side effects. Therefore another alternative is needed such as Green Bean Sprouts (Vigna radiata). This plant has active substances in the form of flavonoids and phenols which function as inhibitors of the growth of Candida albicans. The purpose of this study was to prove the effectiveness of ethanolic extracts of mung bean sprouts (Vigna radiata L) as an antifungal against Candida albicans in vitro. This research is a purely experimental design using the liquid dilution method. The study began with a preliminary study using extracts with concentrations of 12000 mg / ml, 6000 mg / ml, 3000 mg / ml, 1500 mg / ml, 750 mg / ml, and 375 mg / ml which was then continued with a concentration test with a concentration of 9000 mg / ml, 8400 mg / ml, 7800 mg / ml, 7200 mg / ml, 6600 mg / ml, 6000 mg / ml, 5400 mg / ml, and 4800 mg / ml. This study uses a negative control (extract concentration of 0%) and positive control (nystatin 1%). The results showed the extract with a concentration of 9000 mg / ml can kill Candida albicans in vitro. Data analysis using the Kruskal-Wallis test with $\alpha = 0.05$ showed significant results and the Spearman correlation test showed the direction of the negative correlation which means the higher the concentration of the extract used, the fewer colonies of Candida albicans formed. The conclusion of this study is the extract of Green Bean Sprouts can kill Candida albicans with a concentration of 9000 mg / ml.

Keywords: *Candida albicans, Green Bean Sprouts extract, antifungal*



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Oral candidiasis adalah salah satu infeksi oportunistik dalam rongga mulut. Agen primer dari terbentuknya lesi ini adalah jamur *Candida albicans* (Nur'aey et al., 2017). Infeksi oportunistik adalah infeksi oleh suatu organisme yang biasanya tidak menyebabkan penyakit tetapi menjadi patogenik pada keadaan tertentu seperti saat terdapat defisiensi imun (Dorland, 2015). Gambaran klinis kandidiasis mulut sangat bervariasi dengan gejala mulai dari asimtomatik, gatal, dan sensasi terbakar. Beberapa faktor predisposisi dapat mengkonversi *Candida albicans* dari flora normal mulut menjadi organisme patogenik, meliputi faktor lokal seperti gigi tiruan, merokok, steroid inhalasi, hiperkeratosis, ketidakseimbangan mikroflora, kuantitas dan kualitas saliva, dan faktor sistemik seperti penyakit immunosupresif, kemoterapi, dan penyakit immunokompromais (Prayudha et al., 2012).

Obat yang sering digunakan untuk mengobati kandidiasis oral adalah nistatin. Nistatin adalah membrane-active polyene macrolide yang diproduksi oleh strain *Streptomyces noursei* dan tersedia dalam berbagai bentuk, seperti suspensi oral, krim topikal, dan pastille oral. (Lyu et al., 2016). Namun penggunaan nistatin sebagai obat antijamur per oral memiliki beberapa efek samping. Efek samping yang sesekali dirasakan ketika menggunakan nistatin secara oral adalah mual, muntah, dan diare. Jarang dilaporkan terjadi iritasi ketika penggunaan nistatin secara topikal (Aronson, 2009). Berkaitan dengan masalah diatas, perlu dicari bahan lain yang memiliki sifat antijamur dan juga aman untuk digunakan.

Perkecambah adalah proses terbentuknya kecambah (plantula). Kecambah sendiri didefinisikan sebagai tumbuhan kecil yang baru muncul dari biji dan hidupnya masih tergantung pada persediaan makanan yang terdapat dalam biji. Kecambah tersebut akan tumbuh dan berkembang menjadi semai/anakan/ seedling, yang pada tahap selanjutnya akan tumbuh menjadi tumbuhan dewasa (Kasmiyati et al., 2015). Tauge merupakan sumber makanan yang banyak mengandung protein, asam amino, vitamin B, C, E dan mineral (Andrianto dan Indarto, 2004). Selain itu tauge juga memiliki kandungan antioksidan berupa flavonoid dan fenolik (Nurung, 2016).

Penelitian yang dilakukan Huang et al., (2014) dalam Asrullah, (2015) menunjukkan bahwa total fenolik kecambah kacang hijau dengan 1 hari germinasi jauh lebih tinggi dibandingkan kecambah kacang kedelai. Total fenolik kecambah kacang hijau sebesar 1,2 mg GAE/g dw dan kecambah kacang kedelai sebesar 0,4 mg GAE/g. Jika dibandingkan keduanya dalam keadaan utuh, kecambah kacang hijau lebih tinggi kandungan total fenoliknya. Kedua senyawa tersebut dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Mekanisme kerja flavonoid dengan cara denaturasi protein, mengganggu lapisan lipid dan mengakibatkan kerusakan dinding sel. Sifat lipofilik pada flavonoid tersebut yang akan mengikat fosfolipid-fosfolipid pada membran sel jamur dan mengganggu permeabilitas membran sel (Kurniawati, dkk. 2016). Sedangkan mekanisme kerja fenolik dengan cara denaturasi protein yang terdapat pada dinding sel sehingga dapat merusak susunan dan merubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Siddik dkk., 2016).

Berdasarkan uraian di atas yang menjelaskan mengenai dasar dan bukti kemanfaatan kecambah kacang hijau sebagai antifungi, maka penulis ingin membuktikan adanya pengaruh konsentrasi ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata L*) terhadap koloni *Candida albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata L*) dapat menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans* secara *in vitro*?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan efektivitas ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata L*) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Mengetahui nilai Kadar Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata L*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dengan metode dilusi cair menggunakan konsentrasi 9000 mg/ml, 8400 mg/ml, 7800 mg/ml, 7200 mg/ml, 6600 mg/ml, 6000 mg/ml, 5400 mg/ml, dan 4800 mg/ml.

2. Mengetahui nilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata L*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dengan metode dilusi cair menggunakan konsentrasi 9000 mg/ml, 8400 mg/ml, 7800 mg/ml, 7200 mg/ml, 6600 mg/ml, 6000 mg/ml, 5400 mg/ml, dan 4800 mg/ml.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1. Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah tentang pengaruh konsentrasi dan efektivitas daya antifungi ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata L*).

2. Selain itu dari hasil penelitian ini diharapkan dapat digunakan untuk penelitian lebih lanjut dalam pengembangan obat herbal antifungi yang murah, aman, dan efektif dari ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata L*) khususnya dalam bidang kedokteran gigi.

1.4.2 Manfaat Praktisi

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan alternatif yang lebih murah, aman, dan efektif untuk pencegahan kandidiasis.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2. 1 Kacang Hijau (*Vigna radiata* L)

Indonesia memiliki banyak keanekaragaman jenis bahan pangan, salah satu bahan pangan yang cukup populer di Indonesia adalah kacang-kacangan (leguminosae) seperti kacang tanah, kacang merah, dan kacang hijau. Kacang-kacangan di Indonesia relatif mudah didapat dan harganya cukup murah. Kacang-kacangan juga memiliki banyak nilai gizi salah satunya adalah protein nabati. Kandungan protein dalam kacang-kacangan berkisar antara 20-35%. Selain kandungan protein nabati yang banyak, kandungan gizi lain dari kacang-kacangan diantaranya adalah karbohidrat, lemak, vitamin, mineral, dan serat (Rahman dan Triyono, 2011).

Kacang hijau merupakan tanaman pangan semusim berupa semak yang tumbuh tegak. Tanaman kacang hijau ini diuga berasal dari India. Di abad ke-17, kacang hijau mulai menyebar ke berbagai negara Asia tropis termasuk Indonesia. Tanaman kacang hijau adalah tanaman semusim berumur pendek (60 hari). Panen kacang hijau dilakukan beberapa kali dan berakhir pada hari ke-80 setelah tanam (Purwono dan Hartono, 2005). Kacang hijau adalah salah satu jenis kacang-kacangan yang banyak dikonsumsi oleh rakyat Indonesia. Kacang hijau di Indonesia menempati urutan ketiga terpenting sebagai tanaman pangan legum, setelah kedelai dan kacang tanah. Contoh olahan yang dapat dihasilkan dari kacang hijau adalah bubur kacang hijau dan minuman sari kacang hijau. Tumbuhan ini memiliki banyak manfaat dalam kehidupan sehari-hari karena memiliki banyak nilai kandungan gizi (Maryam, 2015).

Kacang hijau memiliki manfaat yang sangat penting untuk kesehatan, karena memiliki kandungan gizi yang cukup baik. Dalam 100 gram kacang hijau mengandung karbohidrat sebesar 62,5gr ; protein 22,2 gr ; lemak 1,5 gr ; vitamin A 9 IU ; vitamin B1 150-400 IU dan juga mineral seperti kalsium, belerang, mangan dan besi. Komponen ini diperlukan dalam tumbuh kembang dan juga menjaga kesehatan tubuh manusia (Maryam, 2015).

2.1.1 Klasifikasi Kacang Hijau (*Vigna radiata* L)

Kacang hijau termasuk dalam keluarga Leguminosae. Adapun klasifikasi botani tanaman kacang hijau sebagai berikut (Purwono dan Hartono, 2005).

Divisi: Spermatophyta

Subdivisi: Angiospermae

Kelas: Leguminosae (Fabaceae)

Genus: *Vigna*

Spesies: *Vigna radiata*



Gambar 2.1 Tanaman Kacang Hijau (*Vigna radiata*)
(Sumber: Purwono dan Hartono, 2005)



Gambar 2.2 Biji Kacang Hijau (*Vigna radiata*)
(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

2.1.2 Kecambah Kacang Hijau dan Proses Perkecambahan Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

Kecambah dapat dengan mudah didapatkan dengan proses perkecambahan pada biji kacang hijau di dalam kegelapan selama 4 hari. Proses perkecambahan tidak memerlukan tanah atau radiasi matahari dan tidak terbatas oleh musim. Jumlah yang banyak dapat dihasilkan dalam waktu yang singkat (Savage, 1990). Kecambah

adalah sumber vitamin yang murah dan beberapa vitamin tersintesis dalam biji yang tergerminasi. Saat proses perkecambahan, sebagian besar nilai gizi asli dari biji kacang hijau tetap, dan jumlah beberapa zat aktif meningkat secara signifikan (Li LI et al, 2017).

Perkecambahan biji merupakan suatu rangkaian kompleks dari perubahan-perubahan morfologi, fisiologi, dan biokimia. Tahap-tahap perkecambahan adalah sebagai berikut (Lestari, 2018)

- a. Tahap pertama suatu perkecambahan biji dimulai dengan proses penyerapan air oleh biji, melunaknya kulit biji, dan hidrasi dari protoplasma
- b. Tahap kedua dimulai dengan kegiatan-kegiatan sel dan enzim-enzim serta naiknya tingkat respirasi biji, pada permulaan perkecambahan radikula lebih dahulu keluar (akar primer dan akar rambut). Proses ini terjadi pada umur perkecambahan 24 jam.
- c. Tahap ketiga merupakan tahap dimana terjadi penguraian bahan-bahan seperti karbohidrat, lemak, dan protein menjadi bentuk yang melarut dan ditranslokasikan ke titik tumbuh. Pada tingkatan perkecambahan selanjutnya hipokotil dan radikula terus memanjang (terjadi pada umur perkecambahan 48 jam).
- d. Tahap keempat adalah asimilasi dari bahan-bahan yang telah diuraikan tadi di daerah meristematik untuk menghasilkan energi bagi kegiatan pembentukan komponen dan pertumbuhan sel-sel baru. Pada umur perkecambahan 56-72 jam, radikula terus memanjang ke bawah sedangkan hipokotil terus memanjang ke atas menembus permukaan.
- e. Tahap kelima adalah pertumbuhan dari kecambah melalui proses pembelahan, pembesaran, dan pembagian sel-sel pada titik-titik tumbuh.



Gambar 2.3 Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

(Sumber: Dokumentasi Pribadi)

2.1.3 Kandungan Senyawa Kimia pada Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Nurung (2016) pada ekstrak etanol 70%, mengandung senyawa fenolik sebesar 1,33%, flavonoid 1,25%, dan karotenoid 0,003%.

2.1.3.1 Fenolik

Senyawa fenolik adalah senyawa yang memiliki satu atau lebih gugus hidroksil yang menempel di cincin aromatik. Dengan kata lain, senyawa fenolik adalah senyawa yang sekurang-kurangnya memiliki satu gugusan fenol.

Menurut Siddik, Yulia, dan Edyson (2016), fenol dan senyawa fenolik derivatnya dapat menghambat aktivitas jamur dengan cara denaturasi protein pada dinding sel sehingga merusak susunan dan mengubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel.

2.1.3.2 Flavonoid

Flavonoid merupakan kelompok fenol dengan sebuah cincin aromatik dan satu atau lebih gugus hidroksil yang tersebar di hampir seluruh bagian tanaman yaitu daun, akar, kayu, tepung sari, nektar, bunga, buah dan biji. Penyebaran jenis flavonoid terbesar terdapat pada *angiospermae*. Banyak penelitian juga menyatakan bahwa flavonoid memiliki banyak manfaat pada kesehatan tubuh manusia (Nurung, 2016).

Para peneliti menemukan bahwa flavonoid bermanfaat sebagai antioksidan; berperan sebagai *molecule messenger* dalam interaksi antar sel; antiinflamasi dengan memutus efek jalur metabolisme asam arakidonat, memengaruhi produksi prostaglandin dan pelepasan histamin, mempunyai aktivitas *scavenging*, antitumor dengan memutus aktivitas promotor tumor, dan antivirus diperkirakan memutus sintesis asam nukleat (Nurung, 2016). Selain itu, flavonoid memiliki sifat lipofilik yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan cara denaturasi protein, mengganggu lapisan lipid dan mengakibatkan kerusakan dinding sel. Sifat lipofilik pada flavonoid tersebut yang akan mengikat fosfolipid pada membran sel jamur dan mengganggu permeabilitas membran sel (Putri, 2015).

2.1.3.3 Karotenoid

Karotenoid adalah pigmen yang memberikan warna kuning, jingga hingga merah. Karotenoid merupakan pigmen pendamping klorofil atau zat hijau daun yang menjalankan fungsi penyerapan energi cahaya untuk fotosintesis (Maleta *et al.*, 2018). Senyawa ini ditemukan tersebar luas dalam tanaman dan buah-buahan. Karotenoid tidak diproduksi oleh tubuh manusia (Nurung, 2016).

2.2 *Candida albicans*

Candida albicans adalah jamur lonjong bertunas yang menghasilkan pseudomiselium baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. *Candida* adalah anggota flora normal selaput lendir saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita (Jawetz *et al.*, 2001). *Oral candidiasis* atau *candidosis* adalah salah satu infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans* (Samaranayake, 2012).

2.2.1 Morfologi

Candida albicans tampak berbentuk ragi lonjong, kecil, berdinding tipis, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 μm , yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa) jika dilihat melalui sediaan apus eksudat. Pseudohifa candida terbentuk ketika tunas-tunas terus tumbuh tetapi gagal melepaskan diri, menghasilkan rantai sel yang memanjang yang terjepit atau tertarik pada septasi di antara sel. Sifat *Candida albicans* adalah dimorfik yang artinya adalah, selain ragi dan pseudohifa, *Candida albicans* dapat menghasilkan

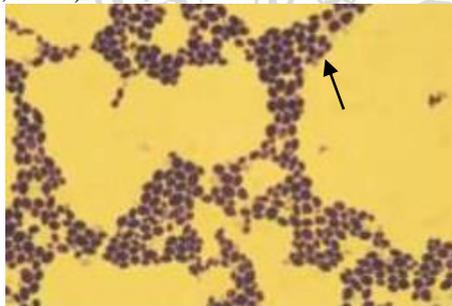
hifa sejati. *Candida* berkembangbiak melalui proses *budding* (Jawetz dkk., 2001).

Struktur sel *Candida albicans* terdiri atas dinding sel, membran sel, dan inti sel. Pada dinding sel terdapat dua lapisan dinding, yaitu dinding bagian luar dan dinding bagian dalam. Pada dinding bagian luar terdapat komponen mannan dan protein, sedangkan pada dinding bagian dalam terdapat glukukan dan khitin. Di bawah lapisan dinding sel terdapat membran sel yang mengandung fosfolipid dan ergosterol (Brown, 2014).

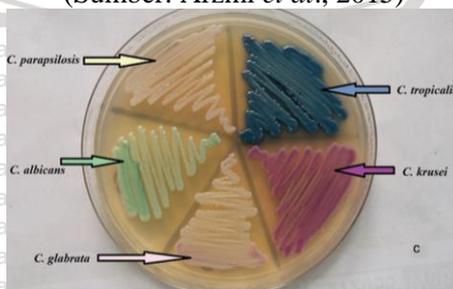
Pemeriksaan dengan pewarnaan gram adalah salah satu pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk menentukan adanya jamur (Hartati *et al.*, 2019). Pemeriksaan dengan pewarnaan gram adalah salah satu pemeriksaan yang dapat dilakukan untuk menentukan adanya jamur. Berdasarkan hasil penelitian, pemeriksaan ini dapat digunakan sebagai tes alternatif dalam mengidentifikasi adanya jamur. Pemeriksaan ini dapat melihat jamur berdasarkan morfologinya, tetapi tidak dapat mengidentifikasi spesiesnya dan sedikit membutuhkan waktu dibandingkan dengan pemeriksaan langsung menggunakan KOH 10% (Mutiawati, 2016). Pewarnaan Gram memperlihatkan gambaran seperti sekumpulan jamur dalam bentuk blastospora, hifa atau pseudohyphae, atau campuran keduanya (Vandepitte, 2003). Jamur muncul dalam bentukan sel ragi dan pseudomycelium juga terlihat pada sebagian besar sediaan (Bhavan, 2010). Hasil uji pewarnaan gram *Candida Albicans* menunjukkan bahwa *Candida albicans* merupakan gram positif dengan sel ragi berbentuk lonjong berdiameter $\pm 5 \mu\text{m}$ dan bereproduksi dengan membentuk *budding* (Kayser *et al*, 2005). Identifikasi spesies secara mikroskopik morfologik dapat dilakukan dengan uji *Germ Tube*. *Germ tube formation* pertama kali ditemukan oleh Reynolds dan Braude sehingga uji *germ tube* juga dikenal sebagai fenomena Reynolds-Braude. Pembentukan *chlamyospore* dan karakteristik biokimiawinya (fermentasi, asimilasi, dll) menjadi kriteria yang spesifik untuk mengidentifikasi dan membedakan *Candida albicans* dengan *Candida spp* lainnya. Sehingga metode germ tube menjadi metode yang cepat untuk indentifikasi *Candida albicans* (Mackenzie, 1962). *Rapid test* juga dapat digunakan untuk mengidentifikasi *Candida albicans*. Jamur ini adalah satu-satunya spesies dari genus

Candida untuk menghasilkan *germ tube*. Ketika *Candida albicans* diinkubasi dalam serum pada suhu 37°C selama sekitar dua jam, sel-sel yeast mulai menghasilkan *mycelia*, disebut sebagai *germ tube*. Pengamatan produksi *germ tube* berguna karena *Candida albicans* menyumbang antara 80 dan 90% ragi yang diisolasi dari bahan klinis (Heritage *et al.*, 2003).

Hal lain yang dapat membedakan *Candida albicans* dengan spesies *Candida* yang lain diantaranya adalah pada pemeriksaan makroskopik yang dilakukan pada media chromogenik (CHROMagar). Pada medium ini *Candida* spesies akan membentuk warna koloni yang berbeda. *Candida albicans* membentuk koloni berwarna hijau, *Candida tropicalis* berwarna ungu muda dengan puncak ungu tua, *Candida parapsilopsis* berwarna putih, *Candida krusei* berwarna merah muda dengan koloni kasar dan puncak merah muda sampai putih pucat dan *Candida glabrata* berwarna putih dengan puncak merah muda pucat (Komariah dan Ridhawatisjam, 2012).

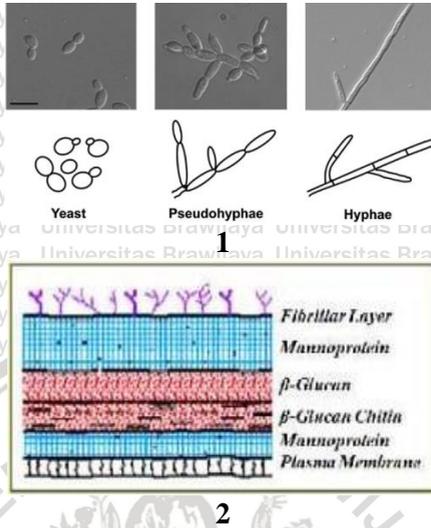


Gambar 2.4 Hasil Uji Gram
(Sumber: Arzmi *et al.*, 2015)



Gambar 2.5 Hasil Uji CHROMagar

(Sumber: Journal of clinical and Diagnostic Research, 2017)



Gambar 2.6 (1) (Atas) *Candida albicans* yang divisualisasikan oleh mikroskop *differential interference contrast* (DIC) (*bar* = 10 μ m). (Bawah) Representasi skematik dari setiap morfologi. (2) Struktur dinding *Candida albicans*

(Sumber: Thompson *et. al*, 2011; Mutiawati, 2016)

2.2.2 Klasifikasi Ilmiah *Candida albicans*

Berikut adalah klasifikasi ilmiah *Candida albicans* (Integrated Taxonomic Information System, 1996):

- a. Kingdom : Fungi
- b. Filum : ascomycota
- c. Upafilum : Saccharomycotina
- d. Class : Saccharomycetes
- e. Ordo : Saccharomycetales
- f. Famili : Saccharomycetaceae
- g. Genus : *Candida*
- h. Spesies : *Candida albicans*

2.2.3 Patogenesis *Candida albicans*

Menurut Komariah (2012) *Candida albicans* berkolonisasi di dalam rongga mulut melalui beberapa tahap, yaitu: tahap akuisisi, tahap stabilitas pertumbuhan, dan tahap perlekatan (adesi) serta penetrasi.

2.2.3.1 Tahap Akuisisi

Tahap akuisisi adalah masuknya *Candida albicans* ke dalam rongga mulut. *Candida albicans* dapat masuk ke dalam rongga mulut melalui makanan atau minuman yang terkontaminasi. *Candida albicans* dapat ditemukan dalam saliva dengan konsentrasi 300-500 sel/mL.

2.2.3.2 Tahap Stabilitas Pertumbuhan

Tahap stabilitas pertumbuhan adalah keadaan ketika *Candida albicans* yang telah melalui tahap akuisisi dapat menetap, berkembang biak, dan membentuk koloni dalam rongga mulut. Hal ini berkaitan dengan interaksi antara sel jamur dengan mukosa rongga mulut. Pergerakan saliva dalam rongga mulut dapat berpengaruh banyak pada pertumbuhan *Candida albicans* karena pergerakan saliva dapat mengakibatkan sel *Candida albicans* tertelan bersama saliva dan keluar dari rongga mulut. Jika penghilangan sel *Candida albicans* lebih besar dari akuisisi maka tidak akan terjadi kolonisasi, begitu pula sebaliknya. Namun, jika penghilangan sama banyak dengan akuisisi maka agar kolonisasi dapat terjadi diperlukan faktor predisposisi. Kolonisasi merupakan bagian penting dari awal terjadinya infeksi. Pertumbuhan *Candida* dalam rongga mulut dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu:

Saliva

Komponen saliva yang memengaruhi pertumbuhan *Candida albicans* adalah kualitas, kuantitas, dan unsur yang terkandung dalam saliva. Menurunnya jumlah saliva, yang juga menurunkan antifungal laktoferrin dan lisosim, dapat meningkatkan jumlah koloni *Candida albicans* dalam rongga mulut.

Keasaman/pH

Kondisi pH dalam rongga mulut yang asam atau pH kecil dapat meningkatkan kolonisasi *Candida albicans*.

Bakteri rongga mulut

Keberadaan bakteri flora normal seperti *Streptococcus sanguis* dan *Streptococcus gordonii* dapat memperbanyak pertumbuhan dan kolonisasi *Candida albicans*. Kompetisi dan penghambatan oleh flora normal rongga mulut merupakan bagian penting dalam membatasi pertumbuhan jamur. Interaksi yang terjadi antara mikroorganisme adalah kompetisi nutrisi, perubahan dalam lingkungan mikro, pengembangan toksin dan hasil produk metabolik.

Flora normal bakteri dapat menurunkan jumlah *Candida albicans* dengan jalan kompetisi untuk melekat pada sel epitel rongga mulut.

Temperatur

Virulensi *Candida albicans* juga dapat dipengaruhi oleh suhu di mana ia tumbuh. *Candida albicans* yang tumbuh pada suhu kamar lebih tahan terhadap pembunuhan oleh leukosit polimorfonuklear.

Glukosa

Glukosa merupakan bahan dasar pembentukan mannoprotein pada dinding sel *Candida albicans* yang diketahui dapat meningkatkan daya adesi dan produksi asam yang menurunkan pH rongga mulut. Dengan meningkatnya daya adesi dan menurunnya pH rongga mulut akan meningkatkan kolonisasi *Candida albicans*.

2.2.3.3 Tahap Perlekatan (adesi) dan Penetrasi

Adesi adalah interaksi antara sel *Candida* dengan sel pejamu yang merupakan syarat terjadinya kolonisasi. Sel epitel, sel endotel, dan sel fagosit merupakan tempat interaksi antara *Candida* dan hospes. Ada tiga macam interaksi yang mungkin terjadi antara sel *Candida* dan sel epitel inang yaitu (i) interaksi protein-protein terjadi ketika protein permukaan *Candida* mengenali *ligand* protein atau peptida pada sel epitelium atau endotelium (ii) interaksi *lectin-like* adalah interaksi ketika protein pada permukaan *Candida* mengenali karbohidrat pada sel epitelium atau endotelium dan (iii) interaksi yang belum diketahui adalah ketika komponen *Candida* menyerang *ligand* permukaan epitelium atau endotelium tetapi komponen dan mekanismenya belum diketahui dengan pasti (Hosteter M K, 1994).

2.2.4 Faktor Predisposisi Infeksi *Candida albicans*

Infeksi dapat terjadi pada manusia jika terdapat faktor predisposisi. Faktor predisposisi ada dua jenis yaitu endogen dan eksogen. Menurut Samaranyake (2012), faktor predisposisi tersebut adalah:

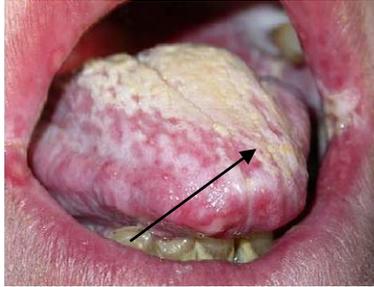
- a. Iritasi kronis lokal
- b. Pemakaian peranti lepas pasang
- c. Perawatan peranti yang kurang adekuat
- d. Kondisi rongga mulut yang menyebabkan perubahan kondisi flora normal, misal terapi antibiotik jangka panjang, terapi kortikosteroid jangka panjang, xerostomia
- e. Faktor makanan

- f. Penyakit imun dan kelainan endokrin, misal diabetes mellitus
- g. Penyakit kronis malignan
- h. Kondisi kelainan atau penyakit parah yang berhubungan dengan sel darah
- i. Radiasi berlebihan
- j. Umur yang terlalu tua atau terlalu muda
- k. Infeksi nosokomial, sebagai akibat dari perawatan di rumah sakit
- l. Displasia epitel
- m. Perokok berat

2.2.5 Penyakit Akibat *Candida albicans* pada Rongga Mulut

Penyebab utama dari *Oral candidiasis* atau *candidosis* adalah *Candida albicans*. Semua bentuk *Oral candidiasis* dianggap sebagai infeksi oportunistik, dan julukan '*disease of the diseased*' telah diterapkan pada infeksi ini, yang terlihat terutama pada 'sangat muda, sangat tua dan sangat sakit' (Samaranayake, 2012).

Oral candidiasis memiliki banyak bentuk. Bentuk yang paling sering muncul pada rongga mulut adalah kandidiasis pseudomembranosa. Kandidiasis pseudomembranosa sering terlihat pada pasien yang menggunakan terapi kortikosteroid atau pada pasien dengan immunosupresi. Gambaran klinis dari kandidiasis pseudomembranosa adalah terdapat plak putih seperti krim yang dapat dikerok (Hakim dan Ramadhian, 2015). Sifat lesi ini adalah terlokalisir atau menyeluruh dan untuk lokasinya berada pada mukosa pipi, palatum molle, lidah, dan bibir. Gejala yang timbul pada pasien adalah xerostomia, sensasi terbakar, dan gangguan indera pengecap. Jika kondisi kandidiasis pseudomembranosa semakin parah maka akan terbentuk bentuk kronis dari penyakit ini yaitu kandidiasis nodular. Lesi kandidiasis nodular berbentuk plak putih keras dan menonjol (Laskaris, 2006).



Gambar 2.7 Kandidiasis Pseudomembranosa

(Sumber: Ourania Nicolatou-Galitis, 2006)

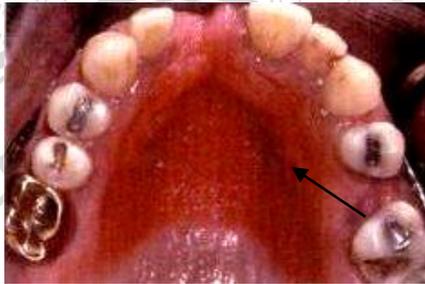
Jenis lain dari *oral candidiasis* adalah *erythematous candidiasis*. Berbeda dengan kandidiasis *pseudomembranosa*. Pasien dengan kandidiasis eritematosa tidak menunjukkan flek putih. Beberapa gambaran klinis dapat dilihat. Salah satunya dikenal sebagai kandidiasis atrofi akut. Pasien sering mengeluh bahwa mulut mereka terasa seperti melepuh setelah minum minuman panas. Sensasi terbakar ini biasanya disertai dengan hilangnya papila filiformis dari lidah dorsal yang mengakibatkan kemerahan dan “kebotakan” pada lidah. Bentuk lain dari kandidiasis eritematosa biasanya tanpa gejala dan kronis. Termasuk dalam kategori ini adalah kondisi yang dikenal sebagai *central papillary atrophy* atau *median rhomboid glossitis* (Neville dkk., 2002).



Gambar 2.8 Erythematous candidiasis

(Sumber: Neville dkk., 2002)

Jenis kandidiasis yang selanjutnya adalah *denture stomatitis*. Kondisi ini ditandai dengan berbagai tingkat eritema disertai dengan perdarahan *petechial* yang terlokalisasi pada area protesa gigi maksilaris yang dapat dilepas. *Denture stomatitis* biasanya terjadi pada pasien yang mengaku memakai gigi tiruan secara terus menerus dan hanya mengeluarkannya secara berkala untuk membersihkannya. Dokter juga harus memikirkan kemungkinan bahwa reaksi ini dapat disebabkan oleh desain gigi palsu yang tidak tepat (Neville dkk., 2002).



Gambar 2.9 Denture stomatitis
(Sumber: Neville dkk., 2002)

Oral candidiasis yang berat juga dapat dilihat sebagai salah satu tanda klinis dari kelainan imunologis yang relatif jarang yang dikenal sebagai *mucocutaneous candidiasis*. Beberapa disfungsi imunologis yang berbeda telah diidentifikasi dan tingkat keparahan infeksi kandida berkorelasi dengan keparahan defek imunologis. Sebagian besar kasus bersifat sporadis, meskipun pola pewarisan autosom resesif telah diidentifikasi di beberapa keluarga. Masalah kekebalan biasanya menjadi jelas selama beberapa tahun pertama kehidupan ketika pasien mulai memiliki infeksi *candida* pada mulut, kuku, kulit, dan permukaan mukosa lainnya. Lesi oral muncul sebagai plak putih tebal yang biasanya tidak menular (Neville dkk., 2002).

2.3 Nistatin

Nistatin adalah *membrane-active polyene macrolide* yang diproduksi oleh strain *Streptomyces noursei* dan tersedia dalam berbagai bentuk, seperti suspensi oral, krim topikal, dan *pastille* oral (Lyu dkk., 2016). Nistatin merupakan antijamur yang dianjurkan untuk terapi oral candidiasis. Nistatin efektif untuk jamur dan ragi namun tidak efektif pada bakteri, protozoa dan virus. Obat ini aman

untuk digunakan oleh anak-anak karena tidak diabsorpsi langsung oleh darah (Djajusman dkk., 2014). Nistatin bekerja dengan mengikat ergosterol yang merupakan komponen utama dinding sel jamur. Pada konsentrasi yang cukup, akan membentuk pori pada membran sel jamur yang menyebabkan kebocoran kalium dan kematian sel jamur (Andriani dan Rundjan, 2010).

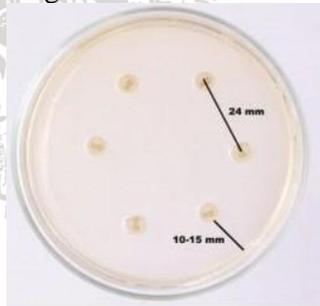
2.4 Metode Pengujian

Berikut terdapat macam-macam metode uji antibakteri (Pratiwi, 2008).

2.4.1 Metode Difusi

a. Metode *disc diffusion*

Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antimikroba. Piringan yang berisi agen antimikroba diletakkan pada media Agar yang telah ditanami mikroorganisme yang akan berdifusi pada media Agar tersebut. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antimikroba pada permukaan media Agar.



Gambar 2.10 Disc Diffusion

(Sumber: Tendencia, 2004)

b. *E-test*

Metode *E-test* digunakan untuk mengestimasi KHM (Kadar Hambat Minimal), yaitu konsentrasi minimal suatu agen antimikroba untuk dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme. Pada metode ini digunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dari kadar terendah

hingga tertinggi dan diletakkan pada permukaan media Agar yang telah ditanami mikroorganisme. Pengamatan dilakukan pada area jernih yang ditimbulkannya yang menunjukkan kadar agen antimikroba yang menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media Agar.

c. *Ditch-plate technique*

Pada metode ini sampel uji berupa agen antimikroba yang diletakkan pada parit yang dibuat dengan cara memotong media Agar dalam cawan Petri pada bagian tengah secara membujur dan mikroba uji (maksimum 6 macam) digoreskan ke arah parit yang berisi agen antimikroba.

d. *Cup-plate technique*

Metode ini serupa dengan metode disc difusion, dimana dibuat sumur pada media Agar yang telah ditanami dengan mikroorganisme dan pada sumur tersebut diberi agen antimikroba yang akan diuji.

e. *Gradient-plate technique*

Pada metode ini konsentrasi agen antimikroba pada media Agar secara teoritis bervariasi dari 0 hingga maksimal. Media Agar dicairkan dan larutan uji ditambahkan. Campuran kemudian dituang ke dalam cawan Petri dan diletakkan dalam posisi miring. Nutrisi kedua selanjutnya dituang di atasnya. Kemudian plate diinkubasi selama 24 jam untuk memungkinkan agen antimikroba berdifusi dan permukaan media mengering. Mikroba uji (maksimal 6 macam) digoreskan pada arah mulai dari konsentrasi tinggi ke rendah. Hasil diperhitungkan sebagai panjang total pertumbuhan mikroorganisme maksimum yang mungkin di bandingkan dengan panjang pertumbuhan hasil goresan.

Bila:

X = panjang total pertumbuhan mikroorganisme yang mungkin

Y = panjang pertumbuhan aktual

C = konsentrasi final agen antimikroba pada total volume media mg/mL

Maka konsentrasi hambatan adalah $[(X.Y)]: C$ mg/mL



2.4.2 Metode Dilusi

a. Metode dilusi cair / *broth dilution test (serial dilution)*

Metode ini mengukur KHM (Kadar Hambat Minimum) dan KBM (Kadar Hambar Maksimum). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antimikroba pada medium cair yang ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji agen antimikroba pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji ditetapkan sebagai KHM. Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode Dilusi Padat / *Solid Dilution Test*

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (solid).Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi agen antimikroba yang diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroba uji.

2.5 Ekstraksi dan Ekstrak

2.5.1 Metode Ekstraksi

Metode ekstraksi menurut Ditjen POM 2000, di antaranya adalah:

Ekstraksi dengan menggunakan pelarut:

A. Cara dingin

Terdapat sejumlah metode ekstraksi, yang paling sederhana adalah ekstraksi dingin, dengan cara ini bahan kering hasil gilingan diekstraksi pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya makin tinggi. Keuntungan metode ini adalah mudah dilakukan karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alami menjadi terurai.

1. Maserasi

Maserasi adalah proses pengekstrakan simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruang. Tujuan maserasi adalah untuk menarik zat-zat berkhasiat yang tahan pemanasan maupun yang tidak

tahan pemanasan. Secara teknologi maserasi termasuk ekstraksi dengan prinsip mode pencapaian konsentrasi pada keseimbangan.

2. Perkolasi

Perkolasi adalah ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru dan sempurna (*Exhaustive extraction*) yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan.

Prinsip perkolasi adalah dengan menempatkan serbuk simplisia pada suatu bejana silinder, yang bagian bawahnya diberi sekat berpori. Proses terdiri dari tahap pengembangan bahan, tahap maserasi antara, tahap perkolasi sebenarnya (penetesan/penampungan ekstrak), terus menerus sampai diperoleh ekstrak (perkolat) yang jumlahnya 1-5 kali bahan.

B. Cara Panas

1. Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu yang telah ditentukan dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Umumnya dilakukan pengulangan proses pada residu pertama sampai 3-5 kali sehingga dapat termasuk proses ekstraksi sempurna.

2. Sokletasi

Sokletasi adalah ekstraksi menggunakan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Biomasa ditempatkan dalam wadah soklet yang dibuat dengan kertas saring, melalui alat ini pelarut akan terus diefluks. Alat soklet akan mengosongkan isinya ke dalam labu dasar bulat setelah pelarut mencapai kadar tertentu. Setelah pelarut segar melewati alat ini melalui pendingin refluks, ekstraksi berlangsung sangat efisien dan senyawa dari biomasa secara efektif ditarik ke dalam pelarut karena konsentrasi awalnya rendah dalam pelarut.

3. Digesti

Digesti adalah maserasi dengan pengadukan kontinu (kinetik) pada temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40°C hingga 50°C.

4. Infus

Infus adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infus tercelup dalam penangas air mendidih, temperatur terukur 96-98°C selama 15 hingga 20 menit)

5. Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama (suhu lebih dari 30°C) dan temperatur sampai titik didih air.

C. Destilasi Uap

Destilasi uap adalah ekstraksi senyawa kandungan menguap (minyak atsiri) dari bahan (segar atau simplisia) dengan uap air berdasarkan peristiwa tekanan parsial senyawa kandungan menguap dengan fase uap air dari ketel secara kontinu sampai sempurna diakhiri dengan kondensasi fase uap campuran (senyawa kandungan menguap ikut terdestilasi) menjadi destilat air bersama senyawa kandungan yang memisah sempurna atau memisah sebagian.

2.5.2 Proses Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak melalui tahap-tahap sebagai berikut:

a. Pembasahan

Pembasahan serbuk dilakukan pada penyarian. Hal ini dilakukan untuk memberi kesempatan sebesar-besarnya kepada cairan penyari memasuki pori-pori dalam simplisia sehingga mempermudah penyarian selanjutnya.

b. Penyari/Pelarut

Cairan penyari yang digunakan dalam proses pembuatan ekstrak adalah penyari yang baik untuk senyawa kandungan yang berkhasiat atau aktif. Penyari tersebut dapat dipisahkan dari bahan dan senyawa kandungan lainnya. Terdapat beberapa faktor utama yang menjadi pertimbangan dalam memilih cairan penyari, yaitu: selektivitas, ekonomis, kemudahan bekerja, ramah lingkungan, dan aman. Dalam hal

keamanan untuk manusia atau hewan coba, cairan pelarut harus memenuhi syarat kefarmasian. Sampai saat ini berlaku aturan bahwa pelarut yang diperbolehkan adalah air, alkohol (etanol), atau campuran (air dan alkohol).

c. Pemisahan dan Pemurnian

d. Tujuan dari pemisahan dan pemurnian adalah untuk menghilangkan (memisahkan) senyawa yang tidak dikehendaki semaksimal mungkin tanpa pengaruh pada senyawa kandunga yang dikehendaki, sehingga diperoleh ekstrak yang lebih murni. Proses-proses pada tahap ini adalah pengendapan, pemisahan dua cairan tak bercampur, sentrifugasi, dekantasi, filtrasi, serta proses absorpsi, dan penukar ion.

e. Pemekatan/Penguapan

Pemekatan berarti peningkatan jumlah partikel solut (senyawa terlarut) dengan cara penguapan pelarut tanpa menjadi kering tetapi ekstrak hanya menjadi kental/pekat.

2.5.3 Ekstrak

Ekstrak adalah sediaan kental yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang terisi diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Menurut Istiqomah (2013), ekstrak dikelompokkan atas dasar sifatnya, yaitu:

a. Ekstrak encer adalah sediaan yang memiliki konsistensi semacam madu dan dapat dituang.

b. Ekstrak kental adalah sediaan yang dilihat dalam keadaan dingin dan tidak dapat dituang. Kandungan airnya berjumlah sampai 30%. Tingginya kandungan air menyebabkan ketidakstabilan sediaan obat karena cemaran bakteri.

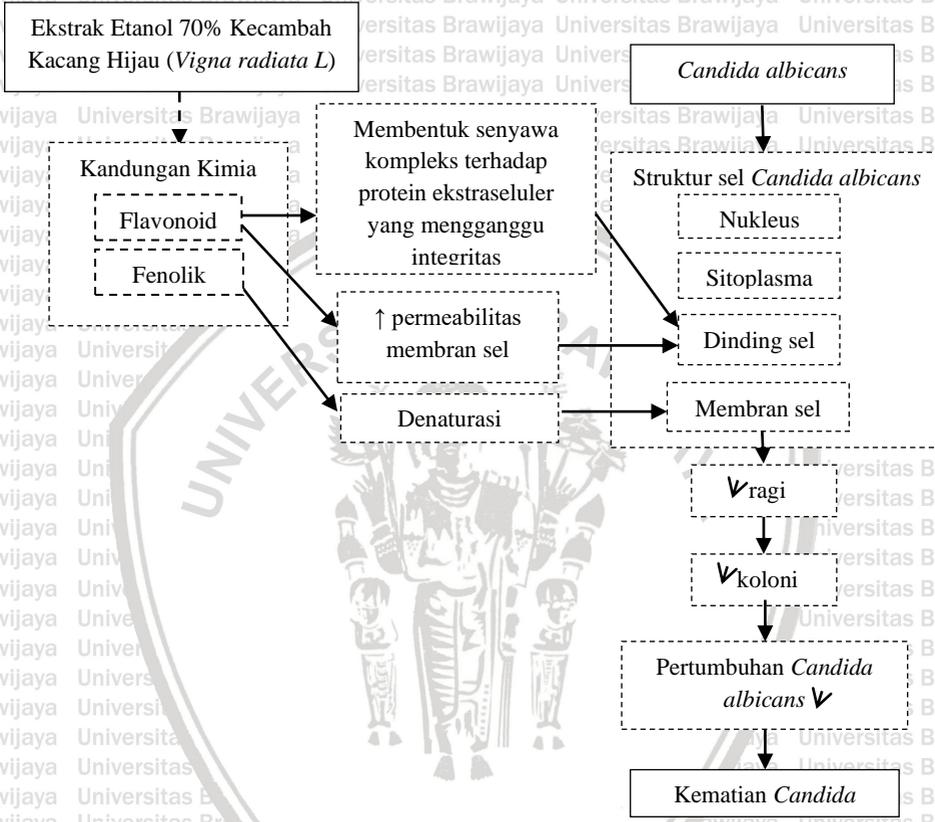
c. Ekstrak kering adalah sediaan yang memiliki konsistensi kering dan mudah dituang, sebaiknya memiliki kandungan lebab tidak lebih dari 5%

d. Ekstrak cair adalah ekstrak yang dibuat sedemikian rupasehingga 1 bagian simplisia sesuai dengan 2 bagian ekstrak cair.

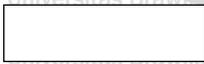
BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konsep



Keterangan:



: Variabel yang diteliti



: Variabel yang tidak diteliti



: Hubungan yang menyebabkan



: Menurun



Ekstrak etanol 70% Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) memiliki kandungan flavonoid dan fenolik. Kedua senyawa tersebut memiliki efek yang dapat menyebabkan gangguan pada sel *Candida albicans*. Flavonoid dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas dinding sel. Selain itu flavonoid juga dapat meningkatkan permeabilitas membran sel. Fenolik dapat melakukan denaturasi protein pada membran sel.

Sinergi dari senyawa kimia tersebut akan merusak dinding sel dan membran sel *Candida albicans*. Selanjutnya akan terjadi penurunan pembentukan tunas pada sel *Candida albicans* sehingga dapat menyebabkan terjadinya penurunan koloni sel *Candida albicans*. Efek dari mekanisme tersebut akan menyebabkan pertumbuhan *Candida albicans* terhambat hingga terjadi kematian *Candida albicans*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata* L) efektif menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.



BAB IV

METODOLOGI PENELITIAN

4.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini menggunakan rancangan penelitian *experimental post control design only*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi cair untuk menguji kemampuan antifungi ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

4.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian akan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang pada bulan September - Oktober 2019.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel yang digunakan untuk penelitian ini adalah jamur *Candida albicans* dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

4.3.1 Pengulangan Sampel

Sampel penelitian akan dilakukan pengulangan untuk tiap kelompok dengan tujuan meminimalisasi terjadinya bias pada hasil penelitian. Banyak pengulangan yang diperlukan dalam penelitian ini dapat dihitung menggunakan rumus Federer (1977), yaitu:

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

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$7n-7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 \text{ (dibulatkan ke atas menjadi 4)}$$

Keterangan:

t = jumlah perlakuan

n = besar sampel tiap kelompok

Setelah dilakukan perhitungan, maka pengulangan yang dilakukan pada penelitian ini sebanyak empat kali pengulangan



4.3.2 Variabel dan Kontrol Penelitian

4.3.2.1 Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*)

2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

4.3.2.2 Kontrol Penelitian

1. Kontrol Negatif

Kontrol negatif dalam penelitian ini adalah adalah tabung reaksi yang berisi media cair tanpa ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

2. Kontrol Positif

Kontrol positif pada penelitian ini adalah tabung reaksi yang berisi media cair yang telah dilakukan dilusi dengan Nistatin 1%. Nistatin yang dipakai memiliki konsentrasi 100.000 IU/ml yang telah dikonversikan dalam bentuk persentase dan diencerkan menjadi konsentrasi 1%. Konversi ke dalam bentuk persen mengacu pada panduan *The International Standard for Nystatin* yang menyatakan $1 \text{ mg} = 3000 \text{ unit}$ sehingga $100.000 \text{ IU} = 33,333 \text{ mg}$ Nistatin A1 (Tajj, 2003)

4.4 Alat dan Bahan

4.4.1 Penyediaan Kecambah Kacang Hijau

Bahan yang digunakan adalah kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang diperoleh dari Pasar Oro Oro Dowo Kota Malang, Jawa Timur

4.4.2 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

Alat dan bahan yang digunakan dalam proses ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) antara lain adalah: Blender, *beaker glass*, ayakan, wadah kaca (toples kaca), kertas saring, *rotary evaporator*, *waterbath*, timbangan elektrik, kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) dan etanol 70%

4.4.3 Alat dan Bahan Identifikasi Jamur

4.4.3.1 Alat dan Bahan Identifikasi Jamur dengan Pewarnaan Gram

Alat dan bahan yang digunakan untuk identifikasi jamur dengan pewarnaan gram adalah: Isolat jamur *Candida albicans*, *anaerobic*

jar, bahan pewarnaan Gram (Kristal, violet, lugol, alkohol 96%, safranin), *nutrient Broth*, ose, kertas penghisap, kapas, minyak emersi, mikroskop, gelas objek, tabung reaksi, lampu spiritus

4.4.3.2 Alat dan Bahan untuk Identifikasi Jamur dengan Uji *Germ Tube*

Alat dan bahan yang digunakan untuk identifikasi jamur dengan uji *germ tube* adalah: Cover glass, objek glass, tabung reaksi, pipet Pasteur, mikroskop, reagen serum *Bovine*

4.4.3.3 Alat dan Bahan untuk Uji Daya Antijamur Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) melalui Metode Dilusi Cair

Alat dan bahan yang digunakan untuk uji efektivitas antijamur ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) terhadap jamur *Candida albicans* pada penelitian ini adalah: Ekstrak etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) dalam beberapa konsentrasi berbeda, ose, mikropipet, *Plate* steril, inkubator, pembakar spiritus, timbangan, BHI Agar, BHI *Broth*, isolat *Candida albicans*, akuades

4.5 Definisi Operasional

Pada penelitian yang dimaksud dengan:

1. Ekstrak etanol Kecambah Kacang Hijau adalah ekstrak yang diperoleh dari kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang dibeli di Pasar Oro-Oro Dowo, Malang, diidentifikasi oleh UPT Matera Medika, Batu dan pembuatan ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau dilakukan di Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang dengan metode maserasi dengan pelarut etanol 70%. Konsentrasi ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) adalah ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang diencerkan menjadi beberapa konsentrasi, yaitu 12000 mg/ml, 6000 mg/ml, 3000 mg/ml, 1500 mg/ml, 750 mg/ml, dan 375 mg/ml.
2. Uji sensitivitas antijamur adalah uji sensitivitas yang dilakukan secara *in vitro* dengan mencampur bahan antijamur yang diuji dengan berbagai variasi konsentrasi ke dalam media cair yang kemudian ditambahkan dengan perbenihan cair yang telah mengandung jamur *Candida albicans* dengan jumlah yang telah distandarisasi (1×10^3 CFU/ml).

3. Pertumbuhan jamur *Candida albicans* adalah pertumbuhan jamur yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan dalam tabung dan pertumbuhan koloni pada penggoresan media agar

4.6 Prosedur Penelitian

4.6.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

Pembuatan ekstrak menggunakan metode maserasi dengan menggunakan pelarut etanol cair. Serbuk simplisia Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang diperlukan seberat 500 g. Serbuk simplisia dimasukkan dalam toples kaca dan dimaserasi dengan pelarut etanol sebanyak 2,5 L pada suhu ruang selama 24 jam. Kemudian hasil filtrat maserasi disaring dengan menggunakan kertas saring. Selanjutnya filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C sampai pelarut tidak tersisa, sehingga diperoleh ekstrak etanol cair. Kemudian hasil ekstrak etanol cair diuapkan di atas *waterbath* buatan hingga didapatkan ekstrak kental dengan konsentrasi 100% sebanyak 60 ml. (Rosidah dkk, 2014)

4.6.2 Pengenceran Ekstrak Etanol Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*)

1. Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 100% = 1 ml ekstrak
2. Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 50% = 0,5 ml ekstrak + 0,5 ml aquades
3. Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 25% = 0,25 ml ekstrak + 0,75 aquades
4. Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 12,5% = 0,125 ml ekstrak + 0,875 ml aquades
5. Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 6,25% = 0,0625 ml ekstrak + 0,9375 ml aquades
6. Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) 3,125% = 0,03125 ml ekstrak + 0,96875 ml aquades (Puspitasari, 2012)

Rumus ekstrak kecambah kacang hijau (gr/ml):

$$\frac{\text{berat simplisia (gram)}}{\text{volume pelarut etanol (ml)}} \times \text{hasil ekstrak kental (ml)}$$

Perhitungan ekstrak kecambah kacang hijau 100% (gr/ml):

$$\frac{500 \text{ gram}}{2500 \text{ ml}} \times 60 \text{ ml} = 12 \text{ gr/ml} \sim 12000 \text{ mg/ml}$$

4.6.3 Uji Identifikasi Jamur

4.6.3.1 Uji Pewarnaan Gram

Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara (Rezeki dkk., 2016):

1. Satu ose akuades steril ditetaskan pada gelas objek, lalu diambil sedikit jamur untuk disuspensi dengan akuades yang telah diletakkan di atas gelas objek, lalu dibiarkan kering di udara
2. Suspensi jamur yang sudah kering difiksasi dengan cara melewati beberapa kali di atas api. Sediaan siap diwarnai
3. Kristal violet ditetaskan pada sediaan dan ditunggu selama satu menit. Sisa kristal violet dibuang dan dibilas dengan air
4. Lugol ditetaskan pada sediaan dan ditunggu selama satu menit. Sisa lugol dibuang dan dinilas dengan air
5. Alkohol 96% ditetaskan pada sediaan dan ditunggu selama satu menit. Sisa alkohol dibuang dan dibilas dengan air
6. Safranin ditetaskan pada sediaan dan ditunggu selama 30 detik. Sisa safranin dibuang dan dibilas dengan air
7. Sediaan dikeringkan dengan kertas penghisap
8. Sediaan ditetesi minyak emersi dan dilihat di bawah mikroskop dengan perbesaran total 1000x

4.6.3.2 Uji *Germ Tube*

Uji *Germ tube* dapat dilakukan dengan cara (Raju', 2011):

1. Masukkan 3 tetes serum ke dalam tabung reaksi
2. Ambil koloni jamur menggunakan pipet Pasteur, kemudian masukkan ke dalam tabung reaksi
3. Inkubasi pada suhu 37°C selama 2 hingga 4 jam
4. Teteskan koloni dalam serum pada gelas objek dan tutup dengan *cover glass*
5. Amati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x

4.6.4 Pembuatan Suspensi Jamur Uji

Ambil koloni jamur dengan ose kemudian dimasukkan ke dalam 10 ml NaCl 0,85% steril. Setelah itu ukur *Optical Density* (OD) atau kepadatan optisnya dengan spektrofotometer pada $\lambda = 530$ nm. Dari hasil yang diperoleh dibuat suspensi jamur yang mengandung 1×10^3 CFU/ml sengan rumus $n1 \times v1 = n2 \times v2$

4.6.5 Uji Efektivitas Ekstrak Kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) sebagai Antijamur *Candida albicans* Menggunakan Metode Dilusi Cair

1. Penelitian Pendahuluan

Penelitian pendahuluan dilakukan menggunakan metode dilusi cair dengan konsentrasi ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) sebanyak 12000 mg/ml, 6000 mg/ml, 3000 mg/ml, 1500 mg/ml, 750 mg/ml, dan 375 mg/ml. Prosedur yang dilakukan dalam penelitian pendahuluan menggunakan dilusi cair antara lain:

- Disediakan 6 tabung reaksi steril, kemudian diberi tanda besarnya konsentrasi larutan ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang dicampur dalam SDL, yaitu 12000 mg/ml, 6000 mg/ml, 3000 mg/ml, 1500 mg/ml, 750 mg/ml, dan 375 mg/ml.
- Volume yang digunakan dalam setiap tabung reaksi adalah 1 ml, sehingga volume ekstrak dan SDL yang dimasukkan ke dalam tabung reaksi mengacu pada pengenceran yang telah dibuat sebelumnya.
- Setelah dicampur seluruh tabung kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam
- Setiap tabung reaksi ditambahkan suspensi jamur uji (*Candida albicans*)
- Semua tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam
- Dilakukan pengamatan terhadap koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh dalam tabung reaksi yang telah diinkubasi dengan mengamati kekeruhan masing-masing tabung. Kemudian dapat ditentukan konsentrasi ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang akan dilakukan uji efektivitas dengan melihat rentang antara konsentrasi ekstrak pada tabung reaksi yang tidak ditemukan adanya pertumbuhan koloni dengan konsentrasi ekstrak pada tabung reaksi satu tingkat di bawahnya yang masih ditemukan adanya pertumbuhan koloni. Dalam hal ini terdapat kemungkinan rentang antara 0-375 mg/ml, 375-750 mg/ml, 750-1500 mg/ml, 1500-3000 mg/ml, 3000-6000 mg/ml, 6000-12000 mg/ml.

2. Kontrol negatif dan kontrol positif

Kontrol negatif dilakukan menggunakan dilusi tabung dengan konsentrasi ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) sebesar

0 mg/ml. Sedangkan kontrol positif dilakukan dengan metode dilusi tabung menggunakan Nistatin dalam bentuk sediaan suspensi 1%. Prosedur yang dilakukan dalam metode dilusi cair antara lain:

- a. Disediakan 2 tabung reaksi, kemudian diberi tanda kontrol negatif dan Nistatin 1%
- b. Volume yang digunakan dalam setiap tabung adalah 1 ml, sehingga volume ekstrak dan SDL yang dimasukkan ke dalam tabung:
$$\text{Konsentrasi } 0 \text{ mg/ml} = 0 \text{ ml ekstrak } 12 \text{ mg/ml} + 1 \text{ ml SDL}$$
$$\text{Nistatin } 1\% = 0,01 \text{ ml Nistatin } 1\% + 0,99 \text{ ml SDL}$$
- c. Setelah dicampur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam
- d. Setiap tabung reaksi ditetesi dengan jamur uji yaitu *Candida albicans*
- e. Semua tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam
- f. Dilakukan pengamatan terhadap koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada tabung reaksi

3. Uji Efektivitas

Uji efektivitas ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) dilakukan dengan metode dilusi tabung. Prosedur dari metode dilusi cair adalah sebagai berikut:

- a. Disediakan 6 tabung reaksi, kemudian diberi tanda besarnya konsentrasi larutan ekstrak kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) yang dicampur dalam SDL, yaitu 9000 mg/ml, 8400 mg/ml, 7800 mg/ml, 7200 mg/ml, 6600 mg/ml, 6000 mg/ml, 5400 mg/ml, dan 4800 mg/ml.
- b. Volume yang digunakan dalam setiap *plate* adalah 1 ml
- c. Setelah dicampur kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam
- d. Setiap tabung reaksi ditetesi dengan jamur uji yaitu *Candida albicans*
- e. Semua tabung reaksi diinkubasi pada suhu 37°C selama 18 hingga 24 jam
- f. Dilakukan pengamatan terhadap koloni jamur *Candida albicans* yang tumbuh pada tabung yang telah diinkubasi dengan menganalisis tingkat kekeruhannya. Larutan agen antifungi pada

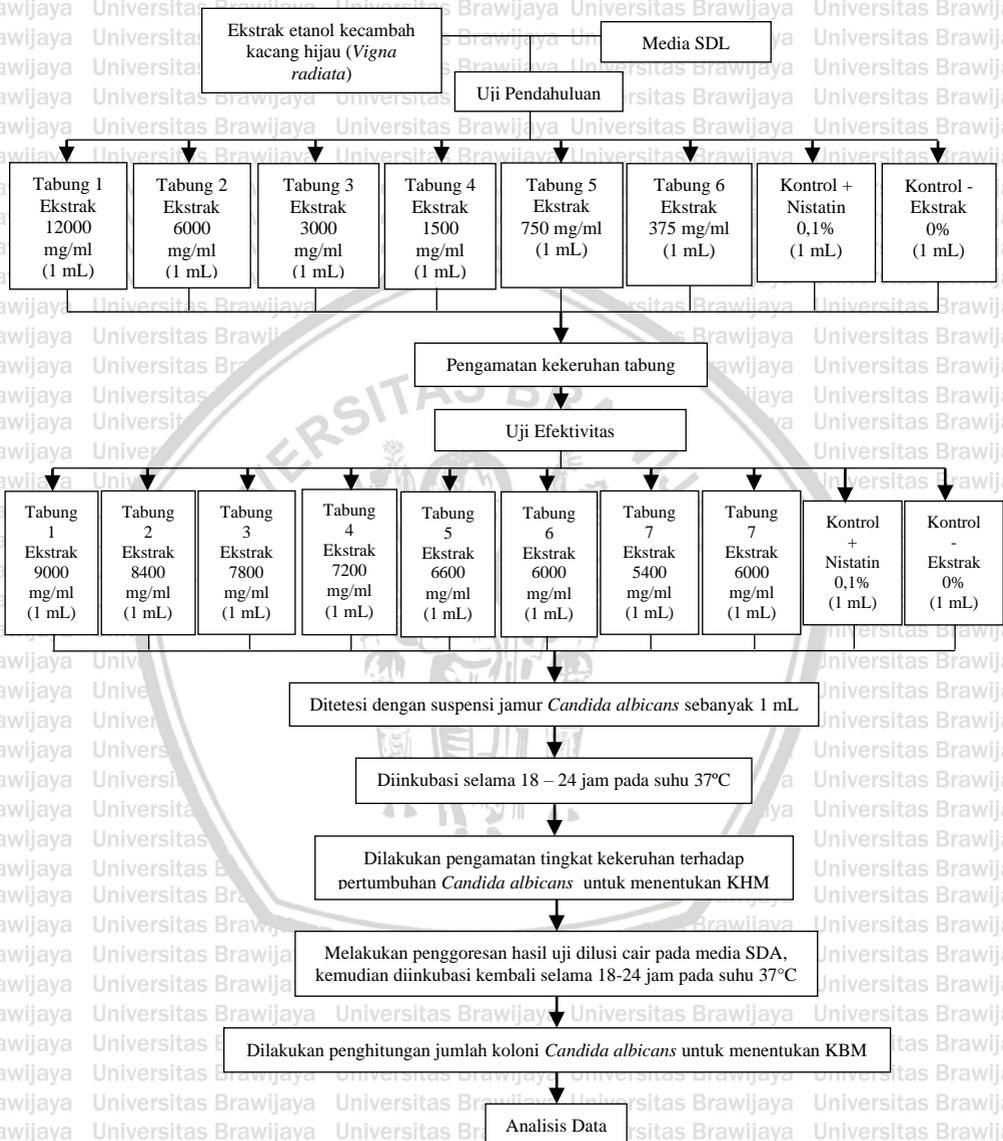
konsentrasi terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan koloni ditetapkan sebagai kadar hambat minimum (KHM).

g. Untuk mengetahui kadar bunuh minimum (KBM) dilakukan dengan menginkubasikan kembali konsentrasi yang telah ditetapkan sebagai KHM dan tanpa penambahan mikroba uji ataupun agen antimikroba. Inkubasi dilakukan selama 18 – 24 jam. Tabung reaksi yang tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Pratiwi, 2008).

h. Dilakukan penghitungan jumlah koloni dengan *colony counter*.



4.7 Skema Alur Penelitian



4.8 Analisis Data

Uji normalitas dan homogenitas varian menggunakan uji *Shapiro-Wilk* dilakukan terlebih dahulu pada data. Apabila distribusi data tidak normal atau tidak homogen atau data berupa data ordinal, analisis data yang digunakan adalah uji statistik *Kruskal Wallis*, uji *Post-Hoc Mann Whitney*, uji statistik korelasi *Spearman* dengan derajat kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Perbedaan pengaruh berbagai konsentrasi ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) terhadap *Candida albicans* dapat diketahui melalui uji *Kruskal-Wallis* sehingga dapat diketahui apakah ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) memiliki pengaruh antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Keeratan hubungan pemberian perlakuan terutama yang disebabkan oleh pemberian ekstrak etanol kecambah Kacang Hijau (*Vigna radiata*) dengan pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* dapat diketahui dengan uji korelasi *Spearman*. Apabila data terdistribusi normal dan homogen, maka analisis data yang digunakan adalah uji statistik *one way ANOVA*, uji statistik korelasi *Pearson*, dan uji regresi. Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak SPSS (*Statistical Product of Service Solution*) versi 19.0 untuk Windows.



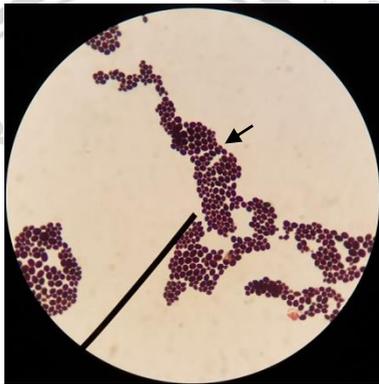
BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Identifikasi Jamur

5.1.1 Hasil Pewarnaan Gram

Hasil pewarnaan *Gram* menunjukkan adanya sel ragi oval yang berwarna keunguan. Hasil Pewarnaan ini sesuai dengan sifat jamur *Candida albicans* yang merupakan gram positif (Jawetz dkk, 2001).

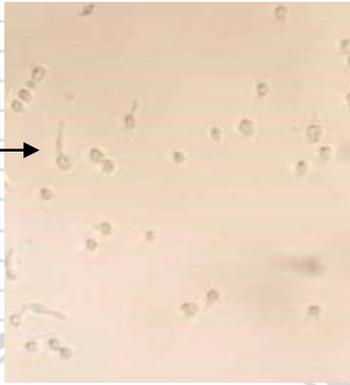


Gambar 5.1 Hasil Pewarnaan Gram pada *Candida albicans* dengan Perbesaran 1000×

5.1.2 Hasil Tes *Germ Tube*

Tes *Germ Tube* merupakan tes penting yang perlu dilakukan untuk identifikasi *Candida albicans* dikarenakan tes ini berfungsi untuk membedakan strain *Candida albicans* dengan strain *Candida* yang lain. Tes ini dilakukan dengan cara memasukkan isolate jamur *Candida albicans* ke dalam tabung berisi plasma mamalia selama kurang lebih 4 jam. Hasil dari tes *Germ Tube* menunjukkan adanya bentukan *chlamydospore* memanjang yang khas dari *Candida albicans*. Hasil tes *Germ tube* dapat diamati pada gambar 5.2





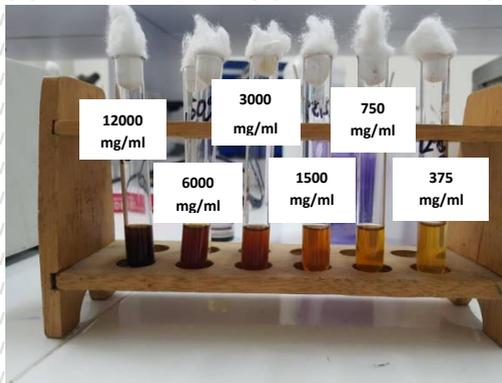
Gambar 5.2 Hasil Tes *Germ Tube* dengan Perbesaran 1000×

5.2 Hasil Ekstraksi Kecambah Kacang Hijau

Ekstrak kecambah kacang hijau dilakukan dengan metode maserasi, menggunakan metanol sebagai pelarut. Metode maserasi digunakan karena metode maserasi dapat menghindari rusaknya senyawa yang bersifat termolabil. Ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) memiliki warna kecoklatan dan keruh.

5.3 Uji Pendahuluan Dengan Metode Dilusi Tabung

Metode yang dilakukan untuk uji pendahuluan adalah dilusi tabung. Uji pendahuluan ini menggunakan ekstrak etanol kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) yang diproses oleh Jurusan Teknik Kimia Politeknik Negeri Malang. Serbuk simplisia kecambah kacang hijau yang digunakan seberat 500 gram dengan menggunakan pelarut etanol 8400 mg/ml sebanyak 2500 ml dan diekstrak dengan metode maserasi dengan hasil ekstrak berbentuk cair sebanyak 40 ml. Penelitian pendahuluan dilakukan untuk memperoleh rentang konsentrasi paling minimal untuk memperoleh hasil penelitian yang lebih teliti. Rentang konsentrasi uji pendahuluan adalah 12000 mg/ml, 6000 mg/ml, 3000 mg/ml, 1500 mg/ml, 750 mg/ml, 375 mg/ml, 0 mg/ml sebagai kontrol negatif dan nistatin 1% sebagai kontrol positif. Masing-masing tabung dimasukkan ke dalam *incubator* pada suhu 37°C selama 24 jam.



Gambar 5.3 Hasil Dilusi Tabung Uji Pendahuluan



Gambar 5.4 Hasil Uji Pendahuluan

Hasil streaking uji pendahuluan (Gambar 5.6) menunjukkan jumlah koloni paling sedikit pada konsentrasi 6000 mg/ml dan tidak terdapat pertumbuhan dimulai pada konsentrasi 12000 mg/ml. Oleh karena itu dilakukan perapatan dengan konsentrasi 9000 mg/ml, 8400 mg/ml, 7800 mg/ml, 7200 mg/ml, 6600 mg/ml, 6000 mg/ml, 5400 mg/ml, 4800 mg/ml.

5.5 Kadar Hambat Minimum (KHM)

Kadar hambat minimum (KHM) tidak dapat ditentukan dikarenakan warna ekstrak keruh.

5.6 Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Kadar bunuh minimal (KBM) adalah kadar bunuh terendah dari antifungi untuk membunuh fungi atau memungkinkan pertumbuhan fungi uji hanya 0,1% dari jumlah fungi yang diinokulasikan.



Gambar 5.5 Hasil Uji Perapatan

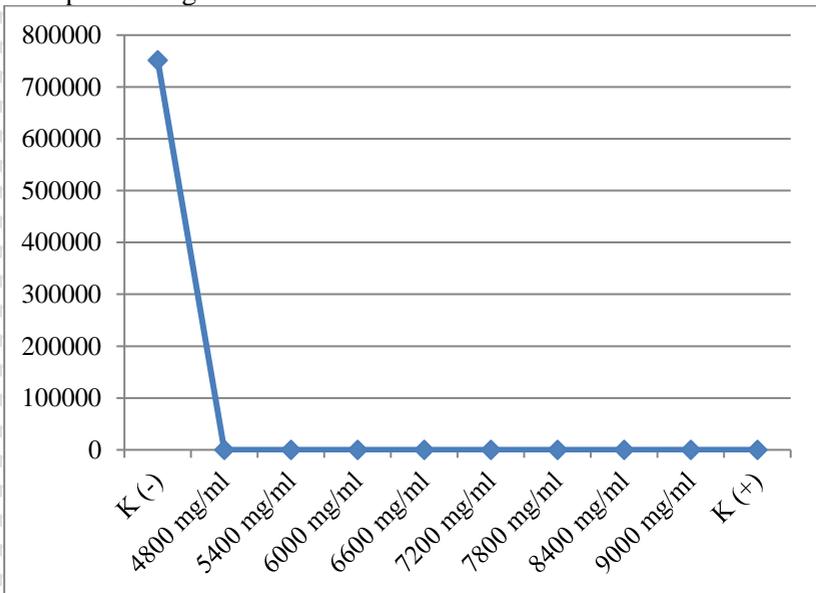
Tabung diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37°C untuk melihat KHM, setelah itu mengambil satu ose setiap konsentrasi ekstrak pada konsentrasi 4800 mg/ml, 5400 mg/ml, 6000 mg/ml, 6600 mg/ml, 7200 mg/ml, 7800 mg/ml, 8400 mg/ml, 9000 mg/ml, nistatin 1% sebagai kontrol (+), dan 0% sebagai kontrol (-). Setelah itu konsentrasi ekstrak diinokulasikan pada SDA dan diinkubasi kembali pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Perhitungan koloni dilakukan keesokan harinya dengan alat *colony counter*.

Selanjutnya adalah uji pengulangan, masing masing tabung konsentrasi 4800 mg/ml, 5400 mg/ml, 6000 mg/ml, 6600 mg/ml, 7200 mg/ml, 7800 mg/ml, 8400 mg/ml, 9000 mg/ml, kontrol (+), dan kontrol (-) diambil satu ose, distreaking pada SDA dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C didapatkan hasil seperti gambar 5.6. Tampak terdapat pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada konsentrasi 4800 mg/ml, 5400 mg/ml, 6000 mg/ml, 6600 mg/ml, 7200 mg/ml, 7800 mg/ml, dan 8400 mg/ml. Tidak ada pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada konsentrasi 9000 mg/ml.

Tabel 5.1 Perhitungan Koloni Jamur Yang Tumbuh Pada SDA

Konsentrasi	Jumlah Koloni				Rerata
	I	II	III	IV	
K(-)	884676	555758	720217	844979	751407,5
K(+)	0	0	0	0	0
4800 mg/ml	186	160	178	153	169,25
5400 mg/ml	177	150	148	156	157,75
6000 mg/ml	129	125	145	138	134,25
6600 mg/ml	98	105	123	118	111
7200 mg/ml	90	61	94	88	83,25
7800 mg/ml	61	53	62	57	58,25
8400 mg/ml	15	17	19	18	17,25
9000 mg/ml	0	0	0	0	0

Rerata pertumbuhan koloni *Candida albicans* pada *original inoculum* adalah sebanyak 182 CFU/plate. Penentuan KBM ekstrak kecambah kacang hijau adalah pertumbuhan koloni yang kurang dari 0,1% *original inoculum* dimana 0,1% dari 182 adalah 0,182. Berdasarkan hasil pengamatan tersebut, konsentrasi 9000 mg/ml menunjukkan tidak ada pertumbuhan koloni pada SDA, sehingga dapat dikatakan $<0,182$ sehingga konsentrasi 9000 mg/ml bisa ditetapkan sebagai nilai KBM.



Gambar 5.6 Grafik Rerata Jumlah Koloni Jamur

5.7 Analisis Data

Analisis data dilakukan berdasarkan koloni jamur pada agar yang telah di-*streaking* dari tabung berisi simplisia kecambah kacang hijau dan jamur yang sebelumnya sudah diinkubasi. Data yang didapat dari hasil penelitian pertama-tama dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Data yang didapatkan ternyata tidak normal maka tidak dilakukan uji homogenitas. Uji yang digunakan adalah Kruskal Wallis untuk melihat perbandingan jumlah koloni untuk setiap konsentrasi secara keseluruhan. Selanjutnya dilakukan uji Mann Whitney dan uji korelasi Spearman.

5.7.1 Analisis Data Kadar Hambat Minimum Dengan Melihat Jumlah Koloni Hasil Streaking

Data hasil penelitian terlebih dahulu dilakukan uji normalitas dan uji homogenitas. Jumlah sampel penelitian adalah 32, sehingga uji normalitas *Saphiro-wilk* digunakan karena data kurang dari 50. Pada uji normalitas *Saphiro-wilk* data dinyatakan berdistribusi normal apabila angka signifikansi >0,05. Berdasarkan tabel 5.1 didapatkan bahwa angka signifikansi jumlah koloni hasil streaking 0,00 (p<0,05)

Tabel 5.2 Hasil Uji Normalitas dan *Kruskal Wallis* Jumlah Koloni

Kelompok	Jumlah Koloni				Uji <i>Saphiro-Wilk</i>	Kruskal Wallis
Kontrol negatif	884676	555758	720217	844979	Angka signifikansi 0,00	Asymp sig 0,00
Kontrol (+) Nistatin	0	0	0	0		
9000 mg/ml	0	0	0	0		
8400 mg/ml	15	17	19	18		
7800 mg/ml	61	53	62	57		
7200 mg/ml	90	61	94	88		
6600 mg/ml	98	105	123	118		
6000 mg/ml	129	125	145	138		
5400 mg/ml	177	150	148	156		
4800 mg/ml	186	160	178	153		

Karena data yang diuji tidak berdistribusi normal, maka selanjutnya data dianalisis dengan menggunakan *Kruskal wallis*



untuk mengetahui adanya perbedaan berbagai konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau terhadap jumlah koloni.

Pada uji Kruskal wallis data dinyatakan terdapat perbedaan yang bermakna apabila nilai Asymp signifikansi <0.05 . Hasil uji *Kruskal wallis* pada tabel 5.1 menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi sebesar 0,00 ($p < 0,05$). Setelah dilakukan uji *Kruskal wallis* maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dilakukan uji *Mann Whitney*. Kelompok dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $<0,05$.

Setelah dilakukan uji Mann whitney kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi *spearman* untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada uji *spearman* data dinyatakan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni apabila nilai signifikansi Sig (2-tailed) $<0,05$. Berdasarkan tabel 5.3 didapatkan nilai signifikansi Sig (2-tailed) $0,00 < 0,05$. Maka dapat disimpulkan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dengan jumlah koloni. Selanjutnya melihat dari tingkat keeratan hubungan.

Tabel 5.4 Hasil Uji Spearman

Kelompok	Rerata jumlah koloni	Sig (2 tailed)	Correlation coefficient
Kontrol negatif	751407,5	0,00	-0,990
Kontrol (+) Nistatin	0		
9000 mg/ml	0		
8400 mg/ml	17,25		
7800 mg/ml	58,25		
7200 mg/ml	83,25		
6600 mg/ml	111		
6000 mg/ml	134,25		
5400 mg/ml	157,75		
4800 mg/ml	169,25		

Berdasarkan tabel 5.3 didapatkan koefisien korelasi sebesar -0,990. Artinya tingkat hubungan (korelasi) antara variabel konsentrasi dan jumlah koloni adalah sebesar -0,990 atau sangat kuat. Angka koefisien korelasi pada tabel 5.3 bernilai negatif 0,990

sehingga hubungan antara kedua variabel tersebut bersifat tidak searah.

5.8 Pembahasan

Uji identifikasi yang dilakukan terhadap *Candida albicans* adalah pewarnaan Gram dan *germ tube*. Pada pewarnaan Gram, hasil menunjukkan bahwa jamur *Candida albicans* bersifat gram positif dengan adanya sel ragi berbentuk oval dan *budding cell* berwarna keunguan. *Candida albicans* memang bersifat gram positif karena adanya sel ragi (blastospora) yang berbentuk oval dengan dominasi warna ungu (Sri et al., 2018). Perubahan menjadi warna ungu tersebut dikarenakan struktur dinding sel *Candida albicans* yang terbuat dari peptidoglikan yang tebal sehingga dapat menahan zat warna ungu meskipun telah didekolorisasi dengan alkohol (Putri dkk, 2016). Berdasarkan uji *Germ Tube* didapatkan hasil bahwa jamur yang diidentifikasi benar *Candida albicans*. Uji *Germ Tube* dilakukan pada serum yang ditambah dengan isolat jamur *Candida albicans* lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 1-2 jam. Setelah diinkubasi dapat terlihat pembentukan *chlamydospore* memanjang khas *Candida albicans* (Tjampakasari, 2006)

Ekstrak kecambah kacang hijau diekstraksi menggunakan metode maserasi dengan pelarut etanol. Metode maserasi dipilih karena teknik ini mudah dan tidak perlu pemanasan dengan suhu tinggi sehingga kecil kemungkinan bahan alam menjadi rusak atau terurai dan dikarenakan pengerjaan metode maserasi lama dan dalam keadaan diam selama maserasi memungkinkan banyak senyawa yang akan terekstraksi (Susanty dan Fairus, 2016). Etanol merupakan pelarut yang bersifat polar (Hidayah dkk., 2016). Pelarut etanol mempunyai titik didih yang rendah dan cenderung aman. Etanol juga tidak beracun dan berbahaya, selain itu etanol juga mempunyai kepolaran tinggi sehingga mudah untuk melarutkan senyawa resin, lemak, minyak, asam lemak, karbohidrat dan senyawa organik lainnya (Zainab, 2013).

Berdasarkan hasil penelitian pendahuluan menggunakan ekstrak yang dibuat konsentrasi 375 mg/ml, 750 mg/ml, 1500 mg/ml, 3000 mg/ml, 6000 mg/ml, 12000 mg/ml, 0% sebagai kontrol negatif, dan nistatin 1% sebagai kontrol positif. Nilai KHM pada penelitian pendahuluan tidak dapat dievaluasi dikarenakan warna ekstrak yang keruh. Penelitian dilanjutkan dengan melakukan *streaking* hasil uji

dilusi tabung pada media agar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Berdasarkan hasil *streaking* pada media agar, pada penelitian pendahuluan kedua menunjukkan bahwa pada konsentrasi 375 mg/ml, 750 mg/ml, 1500 mg/ml, 3000 mg/ml, 6000 mg/ml masih ditumbuhi koloni jamur *Candida albicans*, sedangkan pada konsentrasi 12000 mg/ml tidak terdapat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*.

Setelah dilakukan penelitian pendahuluan, penelitian dilanjutkan dengan uji perapatan. Tujuan dari uji perapatan ini adalah untuk melanjutkan uji pendahuluan dan mendapatkan hasil yang lebih tepat dari penelitian pendahuluan. Metode yang digunakan pada uji perapatan adalah metode dilusi tabung. Konsentrasi yang digunakan adalah konsentrasi 4800 mg/ml, 5400 mg/ml, 6000 mg/ml, 6600 mg/ml, 7200 mg/ml, 7800 mg/ml, 8400 mg/ml, 9000 mg/ml, nistatin 1% sebagai kontrol (+), dan konsentrasi 0% sebagai kontrol (-). Nilai KHM setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C pada uji perapatan ini tidak dapat dievaluasi dikarenakan warna ekstrak yang keruh. Penyebab dari kekeruhan ini salah satunya karena terdapat senyawa saponin dalam ekstrak. Beberapa saponin ternyata mempunyai sifat asam, karena adanya gugus karboksil pada aglikon dan atau gugus gula (Azizah dkk., 2016). Menurut Suhardi (1992) dalam Azizah dkk. (2016), kelarutan protein akan meningkat jika diberi perlakuan asam yang berlebihan. Ini terjadi karena ion positif pada asam yang menyebabkan protein yang semula bermuatan netral atau nol menjadi bermuatan positif yang menyebabkan kelarutannya bertambah, sehingga tabung menjadi keruh. Menurut Dzen (2003) dalam Wulandari dan Desi (2016) salah satu cara yang dapat dilakukan untuk menentukan nilai KHM jika hasil ekstrak terlalu keruh adalah dengan cara difusi cakram atau metode *E test*. Penelitian dilanjutkan dengan *streaking* hasil uji dilusi tabung pada media agar dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. berdasarkan hasil *streaking* pada media agar menunjukkan bahwa pada konsentrasi 4800 mg/ml, 5400 mg/ml, 6000 mg/ml, 6600 mg/ml, 7200 mg/ml, 7800 mg/ml, dan 8400 mg/ml masih ditumbuhi koloni *Candida albicans*. Sedangkan pada konsentrasi 9000 mg/ml tidak terdapat pertumbuhan koloni *Candida albicans*.

Penelitian dilanjutkan dengan uji pengulangan sebanyak empat kali tiap konsentrasi. Rata-rata jumlah koloni jamur pada konsentrasi 4800 mg/ml sebanyak 169,25, konsentrasi 5400 mg/ml sebanyak 157,75, konsentrasi 6000 mg/ml sebanyak 134,25, konsentrasi 6600 mg/ml sebanyak 111, konsentrasi 7200 mg/ml sebanyak 83,25, konsentrasi 7800 mg/ml sebanyak 58,25, konsentrasi 8400 mg/ml sebanyak 17,25, konsentrasi 9000 mg/ml sebanyak 0 koloni. Kontrol positif nistatin 1% menunjukkan rerata jumlah koloni sebanyak 0 koloni jamur, dan kontrol negatif menunjukkan rerata jumlah koloni jamur sebanyak 751407,5. Berdasarkan hasil penelitian tersebut maka semakin tinggi konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau maka semakin sedikit jumlah koloni jamur *Candida albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol kecambah kacang hijau memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara *In vitro*.

Nilai KBM ditentukan dari hasil perhitungan koloni menggunakan *colony counter*. Didapatkan KBM ekstrak kecambah kacang hijau pada konsentrasi 9000 mg/ml atau 9 gram/ml. Kadar bunuh minimal ditunjukkan dengan nilai koloni jamur kurang dari 0,1% *original inoculum*. Nilai *original inoculum* pada penelitian ini adalah 182, maka KBM dapat ditentukan apabila nilainya kurang dari 0,182. Ekstrak kecambah kacang hijau dapat membunuh jamur *Candida albicans* disebabkan oleh kandungan zat yang berada dalam ekstrak tersebut yaitu flavonoid dan fenolik. Flavonoid adalah metabolit sekunder dari polifenol, ditemukan secara luas pada tanaman serta makanan dan memiliki berbagai efek bioaktif termasuk anti virus, anti-inflamasi, kardioprotektif, antidiabetes, anti kanker, anti penuaan, antioksidan dan lain-lain (Zuraida, 2017). Senyawa flavonoid adalah senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, artinya kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Arifin, 2018). Flavonoid merupakan senyawa polar, maka flavonoid akan larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilformamida dan lain lain (Arifin, 2017). Flavonoid memiliki sifat lipofilik yang terbukti dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* dengan cara denaturasi protein, mengganggu lapisan lipid, dan mengakibatkan kerusakan dinding sel

(Putri, 2015). Fenol (C_6H_6OH) merupakan senyawa organik yang mempunyai gugus hidroksil yang terikat pada cincin benzena. Senyawa fenol memiliki beberapa nama lain seperti asam karbolik, fenat monohidroksibenzena, asam fenat, asam fenilat, fenil hidroksida, oksibenzena, benzenol, monofenol, fenil hidrat, fenilat alkohol, dan *fenol alcohol* (Nair *et al*, 2008). Berdasarkan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Anastasia (2015) dalam Lestari D.M dkk (2018), senyawa fenol bersifat polar. Sedangkan fenol sebagai antijamur memiliki kemampuan menghambat aktivitas jamur dengan cara denaturasi protein pada dinding sel sehingga merusak susunan dan mengubah mekanisme permeabilitas dari mikrosom, lisosom, dan dinding sel (Siddik dkk., 2016).

Dinding sel *Candida* spp. tersusun dari manoprotein dan protein-protein spesifik, seperti chitinase, enolase, helicase dan HSP70, yang menempel pada lapisan-lapisan glucans dan kitin (Tyasrini dkk., 2006). Senyawa fenolik dapat mendenaturasi protein, yaitu kerusakan struktur tersier protein sehingga protein kehilangan sifat-sifat aslinya. Terdenaturasinya protein dinding *C. albicans* akan menyebabkan kerapuhan pada dinding sel tersebut sehingga mudah ditembus zat aktif lainnya yang bersifat fungistatik. Jika protein yang terdenaturasi adalah protein enzim maka enzim tidak dapat bekerja yang menyebabkan metabolisme dan proses penyerapan nutrisi terganggu (Septiadi dkk., 2013). Komponen fenol pada flavonoid menyebabkan denaturasi enzim yang bertanggung jawab terhadap germinasi spora atau berpengaruh terhadap asam amino yang terlibat dalam proses germinasi (Kusumawati dkk., 2017). Sel ragi *Candida* spp. dapat melakukan adhesi ke dalam sel epitel yang kemudian membentuk *germ tube* dan mengalami pertumbuhan dengan terlebih dahulu mensekresi enzim fosfolipase untuk merusak membran sel epitel tersebut (Tyasrini dkk., 2006).

Setelah ditentukan Kadar Bunuh Minimum (KBM) langkah selanjutnya adalah melakukan analisis data. Pertama-tama dilakukan uji normalitas dengan uji normalitas *Saphiro-wilk*. Pada kadar bunuh minimum (KBM) didapatkan data tidak berdistribusi normal, dimana ($p < 0,05$), sehingga uji selanjutnya dilakukan dengan *Kruskal wallis*. Pada uji *Kruskal wallis* data dinyatakan terdapat perbedaan yang berarti apabila nilai Asymp signifikansi $< 0,05$. Hasil uji *Kruskal*

wallis pada KBM menunjukkan bahwa nilai Asymp signifikansi sebesar 0,00 ($p,0,05$). Dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan yang berarti pada berbagai konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau terhadap jumlah koloni *Candida albicans*.

Setelah dilakukan uji *Kruskal wallis* maka untuk mengetahui kelompok mana yang berbeda secara signifikan dilakukan uji *Mann Whitney*. Kelompok dinyatakan berbeda secara signifikan apabila nilai signifikansi $<0,05$. Pada uji *Mann whitney* ini jumlah koloni jamur hampir semuanya berbeda secara signifikan, kecuali pada konsentrasi 9000 mg/ml dan kontrol (+). Hal ini dikarenakan jumlah koloni pada kedua kelompok tersebut sama-sama 0.

Setelah dilakukan uji *Mann whitney* kemudian dilanjutkan dengan uji korelasi *spearman* untuk mengetahui hubungan antar variabel. Pada uji *spearman* data dinyatakan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni apabila nilai signifikansi Sig (2-tailed) $<0,05$. Pada uji ini didapatkan nilai signifikansi Sig (2-tailed) $0,00 < 0,05$. Maka dapat disimpulkan terdapat hubungan antara variabel konsentrasi ekstrak dan jumlah koloni. Selanjutnya melihat dari tingkat keeratan hubungan (koefisien korelasi) didapatkan koefisien korelasi sebesar -0,990 atau sangat kuat. Angka koefisien korelasi bernilai negatif yakni -0,990 sehingga hubungan antara kedua variabel tersebut tidak searah dan dapat diartikan bahwa semakin ditingkatkan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) maka jumlah koloni jamur *Candida albicans* akan semakin menurun.

Berdasarkan hasil penelitian terdapat penurunan jumlah koloni *Candida albicans* seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak kecambah kacang hijau, kemudian diperkuat dengan hasil analisis data.

BAB 7

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) terbukti efektif sebagai antifungi *Candida albicans* secara *in vitro*
2. Nilai KHM ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) tidak dapat ditentukan dikarenakan warna ekstrak keruh
3. Nilai KBM ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) adalah pada konsentrasi 75%
4. Terdapat hubungan antara penambahan konsentrasi ekstrak dengan penurunan jumlah koloni jamur *Candida albicans*

7.2 Saran

1. Diperlukan penelitian lebih lanjut menggunakan metode yang berbeda sehingga KHM dapat diketahui
2. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa yang terkandung dalam kecambah kacang hijau untuk mengetahui senyawa yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*
3. Penelitian ini dapat dikembangkan dengan mencoba berbagai pelarut dalam proses ekstraksi kecambah kacang hijau untuk mengetahui ekstrak dengan pelarut apa yang paling efektif dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*
4. Diperlukan penelitian lebih lanjut terhadap ekstrak kecambah kacang hijau (*Vigna radiata*) secara *in vivo* pada hewan coba

DAFTAR PUSTAKA

- Adianti, Anggana Maharaddhika. 2016. Profil Penggunaan Nistatin pada Pasien HIV/AIDS dengan Kandidiasis. Skripsi. Tidak Diterbitkan. Surabaya: Fakultas Farmasi Universitas Airlangga
- Andriani, Rini dan Lily Rundjan. 2010. "Nistatin Oral sebagai Terapi Profilaksis Infeksi Jamur Sistemik pada Neonatus Kurang Bulan" dalam Sari Pediatri Volume 11 No. 6. Jakarta: Departemen Ilmu Kesehatan Anak, RS Dr Cipto Mangunkusumo, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia
- Andrianto, T.T. dan Indarto N. 2004. Budidaya dan Analisis Tani Kedelai, Kacang Hijau, Kacang Panjang. Yogyakarta: Absolut
- Arifin, Bustanul dan Sanusi brahim. 2018. Struktur, Bioaktivitas, dan Antioksidan Flavonoid. Padang. Jurnal Zarah, Vol. 6 No.1 (2018), Halaman 21-29
- Aronson, Jeffrey K. 2009. Meyler's Side Effect of Antimicrobial Drugs. Jakarta: Elsevier
- Arzmi *et al.*, 2015. Coaggregation of *Candida albicans*, *Actinomyces naeslundii* and *Streptococcus mutans* is *Candida albicans* strain dependent. Melbourne. FEMS Yeast Research, 2015, Vol. 15, No. 5
- Asrullah, Muhammad. 2015. "Kecambah Kacang Hijau dan Efikasinya Terhadap Kesehatan" dalam Berkala Ilmiah Mahasiswa Gizi Indonesia Volume 3 No. 2. BIMKES
- Azizah, Nur, Endang Suarsini, dan Sitoresmi Prabaningtyas. 2016. Analisis Kandungan Kimia Infusa Tanaman Sangket (*Basilicum Polystachyon (L.) Moench*) Dan Uji Efektivitas Antifungal Infusa Tanaman Sangket Terhadap Penghambatan Pertumbuhan *Candida Albicans* Secara In Vitro. Jurusan Biologi Universitas Negeri Malang
- Balafif, Felisha Febriane, Mieke H. "Satari, dan Diah Dhanawaty. 2017. Aktivitas Antijamur Fraksi Air Sarang Semut



- Myrmecodia Pendens Pada Candida Albicans ATCC 10231” dalam MKB, Volume 49 No. 1, Maret 2017. Bandung: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran. Departemen Biologi Oral Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Padjadjaran. Departemen Biokimia Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran
- Bhavan PS, Rajkumar R, Radhakrishnan S. 2010. Culture and Identification of Candida albicans from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE. Coimbatore. International Journal of Microbiology.
- Berkhout. 1996. *Candida albicans*. Integrated Taxonomic Information System [ONLINE] https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=194598#null (Diakses tanggal 9 Februari 2019)
- Chismirina, Santi, Sri Rezeki, dan Zulfa Rusiwan. 2014. Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Buah Jamblang (*Syzygium cumini*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Syiah Kuala Aceh. Cakradonya Dent J 2014; 6(1):619-677
- Dewi, Firnanda Iptida dan Manik Retno Wahyuningtisari. 2018. Aktivitas Data Hambat Ekstrak Jahe Merah (*Zingiber officinale var rubrum*) Terhadap Pertumbuhan Kuman Staphylococcus Aureus. Universitas Airlangga, Surabaya. Journal of Vocational Health Studies 01 (2018): 113–116
- Ditjen POM. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Cetakan Pertama. Jakarta: Depkes RI
- Dorland, W.A. Newman. 2015. Kamus Saku Kedokteran Dorland; Edisi 29. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Fajariani, Dian. 2015. Daya Antibakteri Infusa Kismis (*Vitis vinifera L.*) Konsentrasi 100%, 50%, dan 25% Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Hakim, Luqmanul dan M. Ricky Ramadhian. 2015. Kandidiasis Oral. Lampung: Fakultas Kedokteran Universitas Lampung

Hartati, Maliftha Dwi Aini, dan Yuliyanti Yasin. 2019. Identifikasi *Candida albicans* pada Wanita Dewasa di Kota Kendari secara Makroskopis dan Mikroskopis. Kendari. Medula Volume 6 Nomor 2 Bulan April 2019

Hazardous Substances Data Bank. 2006. *Nystatin*. TOXNET System: The National Library of Medicine's [ONLINE] <https://toxnet.nlm.nih.gov/cgi-bin/sis/search2/f?./temp/~fZEvAb:1> (Diakses tanggal 10 Februari 2019)

Heritage, J., E. G. V. Evans dan R. A. Killington. 2003. Microbiology in Action. Cambridge: Cambridge University Press

Istiqomah. 2013. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (*Piperis retrofracti fructus*). Jakarta: Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah

Jayadisastra, Zakka Zayd. 2015. Efek Antifungi Cairan Tubuh Pseudocoelom dan Perienteral *Ascaris suum*, Goeze terhadap *Candida albicans*, (C.P. Robin) Berkhout Secara In Vitro. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret

Jawetz, E et al. 2001. Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology). Jakarta: EGC

Kasmiyati, Sri, Santosa, Irfan Dwidja Priyambada, Kumala Dewi dan Rintawati Sandradewi. "Perkecambahan Biji Dan Pertumbuhan Kecambah Varietas Sorgum (*Sorghum bicolor L.*) Pada Cekaman Krom Heksavalen" dalam BIOMA Vol. 17 No. 1. Yogyakarta: Fakultas Biologi Universitas Gadjah Mada.

Kayser, F.H., Bienz, K.A., Eckert, J., Zinkernagel, R.M. 2005. *Medical Microbiology*. Germany: Appl. Wemding

Komariah dan Ridhawati Sjam. 2012. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. Jakarta: Majalah Kedokteran FK UKI 2012 Vol XXVIII No.1

Kurniawan, Dwi. 2015. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa oleifera Lamk.*) Terhadap *Candida albicans* Secara *In Vitro*. Pontianak: Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura.

Kurniawati, Atik. Et al. 2016. Perbedaan khasiat anti jamur antara ekstrak etanol daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) dengan nistatin terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Jember: Jurnal PDGI Vol. 65, No. 3, September-Desember 2016: 74-77

Kusumawati, Eko, Anita Apriliana, dan Selviawati. 2017. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus niruri L.*) Terhadap *Candida Albicans* Menggunakan Metode Difusi Cakram. Jurnal Ilmiah Manuntung, 3(1), 1-6, 2017

Lestari, Dwi Marga, Nurul Mahmudati, Sukarsono, Nurwidodo, dan Husamah. 2018. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Fenol Daun Gayam (*Inocarpus fagiferus Fosb*). Malang. Biosfera Vol 35, No 1 Januari 2018 : 37 - 43

Lestari, Pujiana Endah. 2010. Peran Faktor Virulensi pada Patogenesis Infeksi *Candida albicans*. Jember: Stomatognatic (J.K.G Unej) Vol. 7 No. 2 2010: 113-17

Li, Li, Yinmao Dong, Hankun Ren, Yan Xue, Hong Meng, Minhui Li. 2017. Increased Antioxidant Activity and Polyphenol Metabolites in Methyl Jasmonate Treated Mung Bean (*Vigna radiata*) Sprouts. Beijing. Food Sci. Technol, Campinas, 37(3): 411-417, July-Sept. 2017

Lyu, Xin, Chen Zhao, Zhi-min Yan, dan Hong Hua. 2016. Efficacy of nystatin for the treatment of oral candidiasis: a systematic review and meta-analysis. *Drug Design, Development and Therapy* 2016;10 1161–1171

Mackenzie DW. Serum tube identification of *Candida albicans*. *J Clin Pathol*. 1962;15(6):563–565.

Magdalena Simatupang, Maria. 2009. *Candida albicans*. Medan: Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Selatan

Maleta, Hana Susanti et al. 2018. Ragam Metode Ekstraksi Karotenoid dari Sumber Tumbuhan dalam Dekade Terakhir (Telaah Literatur). *Jurnal Rekayasa Kimia dan Lingkungan* Vol 13, No.1, Hlm 40-50, Juni 2018

Maryam, Siti. 2015. Potensi Tempe Kacang Hijau Hasil Fermentasi Menggunakan Inokulum Tradisional Sebagai Pangan Fungsional. Singaraja. Jurusan Pendidikan Kimia, Universitas Pendidikan Ganesha Singaraja, Indonesia

Mutiawati, Vivi Keumala. 2016. Pemeriksaan Mikrobiologi pada *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* Volume 16 Nomor 1 Agustus 2016

Nair CI, Jayachandran K, Shashidar S. 2008. Biodegradation of phenol. *African Journal of Biotechnology*. 7. 4951-4958

Neville, Brad et al. 2002. *Oral & Maxillofacial Pathology*. Philadelphia, Pennsylvania: W.B Saunders Company

Nur'aeny, Nanan et al. 2017. “Profil *oral candidiasis* di bagian ilmu penyakit mulut RSHS Bandung periode 2010-2014” dalam *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia* Volume 3 No. 1. Bandung: Departemen Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Padjadjaran

Nurung, Sri Handriyani HR. 2016. Penentuan Kadar Total Fenolik, Flavonoid, dan Karotenoid Ekstrak Etanol Kecambah Kacang

Hijau (*Vigna radiata L.*) Menggunakan Spektrofometer UV-VIS. Makassar: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Alaudin

Pratiwi et al. 2008. Mikrobiologi Farmasi. Jakarta: Penerbit Erlangga

Prayoga, Eko. 2013. Perbandingan Efek Ekstrak Daun Sirih Hijau (*Piper betle L.*) dengan Metode Difusi Disk dan Sumuran terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus*. Jakarta. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah.

Prayudha, Satria Ayu. 2012. Kandidiasis Mulut sebagai Indikator Penyakit Sistemik. Yogyakarta. Bagian Ilmu Penyakit Mulut, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta

Purwono dan Rudi Hartono. 2005. Kacang Hijau. Jakarta: Niaga Swadaya

Puspitasari, G., Murwani, S., & Herawati. 2012 . Uji Daya Antibakteri Perasan Buah Mengkudu Matang (*Morinda citrifolia*) Terhadap Bakteri *Methicillin Resistan Staphylococcus aureus (MRSA)* M.2036.T Secara *In Vitro*. PSPDH. PKH. Universitas Brawijaya.

Putri, Apriska Mega Sutowo. 2016. *Efek Antifungi Ekstrak Daun Kenikir (Cosmos caudatus Kunth.) terhadap Pertumbuhan Candida albicans secara in vitro*. Masters thesis, Universitas Sebelas Maret.

Rahman, Taufik dan Agus Triyono. 2011. Pemanfaatan Kacang Hijau (*Phaseolus Radiatus L*) Menjadi Susu Kental Manis Kacang Hijau. Subang. Balai Besar Pengembangan Teknologi Tepat Guna-LIPI

Raju', S. B., S. Rajappa. 2011. Isolation and Identification of *Candida* form the Oral Cavity. International Scholarly Research Network. Pages: 7

Rezeki, S., S. Chismirina, A. Iski. 2017. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Journal Syiah Kuala Dentistry Society*. 2(1): 52-62

Rosidah, A. N. Lestari, P. E. Astuti. 2014. Daya Antibakteri (*Hippobroma longiflora* [L] G. Don) Terhadap Pertumbuhan *Streptococcus mutans*. *Artikel Ilmiah Hasil Penelitian Mahasiswa Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember*. 1-2. Jember

Samaranayake, Lakshman. 2012. *Essential Microbiology for Dentistry*. Edisi Empat. Elsevier

Samaranayake, Lakshman P, Scully C dan el-Kabir M. 1994. *Candida and Oral Candidosis: A Review*. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 5(2):125-157

Savage, Geoffrey Peter. 1990. *Nutritional Value of Sprouted Mung Beans*. Lincoln. Nutrition Today May/June 1990

Septiasi, Tedi, Delianis Pringgenies, dan Ocky Karna Radjasa. 2013. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Keling (*Holoturia atra*) Dari Pantai Bandengan Jepara Terhadap Jamur *Candida albicans*. *Journal Of Marine Research*. Volume 2, Nomor 2, Tahun 2013, Halaman 76-84

Siddik, Muhammad Baihaqi, Lia Yulia dan Edyson. 2016. Perbandingan Efektivitas Antifungi Antara Ekstrak Metanol Kulit Batang Kasturi Dengan Ketokonazol 2% Terhadap *Candida albicans* *IN VITRO*. Banjarmasin: Berkala Kedokteran, Vol.12, No.2, Sep 2016:271-278

Susanty dan Fairus Bachmid. 2016. Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Refluks Terhadap Kadar Fenolik dari Ekstrak Tongkol Jantung (*Zea mays L.*). Jakarta: KONVERSI Vol. 5 No. 2 Oktober 2016: 87-93

Tajy, T. H., dan Rahardja, K. 2003. *Obat-obat Penting Ed. 6*. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia. 91-104



Tendencia, E. A. 2004. Disk diffusion method. In Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment (pp. 13-29). Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.

Thompson, Delma S, Patricia L. Carlisle, dan David Kadosh. 2011. Coevolution of Morphology and Virulence in *Candida* Species. *Eukaryotic Cell* 10(9): 1173-1182

Tjampakasari RC. Karakteristik *Candida albicans*. *Cermin Dunia Kedok* 2006; 151: 33-6

Tyasnini, Endah, Triswaty Winata, dan Susantina. 2006. Hubungan antara Sifat dan Metabolit *Candida* spp. dengan Patogenesis Kandidiasis. *Jurnal Kedokteran Maranatha*. Vol. 6, No.1, Juli 2006: 52-67

Vandepitte J, Verhaegen J, Engbaek K, et al. 2003. *Basic Laboratory Procedures in Clinical Bacteriology* 2nd ed. Geneva: World Health Organization. 2003:61, 76, 144-150

Velegraki, Aristeia . Et al. 2006. Effect of fluconazole antifungal prophylaxis on oral mucositis in head and neck cancer patients receiving radiotherapy. *Supportive Care Cancer* 14(1):44-51 · February 2006

Wulandari dan Desi Purwaningsih. 2016. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Suruhan (*Peperomia pellucida* L. Kunth) Terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*. *Jurnal Farmasi Indonesia*, November 2016, hal 171 - 177

Yukianingtyas, Aning dan Bambang Kusmartono. 2016. Optimasi volume pelarut dan waktu maserasi pengambilan flavonoid daun belimbing wuluh (*averrhoa bilimbi l.*). *Jurnal Teknik Kimia* Vol.10, No.2, April 2016

Zainab. 2013. Pengaruh Konsentrasi Etanol Sebagai Pelarut Pengekstraksi Terhadap Kadar Naftokinon Dalam Ekstrak

Daun Pacar Kuku (*Lawsonia inermis L.*). Yogyakarta: Pharmacia, Vol. 3, No. 2, 2013 : 63 – 68

Zuraida, Sulistyani, Dondin Sajuthi, dan Irma Herawati Suparto. 2017. Fenol, Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan pada Ekstrak Kulit Batang Pulai (*Alstonia scholaris R.Br*). Bogor. Jurnal Penelitian Hasil Hutan Vol. 35 No. 3, September 2017: 211-219

