



**UJI EFEKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH
(*Syzygium aromaticum*) terhadap PERTUMBUHAN *Candida albicans***

SECARA IN VITRO

TUGAS AKHIR

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kebidanan**



Oleh:

Regina Ayu Fristiyanti

NIM: 155070607111007

PROGRAM STUDI S1 KEBIDANAN

JURUSAN KEBIDANAN

FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019



DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xvii
DAFTAR LAMPIRAN	xviii
DAFTAR SINGKATAN	xix
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.3.1 Tujuan Umum	3
1.3.2 Tujuan Khusus	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
1.4.1 Manfaat Akademik	4
1.4.2 Manfaat Praktis	4
1.4.3 Manfaat Ekonomis	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Candida albicans</i>	6
2.1.1 Taksonomi	6
2.1.2 Sifat Umum	7
2.1.3 Morfologi	7
2.1.4 Faktor Virulensi	8
2.1.4.1 <i>Phenotypic Switching</i>	9
2.1.4.2 Morfologi Dimorfisme	9



2.1.4.3 Adhesi	10
2.1.4.4 Invasi	10
2.1.4.5 Sekresi Enzim Hidrolase	11
2.1.4.6 Bentuk Biofilm	11
2.1.5 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	12
2.1.5.1 Identifikasi koloni pada <i>Saboraud Dextrose Agar</i>	12
2.1.5.2 Identifikasi koloni dengan Pewarnaan Gram	13
2.1.5.3 Identifikasi koloni dengan Tes <i>Germinating Tube</i>	13
2.1.5.4 Identifikasi koloni dengan Tes KOH	14
2.1.5.5 Identifikasi koloni dengan VITEK.....	16
2.2 Kandidiasis Vulvovaginalis.....	17
2.2.1 Faktor Resiko Kandidiasis Vulvovaginalis	18
2.2.2 Patofisiologi Kandidiasis Vulvovaginalis	18
2.2.3. Manifestasi Kandidiasis Vulvovaginalis	19
2.2.4 Diagnosis Kandidiasis Vulvovaginalis	19
2.3 Jenis-Jenis Antijamur	20
2.3.1 Polyene	21
2.3.2 Golongan Azole	22
2.3.3 5-Fluorocytosin	23
2.3.4 Griseofulvin	24
2.3.5 <i>Allylamine</i>	24
2.3.6 <i>Echinocandin</i>	24
2.4 Tanaman Cengkeh	25
2.4.1 Taksonomi Tanaman Cengkeh	25
2.4.2 Karakteristik Tanaman Cengkeh.....	26
2.4.3 Kegunaan Tanaman Cengkeh	28
2.4.4 Kandungan Kimia Cengkeh	29
2.4.4.1 Flavonoid	29
2.4.4.2 Tanin.....	30
2.4.4.3 Terpenoid.....	30
2.4.4.4 Alkaloid	31
2.4.4.5 Saponin	31
2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba	32



2.5.1 Menghambat Pembentukan Dinding Sel.....	32
2.5.2 Mengganggu Integritas Membran Sel	33
2.5.3 Menghambat Sintesis Asam Amino	33
2.5.4 Mengganggu Proses Pembelahan Sel	34
2.6 Metode Ekstraksi	34
2.6.1 Maserasi	34
2.6.2 Perkolasi	35
2.6.3 Soxhlet	36
2.6.4 Reflux dan Distilasi Uap	37
2.6.5 Dekok	37
2.6.6 Digesti	37
2.6.7 <i>Infusion</i>	38
2.7 Uji Antimikroba	38
2.7.1 Metode Dilusi	39
2.7.1.1 Dilusi Agar	39
2.7.1.2 Dilusi Tabung	40
2.7.2 Metode Difusi	40
2.7.2.1 Kirby Bauer	41
2.7.2.2 Joan Stokes	41
2.7.2.3 Cakram Primer.....	42
2.7.2.4 Difusi Lubang/ Sumuran.....	42
2.7.3 Epsilometer Test.....	43
BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN	
3.1 Kerangka Konsep	44
3.2 Uraian Kerangka Konsep	45
3.3 Hipotesis Penelitian	45
BAB IV METODE PENELITIAN	
4.1 Desain Penelitian	46
4.2 Tempat dan Waktu Penelitian	46
4.3 Sampel Penelitian	46
4.4 Variabel Penelitian	46
4.4.1 Variabel Bebas	46
4.4.2 Variabel Tergantung	47
4.5 Jumlah Pengulangan	47



4.6 Definisi Operasional	49
4.7 Alat dan Bahan Penelitian	52
4.7.1 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Cengkeh	52
4.7.2 Untuk Identifikasi <i>Candida albicans</i>	52
4.7.3 Untuk Bahan Dilusi Agar	54
4.8 Prosedur Penelitian	55
4.8.1 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	55
4.8.1.1 Pewarnaan Gram	55
4.8.1.2 Penanaman pada Media Agar	56
4.8.1.3 <i>Germinating Tube Test</i>	56
4.8.1.4 Tes KOH	57
4.8.1.5 VITEK	57
4.8.1.4 Pembuatan Suspensi Jamur	60
4.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Cengkeh	61
4.8.2.1 Proses Pengeringan	61
4.8.2.2 Proses Ekstraksi	61
4.8.2.3 Proses Evaporasi	61
4.9 Prosedur Penelitian Pendahuluan	62
4.10 Prosedur Uji Antijamur	63
4.11 Analisa Data	65
4.12 Skema Penelitian	67
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	
5.1 Hasil Penelitian	68
5.1.1 Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)	68
5.1.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Cengkeh	68
5.1.3 Identifikasi <i>Candida albicans</i>	69
5.1.3.1 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Pembiakan Koloni pada media SDA	69
5.1.3.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Pewarnaan Gram	70
5.1.3.3 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Uji KOH	71
5.1.3.4 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan <i>Germinating Tube</i>	71
5.1.4 Uji Antijamur	72
5.1.4.1 Hasil Uji Pendahuluan	72
5.1.4.2 Hasil Penelitian	73



5.2 Analisis Data.....	81
5.2.1 Analisis Data Berdasarkan Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i>	81
5.2.1.1 Uji Normalitas.....	81
5.2.1.2 Uji Homogenitas.....	82
5.2.1.3 Uji <i>One Way ANOVA</i>	82
5.2.1.4 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	83
5.2.1.5 Uji Korelasi Pearson.....	84
5.2.1.6 Uji Regresi	85
5.2.2 Analisis Data Berdasarkan Ketebalan Koloni <i>Candida albicans</i>	85
5.2.2.1 Uji Normalitas.....	85
5.2.2.2 Uji Homogenitas.....	86
5.2.2.3 Uji <i>One Way ANOVA</i>	86
5.2.2.4 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	87
5.2.2.5 Uji Korelasi <i>Pearson</i>	88
5.2.2.6 Uji Regresi	88
5.2.3 Analisis Data Berdasarkan Diameter Koloni <i>Candida albicans</i>	89
5.2.3.1 Uji Normalitas.....	89
5.2.3.2 Uji Homogenitas.....	90
5.2.3.3 Uji <i>One Way ANOVA</i>	90
5.2.3.4 Uji <i>Post Hoc Tukey</i>	91
5.2.3.5 Uji Korelasi <i>Pearson</i>	92
5.2.3.6 Uji Regresi	92

BAB VI PEMBAHASAN

6.1 Hasil Identifikasi <i>Candida albicans</i>	94
6.1.1 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Pembiakan Koloni pada medium SDA	94
6.1.2 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Pewarnaan Gram.....	94
6.1.3 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan Uji KOH	95
6.1.4 Identifikasi <i>Candida albicans</i> dengan <i>Germinating Tube Test</i>	95
6.2 Uji Antifungi Ekstrak etanol Daun Cengkeh terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	95
6.3 Keterbatasan Penelitian.....	103

BAB VII PENUTUP

7.1 Kesimpulan.....	105
---------------------	-----



7.2 Saran	105
DAFTAR PUSTAKA	107

HALAMAN PENGESAHAN

TUGAS AKHIR

**UJI EFEKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL DAUN CENGKEH
(*Syzygium aromaticum*) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans*
SECARA IN VITRO**

Oleh:
Regina Ayu Fristiyanti
NIM 155070607111007

Telah diuji pada
Hari : Rabu
Tanggal : 08 Mei 2019
dan dinyatakan lulus oleh :

Penguji-I



dr. Maya Devi Arifiandi, Sp. OG
NIK. 2016097902032001

Pembimbing-I/Penguji-II



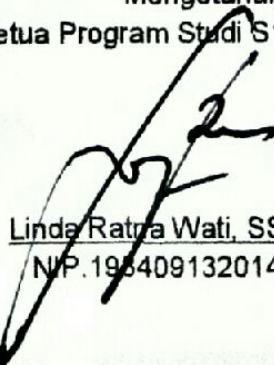
dr. Dewi Erikawati, M.Si
NIP. 198510172009122007

Pembimbing-II/Penguji-III



Ningrum P.S., S.Keb, Bd, M.Biomed
NIK. 2012038707032001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S1 Kebidanan



Linda Ratna Wati, SST, M.Kes
NIP. 198409132014042001



ABSTRAK

Fristiyanti, Regina Ayu. 2019. *Uji Efektivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (Syzygium aromaticum) Terhadap Pertumbuhan Candida albicans Secara In Vitro*. Tugas Akhir, Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya. Pembimbing: (1) dr. Dewi Erikawati, M.Si (2) Ningrum Paramita Sari, S.Keb, Bd, M.Biomed.

Kandidiasis vulvovaginalis adalah infeksi jamur pada vulva dan intravagina dengan penyebab paling sering *Candida albicans*. Terapi menggunakan obat-obat sintetik seringkali menimbulkan resistensi, efek toksik dan berbagai efek samping. Terapi alternatif yang dapat dipilih adalah dengan menggunakan daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Tujuan dilakukan penelitian ini adalah untuk membuktikan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Penelitian ini menggunakan metode dilusi agar dengan sampel berupa satu isolat *Candida albicans*. Bahan uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun cengkeh yang dibuat dengan metode maserasi dengan konsentrasi 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5% dan 0.6% serta kontrol positif berupa *fluconazole* 0.6%. Kadar Hambat Minimal (KHM) pada penelitian ini adalah 0.6%. Pertumbuhan *Candida albicans* diinterpretasi berdasarkan jumlah koloni, ketebalan koloni dan diameter koloni. Berdasarkan jumlah koloni, hasil uji analisis *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi $p=0.000$, uji Korelasi *Pearson* menunjukkan koefisien korelasi (R) = -0.921, dan uji Regresi menunjukkan nilai (r^2) = 0.847. Berdasarkan ketebalan koloni, hasil uji analisis *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi $p=0.000$, uji Korelasi *Pearson* menunjukkan koefisien korelasi (R) = -0.954, dan uji Regresi menunjukkan nilai (r^2) = 0.911. Berdasarkan diameter koloni, hasil uji analisis *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi $p=0.000$, uji Korelasi *Pearson* menunjukkan koefisien korelasi (R) = -0.933, dan uji Regresi menunjukkan nilai (r^2) = 0.870. Dari hasil analisis statistik tersebut, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh memiliki aktivitas antijamur dan efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Kata kunci : Kandidiasis vulvovaginalis, *Candida albicans*, daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*).

ABSTRACT

Fristiyanti, Regina Ayu. 2019. *The Effectiveness of Ethanol Extract of Clove Leaves (Syzygium aromaticum) as Antifungal Against Candida albicans In Vitro*. Final Assignment, Faculty of Medicine, Brawijaya University. Supervisors: (1) dr. Dewi Erikawati, M.Si (2) Ningrum Paramita Sari, S.Keb, Bd, M.Biomed.

Vulvovaginal candidiasis is a fungal infection in the vulva and intravagina with the most frequent causes by *Candida albicans*. Therapy using synthetic drugs often causes resistance, toxic effects and various side effects. Alternative therapies that can be chosen are using clove leaves (*Syzygium aromaticum*). The purpose of this study is to prove that the ethanol extract of clove leaves (*Syzygium aromaticum*) is able to inhibit the growth of *Candida albicans*. This study uses a dilution method with one isolate of *Candida albicans* as a sample. Ethanol extract of clove leaves made by maceration method with some concentration 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% and *fluconazole* 0.6% as positive control. Minimal Inhibitory Concentration (MIC) in this study is 0.6%. The growth of *Candida albicans* is interpreted based on the number of colonies, colony thickness and colony diameter. Based on the number of colonies, the results of the *One Way* ANOVA analysis showed p value=0.000, the *Pearson* Correlation test showed a correlation coefficient (R) = - 0.921, and the Regression test showed a value (r^2) = 0.847. Based on colony thickness the results of the *One Way* ANOVA analysis showed p value = 0.000, the *Pearson* Correlation test showed a correlation coefficient (R) = - 0.954, and the Regression test showed a value (r^2) = 0.911. Based on the diameter of the colony, the results of the *One Way* ANOVA analysis showed a significance value of p = 0.000, the *Pearson* Correlation test showed a correlation coefficient (R) = - 0.933, and the Regression test showed a value (r^2) = 0.870. From the results of the statistical analysis, it can be concluded that the ethanol extract of clove leaves has antifungal activity against *Candida albicans* and has ability to inhibit the growth of *Candida albicans* effectively.

Keywords: Vulvovaginal candidiasis, *Candida albicans*, clove leaves (*Syzygium aromaticum*).



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Prevalensi kejadian infeksi jamur telah meningkat sejak tahun 1980 terutama pada orang-orang dengan *immunocompromised* dan atau pada orang-orang yang sedang menjalani perawatan di rumah sakit akibat penyakit tertentu (Giannini *et al.*, 2013). Infeksi jamur merupakan infeksi yang timbul akibat masuknya jamur patogen ke dalam tubuh manusia yang dapat menyebabkan infeksi *superficial* maupun infeksi sistemik. Salah satu jenis jamur yang paling sering menyebabkan infeksi pada manusia adalah *Candida albicans* (Brooks *et al.*, 2011). *Candida albicans* dilaporkan menjadi agen invasif penyebab infeksi mikosis dengan tingkat morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Pereira *et al.*, 2017).

Kandidiasis vulvovaginalis (KVV) adalah infeksi akibat pertumbuhan *Candida albicans* yang progresif di area vulva dan mukosa vagina. Kandidiasis vulvovaginalis merupakan salah satu penyebab keputihan patologis yang dapat dialami oleh wanita di segala umur. Pada tahun 2005, Amerika Serikat melaporkan bahwa sekitar 80-90% kasus kandidiasis vulvovaginalis yang disebabkan oleh *Candida albicans* menjadi penyebab kedua Infeksi Saluran Reproduksi terbanyak setelah *Bacterial vaginosis* (Daili, 2009). Menurut *Department of Microbiology, Lead City University, Nigeria* yang melakukan penelitian pada tahun 2010 menyatakan bahwa kandidiasis vulvovaginalis merupakan infeksi tertinggi dengan persentase 27%. Prevalensi kejadian kandidiasis vulvovaginalis di Indonesia diperkirakan mencapai 25 – 50% (Anindita dan Martini, 2012). Sedangkan di Jawa



Timur sekitar 65.4% wanita mengalami kandidiasis vulvovaginalis dengan keluhan utama rasa gatal dan panas di area vagina (Karina dan ervianti, 2011).

Kandidiasis vulvovaginalis dapat diatasi dengan penggunaan agen antijamur. Ada berbagai macam agen antijamur yang dapat digunakan seperti golongan *polyene*, *derivate azol*, golongan *allylamine* dan obat-obat antijamur metabolit. Tetapi sebagian besar obat-obat antijamur tersebut memiliki keterbatasan antara lain menimbulkan efek samping ringan hingga berat, spektrum antijamur yang sempit, dapat menyebabkan peningkatan resistensi (Setyowati, 2013). Berdasarkan penelitian uji resistensi antijamur terhadap *Candida albicans* yang dilakukan Sinaga (2018), disebutkan bahwa 20 pasien kandidiasis vulvovaginalis resisten terhadap *Fluconazole* (70%), *Itraconazole* (70%), *Amfoterisin B* (65%) dan *Variconazole* (65%). Dalam beberapa dekade terakhir, pengobatan menggunakan tanaman herbal berkembang pesat. Tanaman herbal semakin banyak digunakan karena mengandung senyawa aktif yang efektif melawan mikroba patogen. Selain itu, tanaman herbal juga memiliki toksisitas dan efek samping yang rendah serta memiliki dampak terhadap lingkungan dalam skala minor (Samadi *et al.*, 2019).

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) adalah tanaman asli Indonesia yang banyak digunakan sebagai rempah-rempah. Tanaman cengkeh merupakan salah satu tanaman multiguna dimana hampir semua bagian tanaman cengkeh mulai dari ranting, bunga dan daun cengkeh dapat dimanfaatkan. Meskipun cengkeh disebut sebagai tanaman multiguna karena hampir seluruh bagian tanaman dapat dimanfaatkan tetapi dari segi pemanfaatan, daun cengkeh merupakan bagian yang paling jarang dimanfaatkan. Bahkan, mayoritas pemilik kebun cengkeh maupun petani cengkeh menganggap daun cengkeh hanya akan menjadi sampah



yang sangat mengganggu kebersihan kebun. Tetapi sekitar tahun 2010 daun cengkeh menjadi salah satu bagian yang diminati karena memiliki harga jual tinggi. Selain dari segi ekonomi, pemanfaatan daun cengkeh memberikan dampak sosial yang menguntungkan dan dapat membentuk mata rantai bisnis yang cukup panjang.

Dalam dunia penelitian, penelitian mengenai efek antijamur daun cengkeh masih jarang dilakukan. Padahal daun cengkeh dilaporkan mengandung berbagai senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, tanin, alkaloid, dan terpenoid (Eltayeib dan Maysoon, 2017). Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, zat aktif seperti saponin, flavonoid, tanin, alkaloid dan terpenoid terbukti memiliki efek antimikroba (Khan *et al.*, 2010). Untuk mengetahui apakah zat aktif pada daun cengkeh memiliki efek antijamur pada *Candida albicans*, maka diperlukan penelitian mengenai efektivitas antijamur ekstrak daun cengkeh terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah “Apakah ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*?”

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Membuktikan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*.



1.3.2 Tujuan Khusus

1.3.2.1 Menguji efektivitas berbagai dosis ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.3.2.2 Menentukan nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Akademik

1.4.1.1 Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai penggunaan ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

1.4.1.2 Mengembangkan ilmu pengetahuan mengenai pemanfaatan tanaman herbal sebagai alternatif pengobatan infeksi.

1.4.1.3 Mengembangkan ilmu pengetahuan mengenai fitofarmakologi.

1.4.1.4 Sebagai data untuk melakukan penelitian lebih lanjut mengenai manfaat daun cengkeh dalam pengobatan penyakit lainnya.

1.4.2 Manfaat Praktis

1.4.2.1 Memberikan informasi bagi masyarakat bahwa daun cengkeh dapat digunakan sebagai solusi alternatif untuk penyakit kandidiasis yang disebabkan oleh *Candida albicans*.

1.4.2.2 Meningkatkan nilai guna daun cengkeh yang sebelumnya jarang dimanfaatkan menjadi solusi alternatif terapi antijamur.



1.4.3 Manfaat Ekonomis

1.4.3.1 Meningkatkan pendapatan petani di perkebunan cengkeh dari hasil penjualan daun cengkeh yang memiliki harga jual tinggi.

1.4.3.2 Mengatasi permasalahan limbah organik daun cengkeh di perkebunan cengkeh.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

2.1.1 Taksonomi *Candida albicans*

Taksonomi *Candida albicans* adalah sebagai berikut :

Kingdom : Fungi

Phylum : Ascomycota

Subphylum : Saccharomycotina

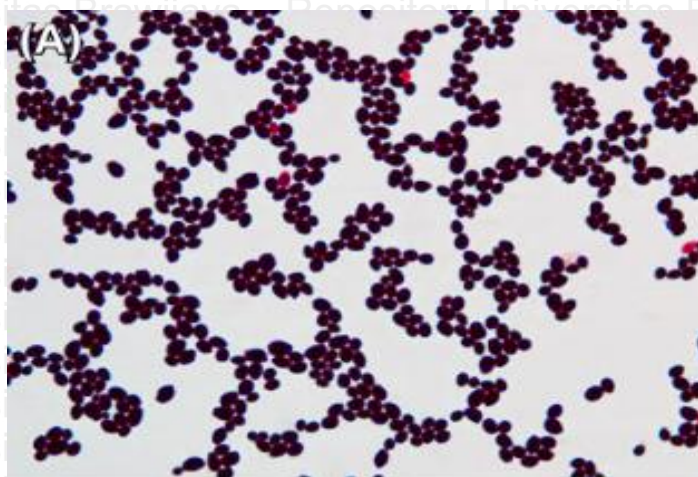
Class : Saccharomycetes

Ordo : Saccharomycetales

Familia : Saccharomycetaceae

Genus : *Candida*

Spesies : *Candida albicans* (Mainous, 2010).



Gambar 2.1 *Candida albicans* dengan Pewarnaan Gram (Zhou dan Li, 2015).



Candida albicans juga dikenal dengan nama lain *Stellatioidea*, *Oidium albicans*, *Dermatium albicans*, *Myceloblastonom albicans*, *Monilia albicans*, *Mycotorula albicans*, *Syringispora albicans*, *Parasaccharomyces albicans*, *Sacchaoaromyces albicans*, dan *Procandida albicans* (Mainous, 2010).

2.1.2 Sifat Umum

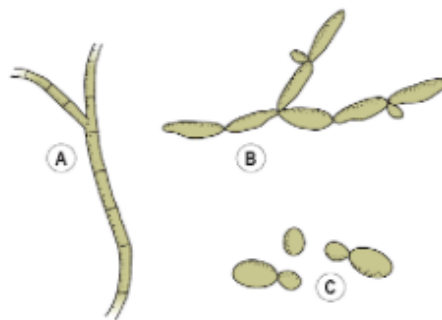
Candida albicans merupakan jamur dimorfis yaitu jamur yang memiliki kemampuan tumbuh menjadi dua bentuk yang berbeda yaitu *budding yeast* dan pseudohifa. *Candida albicans* merupakan jamur yang secara normal dapat ditemukan pada kulit dan mukosa yang ada pada tubuh manusia (Calderone dan Cornelius, 2012). Di dalam tubuh hospes, *Candida albicans* hidup sebagai organisme komensal dan akan berubah menjadi patogen jika ada faktor predisposisi yang mendukung antara lain penurunan imunitas pada tubuh hospes. *Candida albicans* dapat menyebabkan kandidiasis yaitu suatu gangguan kesehatan yang timbul jika jumlah populasi *Candida albicans* meningkat secara progresif.

2.1.3 Morfologi *Candida albicans*

Berdasarkan morfologinya, *Candida albicans* dapat berbentuk ragi (*budding yeast*), pseudohifa (hifa semu) dan hifa (Brooks et al., 2012). Ragi merupakan organisme eukariotik yang bersifat Gram positif dengan sel tunggal yang berkembang biak dengan cara membentuk tunas (*budding yeast*). Ragi dapat berbentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran 2-5 µm x 3-6 µm hingga 2-5,5 µm x 5-28 µm, pH optimum untuk tumbuh antara 4,5 – 6,5 dan temperatur optimum untuk tumbuh berkisar 20°C – 37 °C (Brooks et al., 2012). Ragi memiliki membran sel, dan DNA ragi terletak di dalam kromosom inti sel. Pseudohifa merupakan jamur yang dibentuk oleh perpanjangan sel ragi yang saling menempel



satu sama lain sehingga menyerupai hifa. Pseudohifa merupakan bentuk multiseluler dari *Candida albicans*. Perubahan bentuk dari ragi menjadi hifa dipengaruhi oleh adanya perubahan suhu dan pH lingkungan (Wibowo, 2010). Pseudohifa dapat membentuk spora yang disebut klamidospora untuk bertahan hidup ketika berada dalam lingkungan yang tidak menguntungkan bagi pertumbuhannya. Selain itu, *Candida albicans* dapat berubah menjadi fenotip yang berbeda. Perubahan ini bersifat spontan dan *reversible*. Secara umum *Candida albicans* berwarna putih berbentuk bulat dengan permukaan halus tetapi dapat juga berwarna abu-abu berbentuk batang dengan permukaan datar. Perubahan fenotip ini diikuti oleh perubahan ekspresi antigen dan perubahan afinitas terhadap jaringan hospes. Fleksibilitas ini membuat *Candida albicans* sangat mudah menyesuaikan diri dengan berbagai perubahan lingkungan.



Gambar 2.2 Morfologi *Candida albicans*. Ket : (A). Hifa, (B). Pseudohifa, (C). Budding sel (Markey, 2013).

2.1.4 Faktor Virulensi *Candida albicans*

Selain akibat penurunan imun pada tubuh hospes, faktor virulensi *Candida albicans* memiliki peran yang cukup penting dalam menginisiasi terjadinya infeksi pada tubuh hospes. Faktor virulensi *Candida albicans* adalah sebagai berikut :



2.1.4.1 *Phenotypic switching*

Phenotypic switching merupakan faktor virulen yang berperan dalam kemampuan adaptasi jamur terhadap perubahan lingkungan selama invasi ke dalam tubuh hospes. *Candida albicans* dapat mengalami perubahan pada morfologi, sifat permukaan sel, bentuk koloni, sifat biokimia dan aktivitas metabolisme menjadi lebih ganas selama infeksi. *Candida albicans* dapat mengalami perubahan fenotip seperti halus, kasar, berkerut, berumbai atau berbintik. Beberapa penelitian menyebutkan bahwa proses ini terjadi karena adanya penyusunan ulang kromosom jamur dan adanya regulasi gen SIR2 (*Silent Information Regulator*). Contoh perubahan koloni yang paling sering ditemui adalah koloni berwarna putih, berbentuk oval dan bertekstur halus dapat berubah menjadi koloni bertekstur kasar dan berwarna abu-abu buram. Sel-sel jamur yang berwarna buram menghasilkan SAP1 (*Secreted Aspartyl Proteinase 1*) dan SAP3 (*Secreted Aspartyl Proteinase 3*). Sedangkan sel-sel jamur yang berwarna putih akan menghasilkan SAP2 (*Secreted Aspartyl Proteinase 2*). Berdasarkan tingkat virulensinya, SAP2 lebih virulen daripada SAP1 dan SAP 3. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa *phenotypic switching* merupakan perubahan sifat molekuler dan biokimia pada jamur untuk dapat menginvasi jaringan hospes dan bertahan hidup didalam tubuh hospes (Kuleta et al., 2009).

2.1.4.2 Morfologi dimorfisme

Dimorfisme merupakan kemampuan jamur untuk berubah bentuk dari uniseluler (*yeast*) menjadi bentuk multiseluler (*pseudohifa*). Perubahan bentuk dari *yeast* menjadi *pseudohifa* merupakan respon terhadap rangsangan lingkungan sekitar. Morfologi jamur dapat berubah sesuai dengan kondisi lingkungan sekitar, seperti respon terhadap suhu fisiologis 37°C, pH sama dengan atau lebih tinggi



dari 7, tingkat konsentrasi CO₂. Transisi jamur ke bentuk uniseluler (yeast) dirangsang oleh suhu yang lebih rendah, pH yang lebih asam dan konsentrasi CO₂ yang lebih tinggi. Sedangkan transisi ke bentuk multiseluler (pseudohifa) dirangsang oleh suhu yang lebih tinggi, pH basa dan konsentrasi CO₂ yang lebih rendah. Sel yeast merupakan sel yang berperan untuk menemukan hospes baru dan berperan dalam penyebaran sel jamur. Sedangkan bentuk hifa berperan dalam proses invasi ke jaringan hospes (Kuleta *et al.*, 2009).

2.1.4.3 Adhesi

Adhesi merupakan proses perlekatan antara sel-sel jamur dan sel hospes. Pada permukaan dinding sel *Candida albicans* terdapat reseptor yang berperan dalam proses adhesi ke sel epitel dan sel endotel, protein serum dan protein matriks ekstraseluler hospes. Perlekatan lapisan dinding sel jamur dengan permukaan sel hospes mengaktifasi *Mitogen Activated Protein Kinase* (Map-kinase). *Mitogen Activated Protein Kinase* (Map-kinase) sangat diperlukan untuk menginisiasi pertumbuhan hifa invasif dan perkembangan biofilm (Lestari, 2010).

2.1.4.4 Invasi

Setelah melakukan perlekatan pada permukaan sel hospes, jamur akan melakukan proses invasi ke dalam jaringan tubuh hospes. Invasi *Candida albicans* ditandai dengan adanya produksi *Secreted Aspartate Proteinase* (SAP) yang dikode oleh beberapa gen yaitu SAP 1, SAP 2, SAP 3, SAP 4, SAP 5, SAP 6, SAP 7, SAP 8, SAP 9 dan SAP 10. Dengan diproduksinya *Secreted Aspartate Proteinase* (SAP), hal ini berkorelasi dengan kerusakan permukaan jaringan hospes. SAP 4 dan SAP 5 merupakan protein kinase yang menyebabkan perubahan morfologi *Candida albicans* dari bentuk ragi menjadi bentuk hifa. Perubahan bentuk inilah yang menginisiasi proses invasi sel-sel jamur ke permukaan jaringan hospes. SAP 6



berperan dalam meningkatkan tingkat virulensi dan patogenitas *Candida albicans* di dalam tubuh hospes. Setelah melakukan invasi ke dalam tubuh hospes, *Candida albicans* membutuhkan keadaan lingkungan yang dapat mendukung pertumbuhannya. Untuk itu, SAP 2 merupakan gen yang memiliki peranan penting dalam mengoptimalkan pertumbuhan *Candida albicans*. SAP 2 diekspresikan bersama-sama dengan SAP 1 yang akan terdeteksi selama tahap invasi awal *Candida albicans* terhadap *stratum corneum* hospes. Invasi *Candida albicans* terhadap *stratum corneum* menginduksi sekresi SAP 6 dan SAP 8 yang berperan dalam pertumbuhan lebih lanjut dari hifa pada *stratum granulosum* dan *stratum basal*. Sedangkan fungsi spesifik SAP 1, SAP 3 dan SAP 7 selama proses invasi tidak dijelaskan secara rinci. SAP 9 dan SAP 10 berperan dalam mempertahankan struktur dan integritas dinding sel *Candida albicans* (Kuleta *et al.*, 2009).

2.1.4.5 Sekresi Enzim Hidrolase

Sekresi enzim hidrolase yang terdiri dari enzim protease, lipase dan fosfolipase merupakan faktor virulensi yang sangat penting. Selain berperan sebagai metabolisme nutrisi jamur, enzim ini juga berperan dalam merusak jaringan, penyebaran dalam tubuh hospes, dan meningkatkan patogenisitas jamur. Selama invasi jaringan, aktivitas enzim hidrolase sangat meningkat karena enzim hidrolase berperan dalam menghidrolisis ikatan ester yang menyusun membran sel hospes (Kuleta *et al.*, 2009).

2.1.4.6 Bentuk Biofilm

Candida albicans dapat membentuk komunitas dengan membentuk ikatan koloni yang disebut biofilm. Biofilm yang dibentuk oleh *Candida albicans* berperan sebagai pelindung. Pembentukan biofilm menjadi masalah serius selama fase pengobatan, karena seringkali menyebabkan resistensi terhadap agen antijamur.



Selain itu, pembentukan biofilm dapat meningkatkan patogenitas *Candida albicans*. Hal ini terjadi karena selama pembentukan biofilm, sel-sel jamur mensekresi *Secreted Aspartyl Proteinase* (SAP) lebih tinggi (Kuleta et al., 2009).

2.1.5 Identifikasi *Candida albicans*

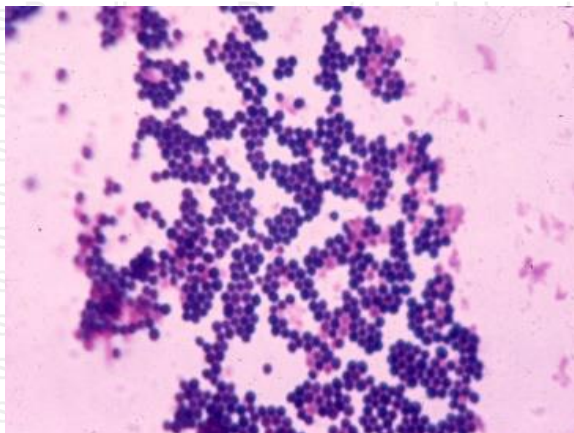
2.1.5.1 Identifikasi koloni pada *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)



Gambar 2.3 *Candida albicans* pada media *Saboraud Dextrose Agar* (Zhou dan Li, 2015).

Candida albicans dapat tumbuh dengan baik pada media kultur *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada media ini *Candida albicans* membentuk koloni-koloni halus berwarna krem yang mempunyai aroma seperti ragi. Sedangkan jika diinkubasi pada suhu kurang dari 20°C dan lebih dari 37°C, *Candida albicans* akan membentuk pseudohifa. *Candida albicans* berkembang biak dengan cara membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk pseudohifa. *Candida albicans* merupakan salah satu jamur yang pertumbuhannya cepat yaitu sekitar 24-72 jam (Komariah, 2012).

2.1.5.2 Identifikasi koloni dengan Pewarnaan Gram



Gambar 2.4 *Candida albicans* pada pemeriksaan Gram Staining (Gupta dan Kumar, 2013).

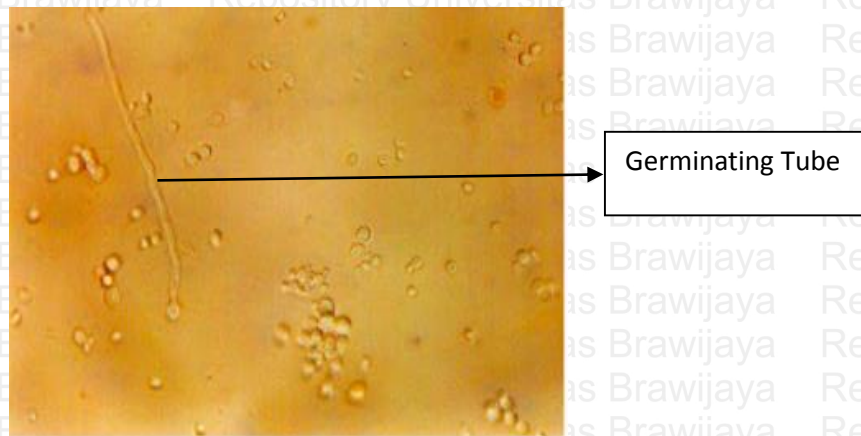
Pewarnaan Gram (*Gram Staining*) merupakan suatu metode untuk membedakan spesies mikroorganisme menjadi dua kelompok besar, yakni Gram positif dan Gram negatif. Mikroorganisme Gram positif akan mempertahankan zat warna metil ungu sewaktu proses pewarnaan Gram sehingga mikroorganisme Gram positif akan berwarna biru atau ungu ketika diamati dengan menggunakan mikroskop, sedangkan mikroorganisme Gram negatif akan berwarna merah muda (Tortora *et al.*, 2010). Pada jamur, pewarnaan Gram juga merupakan pemeriksaan yang bertujuan untuk mengidentifikasi jamur berdasarkan morfologinya, tetapi tidak bisa mengidentifikasi jamur berdasarkan spesiesnya. Pada pewarnaan Gram dapat terlihat jamur dalam bentuk ragi (*budding yeast*), pseudohifa dan hifa (Bhavan *et al.*, 2010).

2.1.5.3 Identifikasi koloni dengan Tes *Germinating Tube*

Tes *Germinating Tube* adalah tes yang digunakan untuk membedakan spesies *Candida albicans* dari spesies lainnya. Tes *Germinating Tube* dilakukan dengan cara menyediakan tabung yang telah berisi 0,5 ml serum mamalia.



Kemudian ambil koloni jamur pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dengan menggunakan ose yang sebelumnya telah disterilkan dengan cara pembakaran. Kemudian masukkan ose ke dalam tabung berisi serum mamalia 0,5 ml. Selanjutnya tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 jam. Kemudian sediaan yang telah diinkubasi, diambil menggunakan ose dan diletakkan pada *object glass* untuk dapat diamati di bawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali. Pada pengamatan di bawah mikroskop, akan terlihat *germinating tube* yang terlihat bulat lonjong seperti tabung (Bhavan *et al.*, 2010)



Gambar 2.5 *Candida albicans* pada pemeriksaan *Germinating Tube* (Gupta dan Kumar, 2013) .

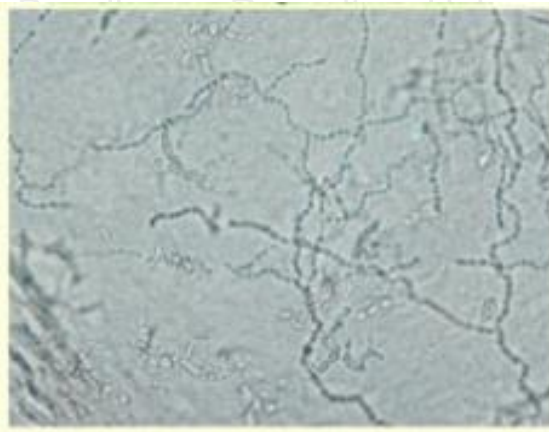
2.1.5.4 Identifikasi koloni dengan Tes KOH

Tes KOH merupakan salah satu jenis metode identifikasi jamur yang sederhana, relatif murah, mudah dan tidak memerlukan waktu lama untuk dilakukan (Shenoy *et al.*, 2008). Kalium Hidroksida (KOH) yang bersifat alkalis dapat menyebabkan penghancuran sel-sel *corneocyte*, sehingga struktur *exogenous non protein* seperti hifa, spora dan serabut *fiberglass* dapat diidentifikasi (Budimulja, 2011). Meskipun tes KOH memiliki tingkat false negatif yang relatif tinggi, tetapi tes KOH dianggap sebagai *gold standar* yang rutin dilakukan untuk mengidentifikasi jamur penyebab mikosis. Tingkat false negatif



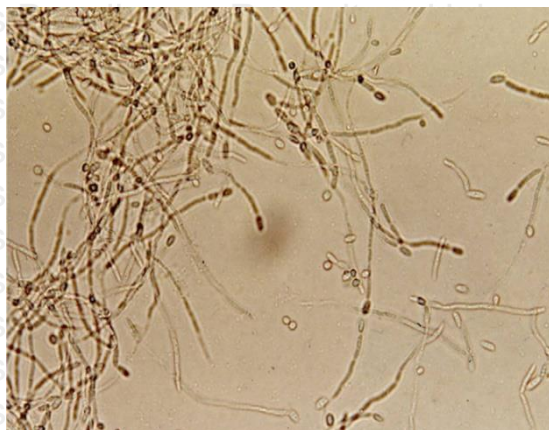
dapat bervariasi berdasarkan pengalaman laboran dan sampel. False negatif yang ada pada kultur kemungkinan muncul jika sampel mengandung organisme yang tidak hidup atau karena jumlah sampel yang digunakan tidak adekuat (Shenoy *et al.*, 2008). Interpretasi hasil identifikasi dengan tes KOH :

- a) *Hypha dermatophytes* : Bentuknya seperti benang panjang lurus atau berlekuk yang seringkali bercabang-cabang dengan diameter uniform, berwarna terang dengan tepi agak gelap.

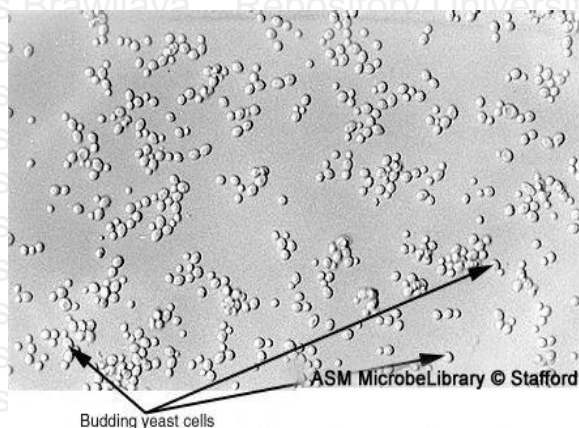


Gambar 2.6 Hifa Dermatopita (Wibowo, 2013) .

- b) *Hypha dan budding spores Candida albicans* : disebut juga pseudohifa yang seringkali sukar dibedakan dengan *hypha dermatophytes*. Bentuknya seperti benang panjang, lurus atau berlekuk dengan sel bulat atau oval.



Gambar 2.7 Pseudohifa (Lopez-Martinez, R. 2010) .



Gambar 2.8 Budding Cell (Murray, 2003).

- c) *Hypha* dan spora *T.Versicolor* : Bentuknya menyerupai benang dapat berukuran panjang atau pendek disertai dengan spora yang berkelompok dengan ukuran yang relatif sama. Kombinasi ini seringkali disebut *spaghetti* dan *meatballs* (Budimulja, 2011).



Gambar 2.9 Spora *Tinea Versicolor* (Warganegara dan Dita, 2012) .

2.1.5.5 Identifikasi Koloni *Candida albicans* dengan teknologi VITEK 2

VITEK 2 adalah sistem identifikasi mikroorganisme otomatis dengan memanfaatkan teknologi. VITEK 2 merupakan cara otomatis dalam menguji kepekaan antibiotik (*Identification Testing / Antimicrobial Susceptibility Testing*).

VITEK 2 mampu mengidentifikasi mikroorganisme dan kepekaan mikroorganisme



terhadap antibiotik dalam 4 jam. Selain VITEK 2, juga terdapat VITEK 2 *compact* dan VITEK 2 XL dimana ketiga sistem tersebut memiliki perbedaan pada level kapasitas dan otomatisasi. Sedangkan persamaannya adalah ketiga sistem tersebut sama-sama mengakomodasi kartu reagen kolorimetri yang diinkubasi kemudian diinterpretasi. VITEK 2 merupakan salah satu bentuk kemajuan teknologi yang memungkinkan untuk mengidentifikasi kultur lebih cepat, tepat, yang berpotensi dapat meningkatkan kualitas perawatan pasien, memperpendek masa inap di fasilitas pelayanan kesehatan dan mampu mengurangi biaya perawatan serta pengobatan (Pincus, 2016).



Gambar 3.0 Instrumen VITEK 2 (Pincus, 2016)

2.2 Kandidiasis Vulvovaginalis

Kandidiasis vulvovaginalis adalah infeksi pada sel-sel epitel di daerah vulvovaginal yang disebabkan oleh peningkatan koloni *Candida albicans* secara progresif (Calderone dan Cornelius, 2012). Kandidiasis pada wanita umumnya didahului dengan infeksi yang timbul di vagina yang disebut vaginitis dan dapat meluas sampai vulva (vulvitis), jika mukosa vagina dan vulva keduanya terinfeksi disebut kandidiasis vulvovaginalis (Daili *et al.*, 2009).



2.2.1 Faktor Risiko Kandidiasis Vulvovaginalis

Faktor risiko kandidiasis vulvovaginalis secara umum disebabkan oleh dua faktor yaitu faktor endogen dan faktor eksogen. Masing-masing faktor tersebut antara lain :

A. Faktor endogen :

- a. Kehamilan
- b. Obesitas dan Diabetes Melitus
- c. Penyakit infeksi dan keganasan yang menekan imunitas tubuh seperti HIV/AIDS
- d. Penggunaan IUD (*Intra Uterine Device*)
- e. Penggunaan antibiotika spektrum luas
- f. Penggunaan obat-obatan yang mengandung kortikosteroid

B. Faktor Eksogen :

- a. Penggunaan bahan pencuci atau pembersih vagina
- b. Lingkungan yang lembap
- c. Pakaian atau pakaian dalam yang terlalu ketat
- d. Kontak seksual dengan partner yang terinfeksi *Candida albicans* serta kontak seksual yang dilakukan terlalu sering sehingga menyebabkan abrasi vagina (Pudjiati dan Soemardadi, 2009).

2.2.2 Patofisiologi Kandidiasis Vulvovaginalis

Pada keadaan normal, *Candida albicans* dapat ditemukan di area vagina, vulva dan mulut rahim. *Candida albicans* hidup sebagai organisme saprofit bersama basil *Doderlein lactobasilus*. Kedua organisme tersebut memiliki peranan penting dalam menjaga keseimbangan pH di area vagina. *Candida albicans* juga merupakan jamur oportunistik yang artinya *Candida albicans* dapat berubah



menjadi organisme patogen jika ada faktor predisposisi yang menginisiasi. Secara umum faktor predisposisi dibagi menjadi dua kelompok yaitu faktor endogen dan eksogen. Pada faktor endogen, *Candida albicans* yang pada awalnya hidup sebagai organisme komensal di area vagina mengalami adhesi tanpa disertai invasi karena tidak adanya produksi *Map-kinase*, sehingga pertumbuhan hifa tidak terjadi. Tetapi jika jumlah koloni *Candida albicans* meningkat secara progresif *Map-kinase* akan teraktivasi dan memicu pertumbuhan hifa. Selanjutnya hifa akan menginvasi mukosa dan menyebabkan kerusakan mukosa vagina. Setelah menginvasi mukosa, *Candida albicans* akan mensekresi berbagai enzim *hydrolase* yang dapat memperparah rusaknya mukosa vagina. Akibatnya mukosa vagina menjadi abrasi dan pertumbuhan *Candida albicans* semakin tak terkendali. (Calderone dan Cornelius, 2012).

2.2.3 Manifestasi Klinis Kandidiasis Vulvovaginalis

Manifestasi klinis kandidiasis vulvovaginalis antara lain pada mukosa vagina terlihat ada bercak putih kekuningan yang disebut *vaginal trush*. Bercak-bercak ini terdiri dari gumpalan jamur *Candida albicans*, jaringan nekrotik, dan sel-sel epitel. Selain itu, dari liang vagina keluar sekret yang mula-mula encer kemudian menjadi kental dan pada keadaan yang kronis tampak seperti butir-butir tepung halus. Labia minora dan mayora membengkak dengan ulkus-ulkus kecil berwarna merah disertai dengan darah yang erosi (Siregar, 2005). Selain itu seringkali disertai dengan rasa gatal yang hebat dan berbau. Umumnya pada keadaan kronis didapati adanya disuria dan dispareunia (Jawetz *et al.*, 2010).

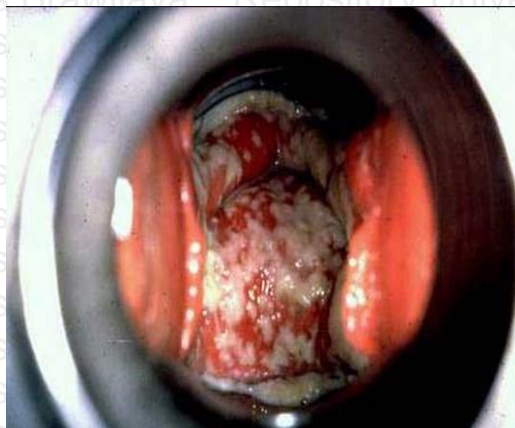
2.2.4 Diagnosis

Diagnosis kandidiasis ditegakkan dengan mengamati gambaran klinis yang tampak dan hasil uji laboratorium. Spesimen meliputi swab dan kerokan dari



lesi permukaan, darah, cairan spinal, biopsi jaringan, urin dan eksudat (Jawetz *et al.*, 2008). Diagnosis pada penderita kandidiasis vulvovaginalis, antara lain:

- a. Terdapat leukorea, seperti dadih, putih dan bergumpal.
- b. Terasa sangat gatal.
- c. pH cairan vagina menjadi > 7.0
- d. Terlihat eritema, edema dan bintik merah pada vagina. Dapat menjalar pada vulva atau lipatan paha.
- e. Pemeriksaan laboratorium pada tes KOH akan memperlihatkan hifa, pseudohifa dan *budding cell*.



Gambar 3.1 Kandidiasis Vulvovaginalis (Dabas, 2013)

2.3 Jenis-jenis Antijamur

Obat antijamur merupakan obat yang dapat bersifat fungistatik, fungisidal maupun kombinasi keduanya. Obat antijamur merupakan terapi yang umum digunakan untuk menangani infeksi akibat jamur baik yang ringan seperti kandidiasis mukosa maupun kandidiasis sistemik yang serius. Prinsip kerja obat antijamur adalah secara selektif menghilangkan jamur patogen dari tubuh hospes dengan toksisitas seminimal mungkin. Ada beberapa jenis antijamur yang umum digunakan sebagai alternatif terapi infeksi jamur antara lain :

2.3.1 Polyene

Obat antijamur yang termasuk dalam golongan *polyene* antara lain Amfoterisin B, Nistatin dan Primaricin. *Polyene* merupakan produk alami dari *Streptomyces nodosus*. *Streptomyces nodosus* termasuk dalam golongan *Actinomycete* yang merupakan bakteri Gram positif bersifat aerob, memiliki morfologi menyerupai jamur yang memiliki hifa dan menghasilkan spora (Dilip *et al.*, 2013). *Actinomycetes* berperan sebagai mikroba penghasil antibiotik dan menghasilkan berbagai sumber daya metabolit bioaktif seperti enzim dan inhibitor enzim, regulator imunologi dan reagen (Ratnakomala *et al.*, 2011). Mekanisme utama molekul *polyene* adalah dengan mengikat komponen membran sel ergosterol pada jamur, sehingga penggunaan *polyene* sebagai antijamur dapat mengganggu stabilitas membran, memungkinkan terjadinya kebocoran membran dan menyebabkan pengeluaran bahan-bahan intraseluler yang memicu terjadinya apoptosis pada sel jamur (Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 2009).

Amfoterisin B merupakan antijamur yang memiliki spektrum luas sehingga dapat digunakan untuk terapi infeksi yang disebabkan oleh berbagai spesies jamur termasuk jamur dimorfik seperti *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Blastomyces dermatitidis*, dan *Paracoccidioides brasiliensis*. Amfoterisin B juga merupakan obat yang tepat digunakan untuk terapi infeksi jamur akibat jamur oportunistik seperti *Candida spp*, *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus spp* dan *Zygomycetes* (Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 2009). Amfoterisin B jarang menimbulkan resistensi. Tetapi pemberian secara intravena dikaitkan dengan berbagai efek samping, mulai dari flebitis hingga toksisitas ginjal.



Nistatin adalah salah satu agen antijamur yang masih banyak digunakan secara luas hingga saat ini. Nistatin terlalu toksik jika diberikan secara parenteral, dan jika diberikan secara oral absorpsinya sangat sedikit. Nistatin tidak diserap oleh tubuh sehingga tidak dapat digunakan untuk mengobati infeksi jamur dalam darah (kandidemia). Selain itu penggunaan Nistatin perlu diperhatikan pada penderita penyakit liver, kejang, gangguan sistem syaraf, dan kelainan darah. Mekanisme kerja Nistatin sama seperti Amfoterisin B yaitu dengan mengikat ergosterol pada membran jamur. Akibatnya jamur akan kehilangan banyak komponen makromolekul dan kation sehingga secara perlahan jamur akan lisis (Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, 2009).

2.3.2 Golongan Azol

Antijamur kelas azol mulai dikenal secara luas sejak diizinkannya penggunaan Mikonazol sebagai antijamur. Penggunaan azol generasi pertama (Mikonazol dan Ketokonazol) berkaitan dengan toksisitas sistemik, tetapi azol generasi kedua (Flukonazol, Itrakonazol, Posakonazol, dan Varikonazol) umumnya lebih aman dan ditoleransi dengan baik oleh tubuh. Mikonazol dan obat azol lainnya tersedia dalam bentuk topikal untuk pengobatan kandidiasis kutan dan kandidiasis vaginitis. Mekanisme utama antijamur kelas azol adalah menghambat Cytochrome 450 (CYP450). Terhambatnya aktivitas CYP450 akan mengganggu sintesis ergosterol yang merupakan sterol utama pada membran sel jamur, sehingga menyebabkan perubahan permeabilitas membran jamur (Sweetman, 2009).

Ketokonazol dapat diberikan baik secara oral maupun topikal untuk terapi mikosis yang disebabkan oleh *H. capsulatum*. Selain itu, Ketokonazol juga aktif



melawan kandidiasis mukosa dan berbagai mikosis kulit, termasuk infeksi dermatofita, *pityriasis versicolor*, dan kandidiasis kutaneus. Tetapi berdasarkan penelitian, Ketokonazol tidak efektif jika digunakan sebagai terapi *Aspergillo*sis. Kelompok Triazole (Flukonazol, Itrakonazol) paling sering digunakan untuk terapi mikosis sistemik dan dilaporkan memiliki efektifitas yang jauh lebih baik jika dibandingkan dengan Amfoterisin B. Bahkan Flukonazol juga dilaporkan memiliki efektifitas yang tinggi untuk terapi kandidemia. Flukonazole berperan dalam menghambat enzim lanosterol atau enzim sitokrom p450 14- α demethylase yang berfungsi mengonversi lanosterol menjadi ergosterol yang berperan penting dalam mempertahankan integritas membran sel jamur. Sedangkan Itrakonazol telah terbukti efektif untuk *histoplasmosis*, *blastomikosis*, *sporotrichosis*, *coccidioidomycosis*, pengobatan konsolidasi untuk *cryptococcosis*, dan beberapa bentuk aspergillosis (Hardman, 2012).

Meskipun dilaporkan memiliki efektifitas antijamur yang baik, golongan azol juga dilaporkan dapat menimbulkan efek samping yang merugikan. Penggunaan azol dalam jangka panjang dilaporkan dapat menyebabkan resistensi dan toksisitas hati yang mengancam nyawa. Selain itu penggunaan azol juga dapat menimbulkan efek samping seperti mual dan muntah (Sweetman, 2009).

2.3.3 5-Fluorocytosin

5-Fluorositosin adalah derivat antijamur yang dapat diberikan secara oral. Fluorositosin secara langsung akan terpenetrasi ke dalam sel-sel jamur, kemudian oleh suatu enzim jamur *sitosin deaminase* akan diubah menjadi 5-Fluorourasil. 5-Fluorourasil dimetabolisme oleh tubuh membentuk *5-Fluorodexyuridilic acid monophosphatase*, yang akan mengganggu aktivitas sintesis timidilat dan sintesis DNA. Penggunaan 5-Fluorositosin seringkali dikombinasikan dengan Amfoterisin



B untuk efek yang lebih baik. Tetapi penggunaan 5-Fluorositosin seringkali menimbulkan efek samping mual, muntah dan ruam kulit yang dilaporkan sebagai akibat dari perubahan fluorositosin menjadi 5-Fluorourasil. Kombinasi 5-Fluorositosin dan Amfoterisin B itu seringkali menjadi pilihan perawatan pada meningitis kriptokokal dan efektif terhadap sejumlah infeksi mikosis lainnya, termasuk beberapa jenis infeksi yang disebabkan oleh jamur oportunistik seperti *Candida albicans* (Jawetz *et al.*, 2010).

2.3.4 Griseofulvin

Griseofulvin adalah antijamur yang diisolasi dari *Penicillium griseofulvum*. Griseofulvin merupakan antijamur yang digunakan untuk infeksi pada kulit dan kuku. Tetapi mekanisme kerja griseofulvin belum diketahui secara pasti. Sifat fungisidalnya kemungkinan disebabkan oleh terganggunya fungsi mikrotubulus, sintesis asam nukleat dan polimerasi akibat penggunaan griseofulvin. Meskipun secara keseluruhan efek samping yang ditimbulkan rendah tetapi penggunaan griseofulvin seringkali menyebabkan efek samping berupa demam, ruam kulit, sakit kepala, mual, hepatosensitivitas dan fotosensitivitas (Bellantoni dan Komnikov, 2008).

2.3.5 Allylamine

Mekanisme kerja *Allylamine* adalah menghambat sintesis enzim *squalene epoxidase*. Enzim ini sangat diperlukan untuk sintesis ergosterol sebagai komponen utama membran sel jamur. Contoh obat yang tergolong *Allylamine* adalah Morfolin, Terbinafin dan Tiokarbamat (Sanglard *et al.*, 2009).

2.3.6 Echinocandin

Echinocandin dapat digunakan untuk mengobati infeksi jamur sistemik pada pasien *immunocompromised*. Mekanisme kerja *Echinocandin* adalah meng



hambat sintesis enzim *1,3 Beta-glucan sintetase*. Enzim *1,3 Beta-glucan sintetase* diperlukan untuk membentuk glukukan yang menjadi salah satu komponen penting penyusun dinding sel jamur. Obat-obatan yang tergolong dalam kelas *Echinocandin* adalah Anidulafungin, Caspofungin dan Micafungin. Kekurangan *Echinocandin* adalah obat ini tidak terserap dengan baik jika diberikan secara oral. Tetapi jika diberikan secara intravena maka konsentrasi obat akan mencapai sebagian besar jaringan dan organ sehingga lebih efektif untuk mengobati infeksi jamur sistemik maupun lokal (Sucher *et al.*, 2009).

2.4 Tanaman Cengkeh

2.4.1 Taksonomi Tanaman Cengkeh

Taksonomi Tanaman cengkeh adalah sebagai berikut :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Filum	: <i>Spermatophyta</i>
Sub-Divisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i>
Ordo	: <i>Myrtales</i>
Famili	: <i>Myrtaceae</i>
Genus	: <i>Syzygium</i>
Species	: <i>Syzygium aromaticum</i> (Hapsah dan Hasanah, 2011).



Gambar 3.2 Tanaman Cengkeh (Direktorat Jenderal Perkebunan, 2013)

2.4.2 Karakteristik Tanaman Cengkeh

Cengkeh adalah pohon aromatik dari keluarga *Myrtaceae*. Cengkeh merupakan tanaman asli dari Kepulauan Maluku (Cortesrojas *et al.*, 2014). Tidak hanya di Indonesia, saat ini telah banyak negara-negara di dunia yang membudidayakan cengkeh dengan tujuan komersial seperti Banglades, India, Brazil, Malaysia, Madagaskar, Pakistan dan Sri Lanka. Meskipun Brazil tergolong negara baru yang membudidayakan cengkeh, tetapi dilaporkan bahwa sekitar 8.000 hektar tanah digunakan sebagai lahan budidaya cengkeh, dan Brazil memproduksi hampir 2.500 ton per tahun berdasarkan laporan 78th *International Agriculture Fair*.

Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) di Indonesia akan tumbuh dengan rata-rata tinggi pohon mencapai 8-12 meter. Cengkeh sering dibudidayakan di daerah pesisir pantai dengan ketinggian maksimum 200 m di atas permukaan laut (Hapsoh dan Hasanah, 2011). Cengkeh memiliki akar tunggang yang bentuknya menyerupai tombak (fusiformis). Dengan akar tunggang yang dimilikinya, cengkeh dapat tumbuh kuat dan tetap tegak hingga puluhan tahun bahkan ratusan tahun. Di bagian akar yang dekat dengan permukaan atas tanah, akan dapat ditemui bulu akar yang berperan dalam pengambilan zat hara dari dalam tanah. Sedangkan



pohon cengkeh memiliki tekstur berkayu keras, tinggi, tegak lurus (*erectus*) dengan permukaan luar yang kasar dan berbentuk bulat. Pohon cengkeh memiliki banyak cabang monopodial dan dipenuhi oleh banyak ranting. Morfologi daun cengkeh hanya terdiri dari tangkai daun (petioles) dan helai daun (lamina) tetapi tidak memiliki pelepah daun (vaginula) sehingga disebut dengan daun tidak lengkap (Suwanto *et al.*, 2014). Permukaan bawah daun dilapisi oleh kelenjar minyak aromatik. Daun cengkeh yang masih muda umumnya berwarna kuning kehijauan disertai warna sedikit kemerahan. Sedangkan daun cengkeh yang sudah tua berwarna hijau tua. Bunga cengkeh ada pada ujung ranting daun dengan bentuk bunga bertandan. Bunga cengkeh termasuk bunga majemuk karena berkembang dalam kelompok kecil (Nuryanti, 2015). Kuncup bunga awalnya berwarna kuning pucat dengan sedikit mengkilap dan secara berangsur-angsur akan menjadi hijau dan berubah menjadi merah menyala saat dewasa. Panjang kuncup bunga cengkeh rata-rata sekitar 1,5-2,0 cm. Dalam bentuk inilah cengkeh dipanen kemudian dikeringkan jika akan digunakan sebagai bumbu. Kuncup bunga cengkeh dipanen saat fase pematangan sebelum cengkeh berbunga yang dapat dilakukan secara manual atau secara kimiawi menggunakan *phytohormone* alami yang akan melepaskan *ethylene* dan menginisiasi terjadinya pematangan lebih awal. Buah cengkeh akan matang sekitar sembilan bulan setelah berbunga. Awalnya tangkai buah akan berwarna hijau dan saat sudah mekar akan berwarna merah (Hapsoh dan Hasanah, 2011).



Gambar 3.3 Ket : (a) Daun Cengkeh, (b) Kuncup Bunga Cengkeh, (c) Pohon Cengkeh
(Direktorat Jenderal Perkebunan. 2013)

2.4.3 Kegunaan Tanaman Cengkeh

Umumnya cengkeh digunakan sebagai bumbu masakan di Asia, Afrika, Meksiko, dan negara-negara Timur Tengah dan sekitarnya. Cengkeh juga dapat digunakan untuk memberikan aroma pada minuman maupun makanan. Cengkeh sebagai bahan rempah sering dikombinasikan dengan bahan lain seperti vanilla, kayu manis, lemon, anggur merah, basil, bawang, kulit jeruk, atau merica. Selain digunakan sebagai bumbu dan pelengkap dalam makanan maupun minuman, cengkeh juga digunakan sebagai bahan utama rokok kretek di Indonesia. Rokok kretek telah dikenal secara luas di seluruh Eropa, Asia dan Amerika Serikat. Mulai tahun 2009, rokok kretek dengan bahan utama cengkeh diklasifikasikan sebagai cerutu di Amerika Serikat.

Sejak ratusan tahun yang lalu cengkeh juga sudah digunakan sebagai media pengobatan. Salah satu negara yang mempromotori penggunaan cengkeh



dalam dunia pengobatan adalah India yang dikenal sebagai pengobatan *Ayurvedic*. Dalam dunia kedokteran gigi, cengkeh digunakan sebagai *anodyne* (obat penghilang rasa sakit) untuk keadaan darurat. Cengkeh juga digunakan sebagai karminatif, untuk meningkatkan asam hidroklorik lambung dan meningkatkan peristaltik usus. Cengkeh juga seringkali digunakan sebagai antihelmintik alami (obat cacing). Minyak esensial cengkeh digunakan sebagai minyak aromaterapi yang dioles di perut saat ada masalah pencernaan dan dioles di daerah pipi maupun rahang ketika mengalami sakit gigi (Alqareer *et al.*, 2012).

2.4.4 Kandungan Kimia Cengkeh

Berdasarkan hasil skrining fitokimia, daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung flavonoid, tanin, alkaloid, terpenoid dan saponin (Eltayeib dan Maysoon, 2017).

2.4.4.1 Flavonoid

Istilah flavonoid berasal dari bahasa Latin *flavus* yang berarti kuning sesuai dengan warna asli flavonoid. Secara kimia, flavonoid tersusun atas 15 kerangka karbon dengan dua cincin fenil (A dan B) dan cincin heterosiklik (C). Berdasarkan penelitian secara *in vitro* yang telah banyak dilakukan, flavonoid memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antialergi, antiinflamasi, antioksidan, antibakteri, antivirus dan antijamur. Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan cara mengikat protein mikrotubulus sehingga proses mitosis sel akan terganggu (Cunshine dan Lamb, 2011). Selain itu flavonoid juga dapat mengganggu permeabilitas membran sel *Candida albicans* dengan cara membentuk ikatan kompleks dengan protein membran sehingga menginisiasi terjadinya kerusakan membran sel *Candida albicans*. Flavonoid juga dapat menghambat kerja enzim yang mensintesis protein DNA. Gugus hidroksil yang



terdapat pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik pada membran sel *Candida albicans*. Perubahan ini yang secara langsung akan menghambat proses transpor nutrisi dan menyebabkan kematian sel *Candida albicans* (Engriyani *et al.*, 2012). Berdasarkan pengujian kuantitatif yang telah dilakukan, ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) mengandung kadar flavonoid sebesar 7.308 % (Wahyulianingsih *et al.*, 2013).

2.4.4.2 Tanin

Tanin adalah polifenol larut air yang dapat ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan. Selain itu tanin juga dapat ditemukan pada hampir seluruh bagian tumbuhan seperti kulit kayu, kayu, daun, buah, dan akar. Pada tumbuhan, tanin berperan sebagai pestisida yang melindungi tumbuhan dari pemangsa (herbivora) dan hama. Selain itu tanin juga berperan dalam memberi rasa sepat pada buah yang masih muda. Sebagai agen antijamur, salah satu mekanisme molekuler tanin yang paling menonjol adalah menghambat pembentukan *chitin* yang merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel *Candida albicans*. Tanin berperan dalam menginaktivasi *adhesion* sel *Candida albicans* sehingga dinding sel menjadi lisis dan tidak mampu menginvasi sel hospes (Ismarani, 2012). Berdasarkan *screening* fitokimia yang telah dilakukan, dalam 100 gram daun cengkeh yang dilarutkan dengan 500 ml etanol 80% mengandung tanin sebesar $7,61 \pm 0 \%$ (Lumingkewas *et al.*, 2014).

2.4.4.3 Terpenoid

Terpenoid adalah golongan senyawa hidrokarbon yang disintesis dari unit asetat. Terpenoid dapat ditemukan di berbagai jenis tumbuhan terutama tumbuhan runjung. Terpenoid memiliki aroma yang kuat dan dapat berperan sebagai pelindung tumbuhan dari herbivora. Pada penelitian *in vitro* yang telah dilakukan,



terpenoid terbukti efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur. Mekanisme aksi terpenoid adalah mengganggu keseimbangan homeostasis ion dalam jamur (Anjana *et al.*, 2010). Berdasarkan *screening* fitokimia kuantitatif yang telah dilakukan, di dalam 50 gram simplisia halus yang dilarutkan dalam 500 ml pelarut dan diekstrak dengan cara maserasi kemudian dievaporasi pada suhu 50°C, didapatkan kandungan terpenoid sebesar 1.70 ± 0.01 % (Ali *et al.*, 2018).

2.4.4.4 Alkaloid

Alkaloid merupakan golongan senyawa basa nitrogen heterosiklik. Contoh senyawa alkaloid pertama yang dimanfaatkan dalam dunia kesehatan adalah morfin yang diisolasi dari *Papaver somniferum*. Sedangkan kodein dan heroin adalah bentuk turunan dari morfin. Mekanisme kerja alkaloid sebagai salah satu agen antijamur adalah menyebabkan kerusakan dinding sel jamur dan menyebabkan interkalasi pada DNA jamur (Freisleben dan Jager, 2014). Akibatnya pada basa yang berurutan akan terjadi peregangan. Apabila DNA bereplikasi, maka DNA hasil replikasi akan mengalami adisi dan ada yang mengalami delesi pada area terjadinya interkalasi, sehingga jamur mengalami mutasi. Berdasarkan *screening* fitokimia kuantitatif yang telah dilakukan, dalam 50 gram simplisia halus yang dilarutkan dalam 500 ml pelarut dan diekstrak dengan cara maserasi kemudian dievaporasi pada suhu 50°C, didapatkan kandungan alkaloid sebesar 9.60 ± 0.12 % (Ali *et al.*, 2018).

2.4.4.5 Saponin

Saponin merupakan senyawa yang tersusun atas inti steroid (C27) dengan molekul karbohidrat yang banyak ditemukan di berbagai spesies tumbuhan terutama tumbuhan dengan genus *Saponaria*. Saponin merupakan senyawa aktif yang apabila dikocok akan menimbulkan busa. Saponin dapat



menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan cara berinteraksi dengan membran sterol. Saponin yang berikatan dengan sterol pada membran *Candida albicans*, akan membentuk agregasi. Agregasi ini akan membentuk lubang permanen pada membran plasma yang dapat menyebabkan membran sel *Candida albicans* menjadi lisis. Selain berikatan dengan membran sterol *Candida albicans*, Saponin dapat menghambat sintesis enzim *DNA-polymerase* yang menyebabkan sintesis asam nukleat terganggu (Freisleben dan Jager, 2014). Berdasarkan *screening* fitokimia kuantitatif yang telah dilakukan, dalam 50 gram simplisia halus yang dilarutkan dalam 500 ml pelarut dan diekstrak dengan cara maserasi kemudian dievaporasi pada suhu 50°C, didapatkan kandungan saponin sebesar $3.70 \pm 0.00 \%$ (Ali *et al.*, 2018).

2.5 Mekanisme Kerja Antimikroba

Menurut fungsinya, antimikroba dapat dibedakan menjadi dua yaitu kelompok yang mampu membunuh mikroorganisme (mikrobisida) dan kelompok yang hanya menghambat pertumbuhan mikroorganisme (biostatik). Selain itu juga dapat dikelompokkan menurut target mikroorganismenya. Sebagai contoh, antibiotik digunakan untuk melawan bakteri dan antijamur digunakan untuk melawan jamur. Penggunaan obat antimikroba untuk mengobati infeksi dikenal sebagai kemoterapi antimikroba, sementara penggunaan obat antimikroba untuk mencegah infeksi dikenal sebagai profilaksis antimikroba (Webster, 2009). Untuk dapat melawan mikroorganisme ada beberapa mekanisme kerja antimikroba yang dijelaskan sebagai berikut :

2.5.1 Menghambat Pembentukan Dinding Sel

Pembentukan dinding sel memiliki peran penting dalam pertumbuhan



dan kelangsungan hidup mikroba. Dinding sel merupakan struktur dinamis yang sangat kompleks dan berfungsi untuk mempertahankan bentuk dan integritas sel. Struktur dinding sel umumnya tersusun dari 3 komponen utama yaitu glukan, kitin, dan mannan. Komponen yang sering menjadi target sasaran berbagai jenis antimikroba adalah glukan dan kitin (Zhen *et al.*, 2008). Kitin merupakan polimer berantai panjang yang terdiri dari unit *1,4-N-acetylglucosamine*. Penghambatan sintesis kitin dapat mengganggu maturasi dinding sel, pembelahan sel dan proses pertumbuhan sel jamur (Zhen *et al.*, 2008). Glukan merupakan komponen yang berperan dalam menguatkan struktur dinding sel. Glukan adalah polisakarida yang tersusun atas monomer D-glukosa (Zhen *et al.*, 2008). Beberapa jenis antijamur dapat menghambat sintesis glukan dengan cara mengganggu metabolisme glukosa. Terganggunya sintesis glukan dapat menyebabkan lisis pada dinding sel jamur (Tada *et al.*, 2013).

2.5.2 Mengganggu Integritas Membran Sel

Ergosterol adalah jenis sterol pada membran sel yang mengatur permeabilitas membran. Homeostasis ergosterol sangat penting untuk sel-sel mikroba. Regulasi ini melibatkan kontrol transkripsi gen yang mengkode enzim biosintetik ergosterol (Yang *et al.*, 2014). Agen antimikroba akan mengikat sterol-sterol penyusun ergosterol sehingga biosintesis ergosterol akan terganggu dan mikroba mengalami kebocoran membran yang akan mengakibatkan keluarnya materi intraseluler seperti protein, asam nukleat, nukleotida dan lain-lain (Gray *et al.*, 2012).

2.5.3 Menghambat Sintesis Asam Amino

Asam amino merupakan senyawa yang sangat berperan bagi hidup mikroba. Sintesis asam amino berlangsung di organel ribosom dengan bantuan



mRNA dan tRNA. Pada mikroba, ribosom terdiri dari dua jenis yaitu ribosom 30S dan ribosom 50S. Agen antimikroba mampu menghambat sintesis asam amino dengan mengikat ribosom 30S. Akibatnya kode pada mRNA salah dibaca oleh tRNA sehingga akan terbentuk asam amino yang salah dan nonfungsional bagi mikroba (Setiabudy, 2009).

2.5.4 Mengganggu Proses Pembelahan Sel

Agen antimikroba mengganggu fase pembelahan sel dengan mempengaruhi benang-benang *spindle* yang menjadi penghubung antar sentromer (Setiabudy, 2009). Selain itu, agen antimikroba juga menghentikan pembentukan sel-sel baru saat fase mitosis. *Spindle* mitosis tersusun atas mikrotubulus (tubulin terpolimerisasi) yang berperan penting dalam replikasi kromosom. Agen antimikroba juga menghambat pembentukan mikrotubulus sehingga mengacaukan proses transkripsi DNA (Myers, 2006).

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah prosedur laboratorium yang umum digunakan ketika akan mengisolasi atau memisahkan suatu zat dengan menggunakan pelarut yang tepat. Ekstraksi didasarkan pada prinsip perpindahan zat ke dalam pelarut secara difusi perlahan. Dengan menggunakan pelarut yang tepat maka zat yang diinginkan dapat larut sedangkan zat yang tidak diinginkan menjadi tidak larut (Hamburg, 2014). Beberapa macam metode ekstraksi yang dapat digunakan untuk memisahkan senyawa dari simplisia antara lain :

2.6.1 Maserasi

Metode maserasi pada awalnya merupakan teknik yang digunakan dalam pembuatan anggur (*wine*) tetapi saat ini telah digunakan secara luas dalam dunia



industri maupun dunia medis terutama dalam pembuatan obat-obatan. Metode maserasi merupakan teknik ekstraksi yang paling mudah, murah, sederhana, dan dilakukan tanpa proses pemanasan. Kerugian utama dari metode maserasi adalah memakan banyak waktu, menghasilkan sampah organik, penggunaan pelarut dalam jumlah banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa akan hilang akibat proses penyaringan yang kurang sempurna. Selain itu, ada beberapa jenis senyawa yang tergolong sulit diekstraksi pada suhu ruangan (Azwanida, 2015).

Metode maserasi dilakukan dengan cara merendam simplisia di dalam wadah tertutup yang telah diisi dengan pelarut bukan air atau pelarut non polar sambil sesekali diaduk. Perendaman ini bertujuan agar bahan dapat melunak sehingga akan menghancurkan dinding sel tanaman dan *phytochemical* dapat larut dengan baik (Azwanida, 2015). Kemudian didiamkan dalam suhu ruangan dalam jangka waktu minimal 3 hari hingga zat terlarut dengan pelarut. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai keseimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan (Handa *et al.*, 2008).

2.6.2 Perkolasi

Perkolasi adalah metode ekstraksi yang paling sering digunakan untuk mengekstraksi metabolit sekunder dari bahan alam terutama untuk senyawa-senyawa yang bersifat termolabil (Azwanida, 2015). Ekstraksi dilakukan di dalam perkolator atau sebuah wadah sempit berbentuk kerucut yang dilengkapi kran untuk mengalirkan pelarut di bagian bawahnya. Awalnya, simplisia akan diberi pelarut dalam jumlah yang tepat dan didiamkan sekitar 4 jam di dalam wadah tertutup. Kemudian, kran dibagian bawah perkolator dibuka dan pelarut yang ada



di dalamnya dibiarkan menetes perlahan (Handa *et al.*, 2008). Pelarut tambahan dapat ditambahkan secara terus menerus sehingga proses ekstraksi selalu dilakukan dengan pelarut yang baru. Proses ekstraksi dilakukan hingga seluruh metabolit sekunder tersaring yang ditandai dengan pelarut menjadi tidak berwarna. Untuk memastikan metabolit sekunder tersaring sempurna dapat menggunakan spektrofotometer UV (Seidel, 2012).

2.6.3 Soxhlet

Metode *Soxhlet* dilakukan dengan cara menempatkan serbuk sampel dalam kantong berpori atau *thimble* yang terbuat dari kertas saring atau selulosa yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Serbuk sampel dibungkus kantong berpori atau *thimble* agar material padat tidak ikut larut bersama pelarut. Kemudian pelarut dimasukkan dalam tabung distilasi. Kondensor juga harus disambungkan dengan kran air. Kemudian pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Tetapi titik didih pelarut harus lebih rendah dari titik didih senyawa agar tidak merusak struktur senyawa. Saat pelarut mencapai titik didih, maka uap akan mencapai kondensor dan membentuk tetesan-tetesan air yang akan jatuh ke kantong berpori yang berisi serbuk sampel. Sehingga secara perlahan, senyawa - senyawa didalam serbuk sampel akan larut bersama pelarut (Azwanida, 2015).

Keuntungan metode *Soxhlet* adalah jumlah pelarut yang digunakan lebih sedikit dan tidak memakan waktu lama. Sedangkan kerugian metode *Soxhlet* adalah sampel ideal terbatas pada bentuk serbuk yang kering dan halus, penggunaan pelarut organik cair meningkatkan risiko mudah terbakar, dapat merusak senyawa-senyawa yang bersifat termolabil. Hal ini karena ekstrak akan secara terus menerus dipanaskan pada titik didih pelarut yang digunakan. Selain merusak senyawa yang bersifat termolabil, pemanasan secara terus menerus



dapat menginisiasi pembentukan artefak atau senyawa baru sehingga hasil ekstraksi tidak alami lagi (Seidel, 2012).

2.6.4 *Reflux* dan Distilasi Uap

Metode *Reflux* dan metode destilasi uap disebut juga metode ekstraksi berkesinambungan. Metode *Reflux* umumnya digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang mudah menguap. Sedangkan destilasi uap umumnya digunakan untuk mengekstraksi minyak esensial. Pada metode *Reflux*, sampel dimasukkan bersama pelarut ke dalam tabung yang telah dihubungkan dengan kondensor. Pelarut dipanaskan hingga mencapai titik didih. Selama pemanasan, uap dan destilat menjadi dua bagian yang tidak akan saling bercampur. Sehingga uap akan terkondensasi dan kembali ke tabung sedangkan destilat akan ditampung dalam wadah yang terhubung dengan kondensor. Kerugian dari metode ekstraksi *Reflux* dan destilasi uap adalah dapat merusak senyawa yang bersifat termolabil (Seidel, 2012).

2.6.5 Dekok

Pada metode ini, bahan mentah direbus dalam air dengan suhu dan durasi waktu tertentu, kemudian didinginkan dan disaring (Handa *et al.*, 2008). Metode metode dekok adalah sangat tepat digunakan untuk mengekstraksi senyawa yang dapat larut air dan bersifat termostabil. Selain itu sampel dapat berupa bagian tanaman keras seperti akar maupun kulit kayu dan lain sebagainya. Metode dekok juga menghasilkan lebih banyak senyawa larut minyak dibandingkan dengan metode maserasi maupun *infusion* (Azwanida, 2015).

2.6.6 Digesti

Metode digesti adalah salah satu bentuk modifikasi dari teknik maserasi kinetik (dengan pengadukan simplisia secara terus menerus) dengan sedikit



pemanasan selama proses ekstraksi. Penggunaan metode digesti dapat meningkatkan daya penetrasi pelarut ke dalam pori-pori simplisia sehingga bahan aktif akan terekstraksi dengan sempurna. Suhu pemanasan harus dipastikan tidak akan mengubah struktur senyawa. Suhu yang paling banyak digunakan adalah antara 35°C sampai dengan 40°C. Suhu pemanasan tidak boleh melebihi 50° C (Handa *et al.*, 2008). Metode digesti dapat digunakan untuk senyawa-senyawa yang tahan terhadap pemanasan. Keuntungan metode digesti adalah dapat mempercepat proses ekstraksi sekitar 6 sampai 24 jam lebih cepat daripada metode maserasi. Selain itu, dengan pengadukan secara terus menerus akan lebih efektif sehingga bahan aktif dalam lebih cepat larut dalam cairan pelarut. Karena keadaan diam selama maserasi menurunkan kecepatan perpindahan senyawa-senyawa simplisia ke dalam pelarut.

2.6.7 Infusion

Metode infus dilakukan dengan cara merendam bahan mentah atau simplisia yang telah dihaluskan kedalam air dingin atau air panas dalam waktu singkat kurang lebih 15 sampai dengan 20 menit. Jika menggunakan air panas, simplisia yang telah dihaluskan akan direndam air dan dipanaskan hingga suhu mencapai 96°C hingga 98°C dan kemudian dilakukan penyaringan. Metode infus merupakan metode ekstraksi yang tepat digunakan untuk senyawa-senyawa mudah larut dalam air (Handa *et al.*, 2008).

2.7 Uji Antimikroba

Uji kepekaan mikroorganisme terhadap agen antimikroba dilakukan untuk mengetahui efektivitas agen antimikroba. Uji kepekaan mikroorganisme terhadap agen antimikroba dapat dilakukan dengan cara :



2.7.1 Metode Dilusi

Metode Dilusi merupakan metode paling tepat untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Parija, 2012). Nilai KHM yang diperoleh dari metode dilusi ini menggambarkan nilai minimal konsentrasi agen antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba. Umumnya nilai konsentrasi dinyatakan dengan satuan $\mu\text{g/mL}$, mg/mL atau mg/L . Semakin rendah KHM, semakin kuat antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Ada dua jenis metode dilusi yaitu metode dilusi agar dan metode dilusi tabung yang dijelaskan sebagai berikut :

2.7.1.1 Dilusi Agar

Agen antimikroba yang akan diuji diencerkan terlebih dahulu dengan air sesuai dengan konsentrasi-konsentrasi yang diinginkan. Setelah menentukan konsentrasi, campurkan larutan tersebut dengan agar untuk membentuk *plate* agar. Kemudian mikroba dengan konsentrasi standar diinokulasi di masing-masing *plate* agar. Untuk *plate* agar yang digunakan sebagai kontrol, mikroba diinokulasi dalam *plate* tersebut sesuai dengan konsentrasi standar tetapi *plate* tidak perlu diberi agen antimikroba. *Plate* agar yang telah ditambahkan mikroba kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam (Parija, 2012). Tetapi waktu inkubasi ini dapat lebih cepat jika menggunakan koloni mikroba yang cepat membelah. Setelah diinkubasi, *plate* agar diperiksa untuk menentukan apakah terjadi pertumbuhan mikroba di tempat yang diinokulasi. Konsentrasi terendah agen antimikroba yang dapat mencegah pertumbuhan mikroba dianggap sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) biasanya ditandai dengan *plate* agar yang tetap jernih (Parija, 2012).



Metode dilusi agar dianggap sebagai metode standar untuk menguji kepekaan agen antimikroba. Selain itu metode dilusi tergolong murah dan dapat menguji lebih dari satu jenis patogen bahkan dapat menguji hingga tiga puluh sampel patogen sekaligus. Tetapi kekurangan metode dilusi agar adalah tidak dapat digunakan untuk menguji lebih dari satu jenis agen antimikroba dalam waktu bersamaan (Lee, 2013).

2.7.1.2 Dilusi Tabung

Metode dilusi tabung adalah metode kuantitatif yang dapat digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM) suatu agen antimikroba secara *in vitro*. Agen antimikroba secara serial diencerkan dengan kaldu *Mueller-Hinton* sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan. Kemudian inokulasikan mikroba dengan konsentrasi standar ke masing-masing tabung yang telah berisi campuran agen antimikroba dan kaldu. Setelah itu tabung diinkubasi pada suhu 37°C selama 16-18 jam. Konsentrasi terendah agen antimikroba yang dapat mencegah pertumbuhan mikroba dianggap sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) biasanya ditandai dengan tabung yang tetap terlihat jernih tidak keruh (Parija, 2012).

Selanjutnya, biakan dari tabung-tabung yang jernih diinokulasikan pada media *plate* agar. Kemudian diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Konsentrasi terendah agen antimikroba di *plate* agar yang tidak ditemukan pertumbuhan koloni mikroba ditetapkan sebagai Kadar Bunuh Minimal (KBM) (Dzen *et al.*, 2010).

2.7.2 Metode Difusi

Metode difusi merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan di laboratorium untuk menentukan kepekaan isolat mikroba terhadap agen antimikroba. Metode difusi dilakukan dengan cara membuat *plate* agar yang telah



diresapi oleh agen antimikroba sesuai dengan konsentrasi yang diinginkan.

Kemudian pada *plate* tersebut diinokulasi koloni mikroba dan diinkubasi pada 37°C selama 18-24 jam. Kepekaan mikroba terhadap agen antimikroba ditentukan dengan mengukur zona inhibisi pertumbuhan mikroba di sekitar *plate* agar. Ada 3 macam metode difusi yaitu:

2.7.2.1 Metode Kirby Bauer

Metode Kirby-Bauer merupakan metode yang paling umum digunakan dalam menentukan kepekaan isolat mikroba dari spesimen klinis. Pada metode ini, tes dilakukan dengan menginokulasi bakteri uji dalam larutan kaldu, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Pada durasi 18-24 jam isolat mikroba akan berada dalam fase eksponensial yang ditandai dengan pertumbuhan mikroba yang cepat, aktivasi metabolisme sel dan produksi enzim mencapai tingkat yang maksimal (Pudjarwoto *et al.*, 2008). Selanjutnya 0,1 ml kaldu diinokulasi pada permukaan *plate* agar dengan cara menggoreskan ose yang sebelumnya telah disterilkan. *Plate* agar yang digunakan dapat berupa agar nutrisi maupun agar Muller-Hinton. Kemudian *plate* agar yang telah diinokulasi mikroba diinkubasi 18-24 jam pada suhu 37°C. Kepekaan mikroba terhadap agen antimikroba diketahui dengan menghitung diameter zona hambat pertumbuhan mikroba dengan alat bantu *kaliper vernier*. *Kaliper vernier* merupakan alat bantu penglihatan yang memungkinkan pengguna dapat membaca hasil lebih tepat. Interpretasi ukuran zona hambat disesuaikan dengan grafik interpretasi (Parija, 2012).

2.7.2.2 Metode Joan Stokes

Metode *Joan stokes* dilakukan dengan cara membagi agar Muller-Hinton yang ada di dalam cawan petri secara horizontal menjadi tiga bagian. Mikroba yang akan diuji ditempatkan di permukaan atas dan bawah *plate* agar. Sedangkan



mikroba kontrol ditempatkan dibagian tengah *plate* agar. Kemudian *plate* agar diinkubasi pada suhu 37°C. Selanjutnya dilakukan perbandingan hasil zona hambat mikroba uji dan zona hambat mikroba kontrol. Diameter zona hambat diukur dari tepi *plate* agar ke tepi zona hambat (Parija, 2012).

2.7.2.3 Metode Cakram Primer

Metode difusi cakram primer adalah metode yang dilakukan langsung pada spesimen klinis tidak seperti metode difusi Kirby-Bauer atau Stokes yang dilakukan pada kultur murni isolat mikroba dari spesimen klinis. Dalam metode ini, spesimen klinis seperti urin diinokulasi pada permukaan agar yang telah diberi agen antimikroba. *Plate* agar diinkubasi 24 jam pada suhu 37°C untuk kemudian diamati zona hambat pertumbuhan mikroba. Metode ini berguna untuk mengetahui hasil uji kepekaan agen antimikroba dalam waktu cepat tetapi hasil dari metode cakram primer ini harus selalu dikonfirmasi dengan menguji isolat mikroba dengan metode Kirby Bauer atau metode Joan Stokes (Parija, 2012).

2.7.2.4 Metode Lubang Sumuran

Metode difusi lubang atau sumuran dilakukan dengan cara yang hampir sama seperti metode difusi. Koloni mikroba diinokulasi pada permukaan *plate* agar. Selanjutnya *plate* agar dilubangi dengan teknik aseptik hingga membentuk diameter 6-8 mm. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian. Kemudian masukkan agen antimikroba dengan volume 20-100 mikroliter dimasing-masing lubang pada *plate* agar. Dengan demikian, agen antimikroba akan berdifusi ke dalam medium agar dan diharapkan dapat menghambat pertumbuhan mikroba yang diuji. Kemudian *plate* agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Tetapi suhu dan durasi inkubasi dapat disesuaikan dengan jenis mikroba yang diinokulasi (Mounyr *et al.*, 2016). Kepekaan mikroba terhadap agen



antimikroba diketahui dengan menghitung diameter zona hambat disekitar lubang sumuran yang sebelumnya telah ditetesi agen antimikroba.

2.7.3 *Epsilometer Test (E-Test)*

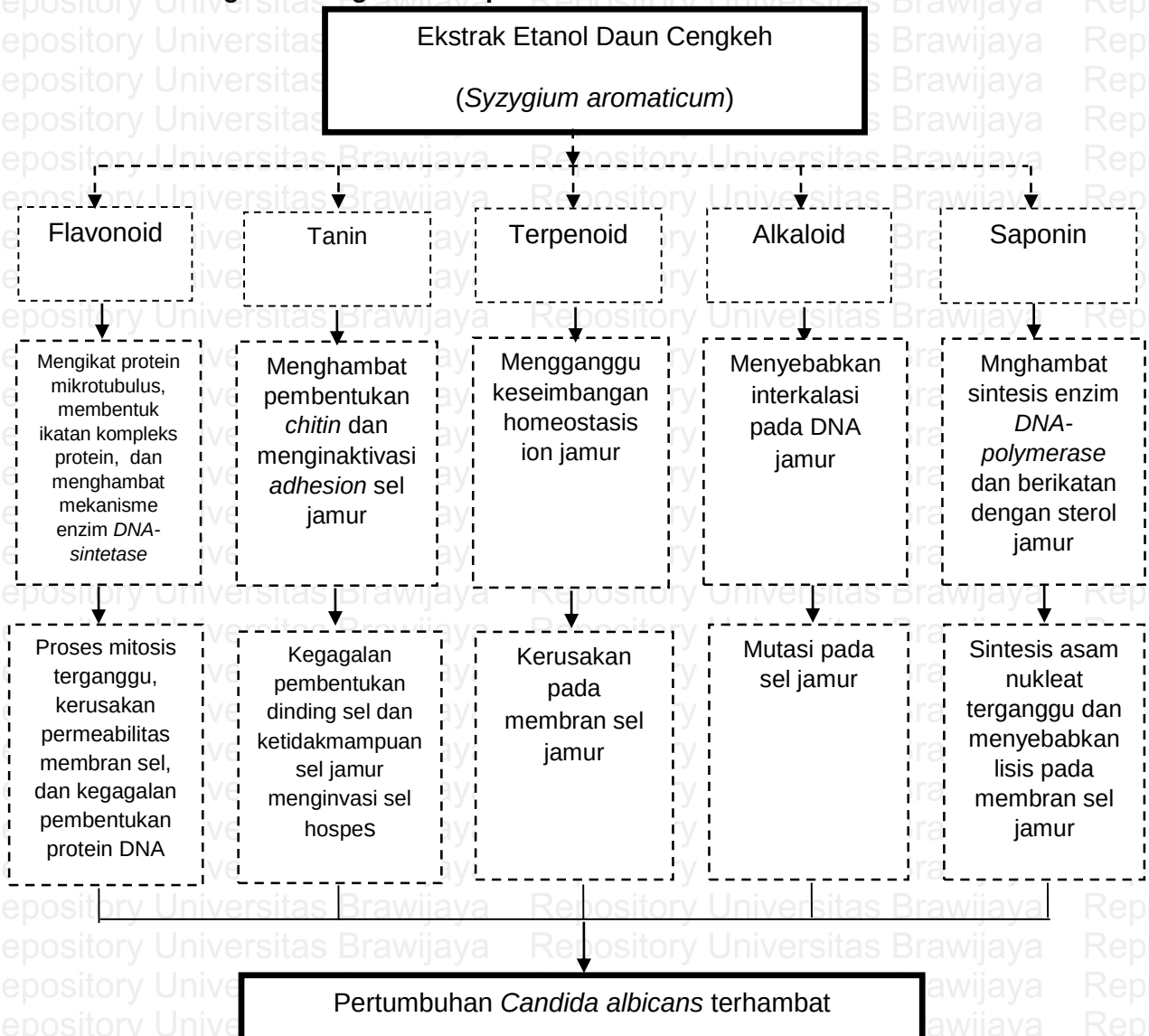
E-test merupakan metode uji antimikroba yang dilakukan berdasarkan prinsip difusi dengan Kadar Hambat Minimal (KHM) yang otomatis terukur. Dalam metode ini, strip plastik yang mengandung agen antimikroba dengan konsentrasi terendah hingga konsentrasi tertinggi ditempatkan pada *plate* agar yang sebelumnya telah diinokulasi koloni mikroba. Kemudian *plate* agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Pada konsentrasi dimana strip plastik terlihat jernih ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM). E-test merupakan uji kepekaan mikroba terhadap agen antimikroba yang hasilnya sangat mudah diinterpretasikan (Parija, 2012).



BAB III

KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan:



: Diamati

---> : Menunjukkan kandungan



: Tidak diamati

—> : Menunjukkan proses



3.2 Uraian Kerangka Konsep

Ekstrak etanol daun cengkeh mengandung beberapa senyawa aktif yaitu flavonoid, tanin, terpenoid, alkaloid, dan saponin. Flavonoid yang terkandung dalam ekstrak etanol daun cengkeh dapat mengikat protein mikrotubulus, membentuk ikatan kompleks protein dan menghambat mekanisme enzim *DNA-sintetase* yang menyebabkan terganggunya proses mitosis, kerusakan permeabilitas membran sel dan menyebabkan kegagalan pembentukan protein DNA. Dengan menghambat pembentukan *chitin* dan menginaktivasi adhesin sel jamur, Tanin dapat menyebabkan kegagalan pembentukan dinding sel dan ketidakmampuan jamur menginvasi jaringan hospes. Terpenoid dapat mengganggu keseimbangan homeostasis ion sel jamur sehingga menginisiasi kerusakan membran sel jamur. Alkaloid merupakan senyawa aktif yang menyebabkan terjadinya interkalasi DNA sehingga *Candida albicans* akan mengalami mutasi. Saponin merupakan senyawa aktif yang dapat menghambat sintesis enzim *DNA-polymerase* sehingga sintesis asam nukleat terganggu. Selain itu, saponin juga dapat mengikat sterol jamur sehingga menyebabkan lisis pada membran sel jamur. Dengan demikian, diharapkan senyawa aktif yang ada pada ekstrak etanol daun cengkeh dapat menyebabkan kerusakan secara fisik dan kimiawi pada sel *Candida albicans*.

3.3 Hipotesis Penelitian

Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.



BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorik dengan *post test only control group design* untuk mengetahui efektivitas antijamur ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Untuk mengetahui nilai Kadar Hambat Minimal (KHM), penelitian ini menggunakan metode dilusi agar (*Agar Dilution Test*).

4.2 Tempat dan Waktu penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan waktu penelitian berlangsung pada bulan Desember 2018 hingga Januari 2019.

4.3 Sampel Penelitian

Sampel penelitian ini adalah *Candida albicans* yang berasal dari swab vagina penderita kandidiasis vulvovaginalis yang didapat dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

4.4 Variabel Penelitian

4.4.1 Variabel Bebas

Pada penelitian ini yang berperan sebagai variabel bebas adalah ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dengan beberapa konsentrasi yang



diuji yaitu 0% (sebagai kontrol negatif), 0.1%, 0.2%, 0.3% 0.4% 0.5% 0.6% dan *Fluconazole* dengan konsentrasi 0.6% (sebagai kontrol positif).

4.4.2 Variabel Tergantung

Pada penelitian ini yang berperan sebagai variabel tergantung adalah pertumbuhan *Candida albicans* yang akan diinterpretasi berdasarkan jumlah koloni, ketebalan koloni dan diameter koloni.

4.5 Jumlah Pengulangan

Jumlah pengulangan dalam penelitian ini dihitung dengan rumus Faderer yaitu:

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

Keterangan :

t = jumlah kelompok perlakuan

n = jumlah sampel

Penelitian ini menggunakan 6 macam dosis yang berbeda, serta 2 kontrol jamur. Maka memiliki total 8 dosis perlakuan. Jumlah sampel yang didapatkan sebagai berikut :

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

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

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

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14 = 4$$

Keterangan : n = jumlah pengulangan

p = jumlah percobaan

Dengan demikian, maka banyaknya pengulangan sampel jamur *Candida albicans* yang diperlukan dalam penelitian ini adalah 4 kali pengulangan.

4.6 Definisi Operasional



Tabel 1. Definisi Operasional

Variabel	Definisi Operasional	Cara Ukur	Alat ukur	Hasil Ukur	Skala ukur
Ekstrak Etanol Daun Cengkeh	hasil ekstraksi 200 gram simplisia daun cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>) menggunakan 6 liter etanol 96%.	Melakukan penimbangan berat sediaan ekstrak etanol daun cengkeh	Neraca analitik digital	Pada penimbangan berat sediaan ekstrak etanol daun cengkeh menunjukkan berat bersih 34 gram	Skala rasio
Pertumbuhan <i>Candida albicans</i>	Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> merupakan <i>Candida albicans</i> yang tumbuh <i>visible</i> di media SDA yang akan diinterpretasi berdasarkan tiga indikator pertumbuhan yaitu jumlah koloni,	Melakukan perhitungan jumlah koloni <i>Candida albicans</i> pada setiap area pengulangan di masing-masing <i>plate</i> .	<i>Colony counter</i>	Didapatkan jumlah koloni pada setiap area pengulangan di masing-masing <i>plate</i> .	Skala rasio
		Melakukan analisa intensitas ketebalan koloni <i>Candida albicans</i>	<i>Adobe Photoshop CS5</i>	Hasil pengamatan ketebalan koloni diinterpretasi dengan menggunakan analisis <i>Mean Grey Value</i> dengan klasifikasi	Skala rasio



ketebalan koloni dan diameter koloni.

pada setiap area pengulangan di masing-masing plate.

skor sebagai berikut :

Skala rasio

0 = tidak terdapat pertumbuhan koloni dengan *Mean Grey Value*

0 – 70,90.

+1 = koloni jamur sangat tipis dan hampir tidak terlihat dengan *Mean Grey Value* 71,91 – 103,01.

+2 = koloni jamur tipis dengan *Mean Grey Value* 119,28 – 127,16.

+3 = koloni jamur tebal *Mean Grey Value* 149,50 – 159,87.

+4 = koloni jamur sangat tebal dengan *Mean Grey Value* 210,25 – 229,18 (Aboulela et al., 2005).



Melakukan
pengukuran

diameter koloni

Candida albicans
pada setiap area
pengulangan di
masing-masing
plate.

Jangka
sorong

Didapatkan diameter koloni
dengan satuan mm

Skala rasio



4.7 Alat dan Bahan Penelitian

4.7.1 Alat dan Bahan Pembuatan Ekstrak daun Cengkeh

Alat-alat yang dibutuhkan dalam Pembuatan Ekstrak daun Cengkeh :

- 1) Oven
- 2) Toples tertutup.
- 3) Corong gelas
- 4) Timbangan analitik
- 5) Gelas ukur
- 6) Botol steril hasil ekstrak
- 7) Gelas Erlenmeyer
- 8) Pendingin
- 9) *Beaker glass*
- 10) *Shaker digital*
- 11) *Water bath*
- 12) Kertas saring
- 13) Rak tabung
- 14) Evaporator
- 15) Labu penampung Etanol

Bahan-bahan yang dibutuhkan dalam Pembuatan Ekstrak daun Cengkeh:

- 1) Simplisia daun cengkeh yang telah dihaluskan
- 2) Larutan etanol 96%

4.7.2 Alat dan Bahan Identifikasi *Candida albicans*

Alat-alat yang dibutuhkan untuk Identifikasi *Candida albicans* :

- 1) Mikroskop



- 2) Bunsen
- 3) Colony counter
- 4) Object glass
- 5) Ose
- 6) Tabung reaksi
- 7) Gelas penutup
- 8) Kartu vitek (ID-GN, ID-GP, AST-GN 66, AST-GP 67)
- 9) Pipet
- 10) Stopwatch
- 11) Tabung polystyrene
- 12) Monitor warna
- 13) PC observasi
- 14) Mesin pencetak
- 15) Densicheck plus
- 16) Kalibrator Densicheck plus
- 17) Uninterruptible Power Supply (UPS).

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk Identifikasi *Candida albicans* :

- 1) Satu isolat *Candida albicans* dengan kepadatan 10^6 CFU/ml yang kemudian diencerkan 100 kali hingga kepadatan menjadi 10^4 CFU/ml.
- 2) Aquades steril
- 3) Saboraud Dextrose Agar (SDA)
- 4) NaCl
- 5) Kristal violet
- 6) Lugol
- 7) Alkohol 96%



- 8) Safranin
- 9) Air
- 10) Minyak imersi
- 11) Reagen KOH
- 12) Aseton
- 13) Serum mamalia
- 14) Saline steril 0,45%,

4.7.3 Alat dan Bahan Dilusi Agar

Alat-alat yang dibutuhkan untuk Uji Efektivitas dengan metode Dilusi

Agar :

- 1) *Plate*
- 2) Pipet steril
- 3) Inkubator
- 4) *Vortex*
- 5) Ose
- 6) Bunsen
- 7) Mikropipet

Bahan-bahan yang dibutuhkan untuk Uji Efektivitas dengan metode

Dilusi Agar :

- 1) Ekstrak etanol daun cengkeh
- 2) *Saboraud Dextrose Agar*
- 3) *Fluconazole*
- 4) *Candida albicans*



4.8 Prosedur Penelitian

4.8.1 Identifikasi *Candida albicans*

4.8.1.1 Pewarnaan Gram :

- 1) Bersihkan *object glass* dengan kapas dan sterilkan *object glass* dengan cara melewatkan sediaan di atas api untuk menghilangkan sisa-sisa lemak. Kemudian *object glass* dibiarkan dingin dan kering.
- 2) Ambil koloni jamur dengan menggunakan ose yang sebelumnya juga telah disterilkan. Letakkan koloni jamur di permukaan atas *object glass*. Buat sediaan jamur dengan ketebalan yang cukup (tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis). Biarkan sediaan menjadi kering. Untuk menfiksasi sediaan, lewatkan *object glass* di atas bunsen.
- 3) Tuangkan kristal violet pada sediaan dan diamkan selama 1 menit. Kemudian bilas dengan air mengalir.
- 4) Tuangkan larutan lugol pada sediaan dan diamkan selama 1 menit. Kemudian bilas dengan air mengalir.
- 5) Tuangkan alkohol 96% pada sediaan dan diamkan selama 10 detik. Kemudian bilas dengan air mengalir.
- 6) Tuangkan safranin pada sediaan dan diamkan selama 10 detik. Kemudian bilas dengan air mengalir.
- 7) Keringkan sediaan dengan kertas penghisap.
- 8) Tetesi sediaan dengan minyak imersi.
- 9) Amati sediaan dengan menggunakan mikroskop dengan pembesaran 100x-400x. Didapatkan hasil positif jika ditemukan *budding cell* berbentuk oval dan bersifat Gram positif yang ditandai dengan koloni berwarna ungu.



4.8.1.2 Penanaman pada Media Agar

- 1) Siapkan 1 buah *plate* berisi medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA).
- 2) Ambil koloni jamur dengan menggunakan ose yang sebelumnya telah disterilkan kemudian lakukan *streaking* pada permukaan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) secara merata.
- 3) Letakkan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) pada inkubator yang diatur dengan suhu 37°C kemudian inkubasi selama 24 jam.
- 4) Setelah 24 jam, keluarkan media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dari inkubator.
- 5) Lakukan pengamatan pada koloni jamur yang tumbuh.
- 6) Didapatkan hasil positif jika terbentuk koloni dengan permukaan halus, berwarna krem kekuningan dengan bau khas seperti ragi.

4.8.1.3 Tes Germinating Tube

- 1) Sediakan tabung yang telah diisi dengan 0.5 ml serum mamalia.
- 2) Ambil koloni *Candida albicans* yang telah dibiakkan pada media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dengan menggunakan ose yang sebelumnya telah disterilkan.
- 3) Masukkan koloni *Candida albicans* pada tabung yang berisi serum mamalia.
- 4) Letakkan tabung pada inkubator yang diatur dengan suhu 37°C kemudian inkubasi selama 3-4 jam. Sediaan yang telah diinkubasi, diambil menggunakan ose dan diletakkan pada *object glass* untuk dapat diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 40 kali.
- 5) Didapatkan hasil positif jika terlihat *germinating tube* yang berbentuk bulat lonjong seperti tabung (Bhavan *et al.*, 2010).



4.8.1.4 Tes KOH

- 1) Spesimen diletakkan di atas gelas obyek. Spesimen dipusatkan dibagian tengah gelas obyek dengan ketebalan cukup (tidak terlalu tebal dan tidak terlalu tipis).
- 2) Teteskan KOH di atas spesimen yang telah disiapkan di atas gelas obyek.
- 3) Tutup gelas obyek dengan gelas penutup.
Panaskan *slide* tersebut dan hindari pemanasan yang berlebihan (jangan sampai menguap karena dapat membentuk artefak).
- 4) Periksa dibawah mikroskop dengan pembesaran 40 kali (Budimulja, 2011).

4.8.1.5 Uji VITEK

Persiapan Alat :

- 1) Hidupkan sistem VITEK 2 dengan menekan tombol ON pada conditioner, tombol ON pada conditioner, *Uninterruptible Power Supply* (UPS), instrumen VITEK 2 dan PC observasi.
- 2) Masukkan username dan password.
- 3) Selama beberapa menit awal, instrumen yang dinyalakan akan berada pada status Warming. Tunggu beberapa menit hingga status instrumen menunjukkan *Ready to Use*

Persiapan Sampel :

- 1) Siapkan 2 isolat koloni jamur yang telah diinokulasi di dalam tabung.
- 2) Siapkan 2 tabung yang diisi dengan 3 ml larutan NaCl 0,45% dengan pH 5,0.
- 3) Homogenisasikan suspensi larutan NaCl dan koloni jamur.



Untuk Mengukur ketepatan inokulum dilakukan dengan menggunakan alat Densicheck dengan cara :

- 1) Tabung inokulum yang akan diukur, dibersihkan terlebih dahulu pada bagian luarnya dengan menggunakan *tissue*.
- 2) Masukkan tabung ke lubang pengukuran pada Densicheck dan putar 360° selama 2 detik.
Angka hasil pengukuran akan muncul dalam satuan Mc Farland. Bakteri Gram Negatif dan Positif = 0.5 – 0.63 Mc Farland. Sedangkan untuk Jamur = 1.8 – 2.2 McFarland.
- 3) Jika kekeruhan kurang maka tambahkan koloni jamur.
- 4) Jika kekeruhan berlebih maka ambil sejumlah volume inokulum dan encerkan dengan menambahkan larutan NaCl.
- 5) Untuk tes sensitivitas antibiotik ambil 145 µl untuk bakteri gram negatif atau 280 µl untuk bakteri gram positif dari tabung inokulum pertama ke tabung kedua dengan menggunakan mikropipet dan tip yang steril. Susun tabung pertama untuk identifikasi kemudian tabung kedua untuk tes sensitivitas antibiotik pada *cassette*.
- 6) Letakkan kartu Vitek 2, sesuai dengan urutan untuk identifikasi dan untuk sensitivitas antibiotik (Kartu berwarna biru untuk identifikasi mikroorganisme dan kartu berwarna abu-abu untuk tes sensitivitas).

Memasukkan data :

- 1) Masukkan informasi pasien meliputi No. ID pasien, nama pasien, ID Laboratorium, Tipe Sampel).

Jika tipe design penelitian berbentuk *Post Test Entry* maka :



- 1) Cassette yang sudah berisi kartu dan inokulum dimasukkan langsung ke ruang pengisian dan ke inkubator.
- 2) Isi formulir cassette yang akan diperiksa.
- 3) Lengkapi data nomor cassette, jenis kartu yang dipakai, 6 angka terakhir barcode kartu dan ID laboratorium.
- 4) Tekan gambar cassette.
Perhatikan tulisan yang tercetak merah pada *navigation tree*, klik dan cocokkan data tipe kertu dan barcodenya, lengkapi informasi cassette yang belum terisi yaitu : Accessio Number = ID Laboratorium

- 5) Simpan dengan menekan gambar disket

Memasukkan ke Ruang Pengisian :

- 1) Masukkan cassette ke ruang pengisian.
- 2) Tekan "START FILL".
- 3) Pengisian akan memerlukan waktu beberapa menit.
- 4) Jika alarm berbunyi dan lampu inkubator berkedip-kedip maka cassette siap dipindahkan ke inkubator.

Memasukkan ke Inkubator :

- 1) Masukkan segera cassette ke inkubator Jika alarm berbunyi dan lampu inkubator berkedip-kedip maka cassette siap dikeluarkan dari inkubator.
- 2) Proses inkubasi akan berlangsung beberapa jam dan hasil akan terctak secara otomatis (Office of Pesticide Programs Microbiology Laboratory. 2016. Standard Operating Procedure for VITEK 2 Compact : Use, Maintenance and Quality Control Procedure).



4.8.1.6 Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans*

- 1) Koloni *Candida albicans* dipindahkan ke *plate* steril berisi medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dengan menggunakan ose yang sebelumnya telah disterilkan dengan cara pembakaran.
- 2) Kemudian *plate* steril berisi medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24-48 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengukuran kepadatan bakteri pada medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dengan menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 530 nm untuk mengetahui OD (*Optical Density*) dari suspensi *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) yang diuji. Nilai OD sebesar 0.1 setara dengan kepadatan bakteri sebesar 10⁶ CFU/ml (sesuai dengan standar Mc Farland) (Murray *et al.*, 1999). Untuk menggunakan kepadatan tersebut digunakan rumus berikut ini :

$$N_1 \times V_1 = N_2 \times V_2$$

Keterangan :

N₁ = hasil spektrofotometri

N₂ = OD (0.1 setara dengan 10⁶ CFU/ml)

V₁ = Volume bakteri yang ditambah pengencer

V₂ = volume suspensi bakteri uji (10 ml)

- 5) Untuk mendapatkan suspensi jamur dengan kepadatan 10⁴ CFU/ml dilakukan dengan cara mengambil 1 ml (dari tabung berisi koloni jamur dengan kepadatan 10⁶ CFU/ml) untuk dicampur dengan 9 ml NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi dengan kepadatan 10⁵ CFU/ml. Kemudian dilanjutkan lagi dengan mengambil 1 ml (dari tabung berisi koloni



jamur dengan kepadatan 10^5 CFU/ml) untuk dicampur dengan 9 ml NaCl 0,85% steril. Maka akan didapatkan suspensi dengan kepadatan 10^4 CFU/ml.

4.8.2 Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Cengkeh

Ekstrak daun cengkeh dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Dengan menggunakan pelarut etanol diharapkan zat-zat aktif dalam daun cengkeh seperti flavonoid, tanin, alkaloid, terpena, dan saponin dapat larut dengan baik.

4.8.2.1 Proses Pengeringan

- 1) Daun cengkeh di cuci sampai bersih.
- 2) Daun cengkeh yang sudah dicuci bersih, dipotong menjadi kecil-kecil.
- 3) Daun cengkeh yang sudah dipotong menjadi kecil-kecil dikeringkan dengan cara dioven dengan suhu 80°C atau dikeringkan dibawah panas matahari hingga bebas kandungan air.

4.8.2.2 Proses Ekstraksi

- 1) Daun cengkeh yang sudah kering, dihaluskan, ditimbang dengan menggunakan timbangan analitik sebanyak 200 gram.
- 2) Kemudian masukkan ke dalam gelas erlenmayer berukuran 2000 ml.
- 3) Rendam dengan etanol 96%.
- 4) Kemudian aduk sampai benar-benar tercampur (kurang lebih 30menit).
- 5) Campuran didiamkan selama 3×24 jam sampai mengendap.
- 6) Ekstrak cair kemudian disaring dengan menggunakan kertas penyaring.

4.8.2.3 Proses Evaporasi

- 1) Masukkan cairan dalam labu evaporasi berukuran 1 liter.



- 2) Pasang labu evaporasi pada evaporator.
- 3) Isi *water bath* dengan air sampai penuh.
- 4) Kemudian pasang semua rangkaian alat, termasuk *rotary evaporator*, pemanas *water bath* (atur suhu mencapai 90°C) kemudian sambungkan dengan aliran listrik.
- 5) Biarkan etanol menguap.
- 6) Tunggu proses berjalan sampai aliran etanol berhenti menetes pada labu penampung (kurang lebih 1.5 – 2 jam)
- 7) Hasil evaporasi dimasukkan dalam botol plastik atau kaca kemudian disimpan di dalam *freezer*.

4.9 Prosedur Penelitian Pendahuluan

Sebelum melakukan penelitian uji antifungi, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan dengan menggunakan metode dilusi agar. Uji pendahuluan digunakan untuk menentukan rentang konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh yang dapat menghambat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans*. Uji pendahuluan dilakukan dengan menggunakan enam konsentrasi yaitu 1%, 0.8%, 0.6%, 0.4%, 0.2% dan 0% sebagai kontrol. Keenam konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh tersebut akan dicampurkan dengan medium SDA. Selanjutnya diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah 24 jam, masing-masing *plate* ditetesi dengan suspensi jamur *Candida albicans* dengan konsentrasi 10^4 CFU/ml lalu disimpan pada inkubator pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah 24 jam diamati ada tidaknya pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada media SDA.



4.10 Prosedur Uji Antijamur

Uji antifungi ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan *Candida albicans* menggunakan metode dilusi agar. Besar konsentrasi ekstrak daun cengkeh yang digunakan adalah 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *Flukonazole* 0.6%. Langkah-langkah dalam menyiapkan dosis konsentrasi bahan uji adalah sebagai berikut:

- 1) Sebanyak delapan *plate* disediakan untuk masing-masing perlakuan dan diberi tanda sesuai konsentrasi yang digunakan yaitu 0% (kontrol negatif jamur), 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *Flukonazole* 0.6% (kontrol positif jamur).
- 2) *Plate* dengan konsentrasi 0% diisi dengan 10ml SDA cair.
- 3) *Plate* dengan konsentrasi 0.1% diisi dengan 9.99 ml SDA cair dan 0.01 ml ekstrak etanol daun cengkeh.
- 4) *Plate* dengan konsentrasi 0.2% diisi dengan 9.98 ml SDA cair dan 0.02 ml ekstrak etanol daun cengkeh.
- 5) *Plate* dengan konsentrasi 0.3% diisi dengan 9.97 ml SDA cair dan 0.03 ml ekstrak etanol daun cengkeh.
- 6) *Plate* dengan konsentrasi 0.4% diisi dengan 9.96 ml SDA cair dan 0.04 ml ekstrak etanol daun cengkeh.
- 7) *Plate* dengan konsentrasi 0.5% diisi dengan 9.95 ml SDA cair dan 0.05 ml ekstrak etanol daun cengkeh.
- 8) *Plate* dengan konsentrasi 0.6% diisi dengan 9.94 ml SDA cair dan 0.06 ml ekstrak etanol daun cengkeh.
- 9) *Plate* yang berisi *Flukonazole* dengan konsentrasi 0.6% diisi dengan 9.97 ml SDA cair dan 0.03 ml *Flukonazole*.



- 10) Semua *plate* dihomogenkan hingga SDA cair dan ekstrak daun cengkeh maupun *Flukonazole* tercampur dengan baik lalu didiamkan hingga campuran tersebut mengeras.
- 11) Semua *plate* yang telah mengeras diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- 12) Semua *plate* yang berisi campuran antara SDA dengan ekstrak daun cengkeh maupun flukonazole dibagi menjadi empat daerah dengan diberikan tanda garis dibagian luar *plate* sebagai tanda pengulangan.
- 13) Masing-masing *plate* diisi dengan suspensi *Candida albicans* 10⁴CFU/ml sebanyak 10 µl. Suspensi *Candida albicans* ditetaskan sebanyak empat kali pada masing-masing daerah yang telah dibagi dan diberikan tanda sebagai pengulangan.
- 14) Semua *plate* diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam.
- 15) Pengamatan dan penilaian pertumbuhan koloni jamur dilakukan pada masing-masing konsentrasi *plate* dengan cara menghitung jumlah koloni, mengamati ketebalan koloni, dan mengukur diameter koloni *Candida albicans*. Interpretasi ketebalan koloni dilakukan dengan menggunakan analisa *Mean Grey Value* dengan skor sebagai berikut :
 - a. 0 = tidak terdapat pertumbuhan koloni jamur dengan *Mean Grey Value* 0 – 71,90.
 - b. +1 = koloni jamur sangat tipis dan hampir tidak terlihat dengan *Mean Grey Value* 71,91 – 103,01.
 - c. +2 = koloni jamur tipis dengan *Mean Grey Value* 119,28 – 127,166.
 - d. +3 = koloni jamur tebal *Mean Grey Value* 149,50 – 159,87.



e. +4 = koloni jamur sangat tebal dengan *Mean Grey Value* 210,25 – 229,18 (Aboulela *et al.*, 2005).

4.11 Analisis Data

Untuk mengukur intensitas warna koloni jamur dilakukan analisis *Mean Grey Value* dengan menggunakan *Adobe Photoshop CS5*. Warna koloni yang terbentuk adalah putih kekuningan. *Mean Grey Value* dinyatakan dalam skala 0-255. Angka mendekati 0 menunjukkan kepekatan warna yang tinggi (hitam) yang menandakan bahwa koloni jamur yang terbentuk semakin tipis, sehingga terbaca warna media. Sedangkan angka mendekati 255 menunjukkan kepekatan warna yang rendah (putih) yang menandakan bahwa koloni jamur terbentuk semakin tebal (Aboulela *et al.*, 2005).

Langkah pertama dalam menganalisis data adalah melakukan uji normalitas. Ada dua macam uji normalitas yang dapat dilakukan yaitu uji *Kolmogorov-Sminov* atau *Shapiro-Wilk*. Uji *Kolmogorov-Sminov* digunakan untuk data yang lebih dari 50 sedangkan uji *Shapiro-Wilk* digunakan untuk data yang kurang dari 50. Selain diuji normalitas, sebelum dilakukan analisis statistik, data juga perlu dilakukan uji *Levene* untuk memastikan homogenitas data (variasi data homogen atau tidak). Setelah dilakukan uji normalitas dan homogenitas maka dapat ditentukan data yang dihasilkan berupa data yang dapat diuji dengan analisis parametrik atau analisis non parametrik. Apabila data terdistribusi normal dan homogen maka memenuhi syarat dilakukan uji parametrik. Uji yang dilakukan untuk data parametrik meliputi :

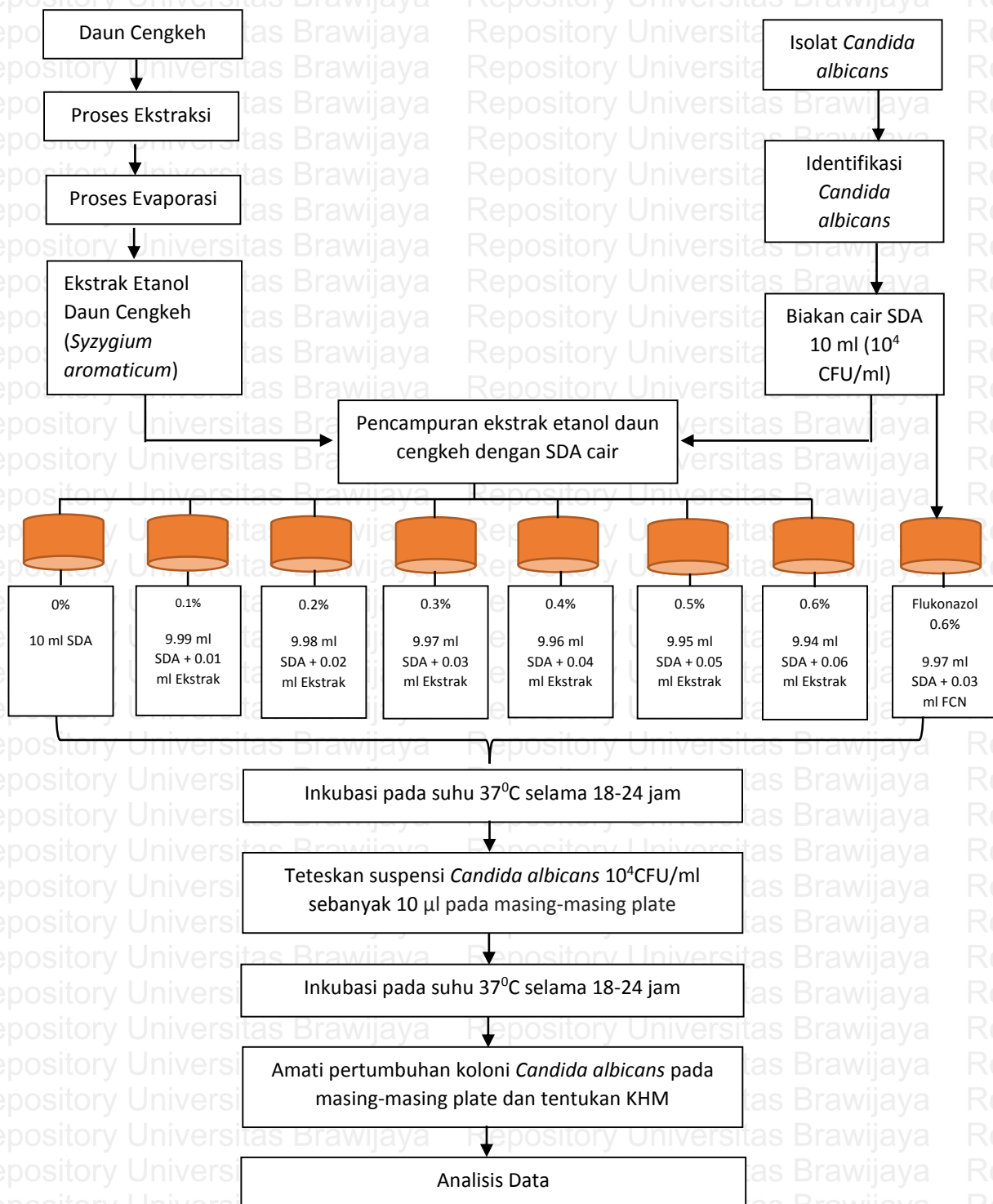
- 1) Uji *One Way ANOVA*, untuk melihat adanya perbedaan pertumbuhan *Candida albicans* pada variasi konsentrasi ekstrak etanol daun cemgkeh.



- 2) Uji Post Hoc *Tukey HSD*, untuk menganalisis perbedaan efektivitas masing-masing variasi ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.
- 3) Uji Korelasi *Pearson*, untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dan pertumbuhan *Candida albicans*.
- 4) Uji Regresi, untuk mengetahui derajat hubungan atau pengaruh ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.



4.12 Skema Penelitian





BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Penelitian

5.1.1 Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) dibuat dari 2 kilogram daun cengkeh yang dikeringkan dan dihaluskan hingga menjadi simplisia sebanyak 200 gram. Pembuatan ekstrak etanol daun cengkeh dilakukan dengan cara maserasi yaitu dengan merendam simplisia daun cengkeh yang telah halus dengan menggunakan pelarut etanol 96%. Hasil rendaman telah melalui proses evaporasi untuk menghilangkan larutan etanol hingga menghasilkan ekstrak etanol daun cengkeh sebanyak 34 gram. Ekstrak etanol daun cengkeh memiliki warna hitam pekat. Hasil ekstraksi dapat diamati pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Ekstrak Etanol Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum*)

5.1.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Cengkeh

Uji fitokimia merupakan uji yang dilakukan untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang memiliki aktivitas biologi dari suatu sampel tanaman. Sampel yang diambil akan ditambahkan dengan reagen yang sesuai dengan



senyawa yang akan diidentifikasi. Uji fitokimia pada penelitian ini dilakukan di Materia Medika Batu Malang yang bertujuan untuk memastikan bahwa ekstrak etanol daun cengkeh mengandung flavonoid, alkaloid, tanin, terpenoid, dan saponnin. Hasil uji fitokimia pada ekstrak etanol daun cengkeh adalah sebagai berikut:

Tabel 2. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Cengkeh

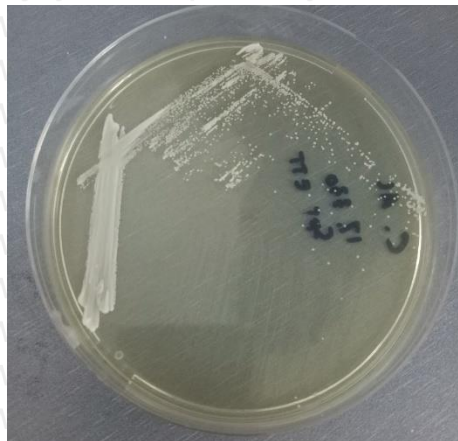
No.	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Cokelat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif

5.1.3 Identifikasi *Candida albicans*

5.1.3.1 Identifikasi *Candida albicans* dengan Pembiakan Koloni pada medium Saboraud Dextrose Agar (SDA)

Candida albicans dibiakkan dengan metode *streaking* pada medium Saboraud Dextrose Agar (SDA). Setelah di *streaking* pada medium SDA, medium SDA diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Cara identifikasi koloni *Candida albicans* pada medium SDA adalah dengan mengamati koloni yang tumbuh setelah proses inkubasi selama 18-24 jam. Hasil pengamatan

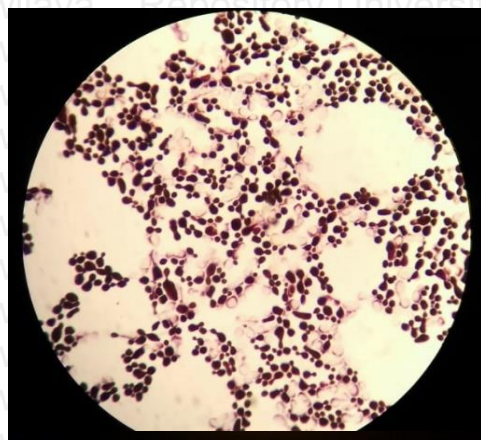
yang ditemukan adalah adanya koloni berbentuk bulat, permukaannya cembung dan licin, berwarna krem dengan bau khas seperti ragi. Hasil pertumbuhan koloni *Candida albicans* dapat diamati pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Hasil Identifikasi *Candida albicans* pada medium SDA

5.1.3.2 Identifikasi *Candida albicans* dengan Pewarnaan Gram

Proses identifikasi dilakukan setelah suspensi *Candida albicans* melalui beberapa tahapan pewarnaan. Hasil akhir pewarnaan diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa obyektif 100 kali. Hasil pengamatan yang ditemukan adalah jamur berbentuk bulat, oval dan berwarna ungu. Warna ungu mengindikasikan bahwa jamur termasuk Gram positif. Hasil identifikasi ini dapat dilihat di Gambar 5.3.

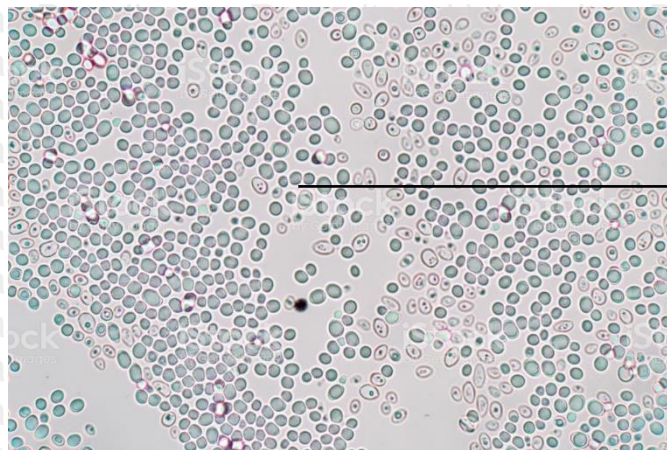


Gambar 5.3 Hasil Identifikasi *Candida albicans* pada pewarnaan Gram



5.1.3.3 Identifikasi *Candida albicans* dengan Uji KOH

Kalium Hidroksida (KOH) yang digunakan pada uji KOH bersifat alkalis sehingga dapat menyebabkan penghancuran *corneocyte cell*. Dengan penghancuran pada *corneocyte cell* maka akan memungkinkan untuk dapat mengidentifikasi struktur *exogenous non protein* seperti *budding cell* dan pseudohifa. Hasil pengamatan yang didapatkan dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40 kali adalah bentukan *budding cell* saja. Hasil identifikasi KOH dapat diamati pada Gambar 5.4.



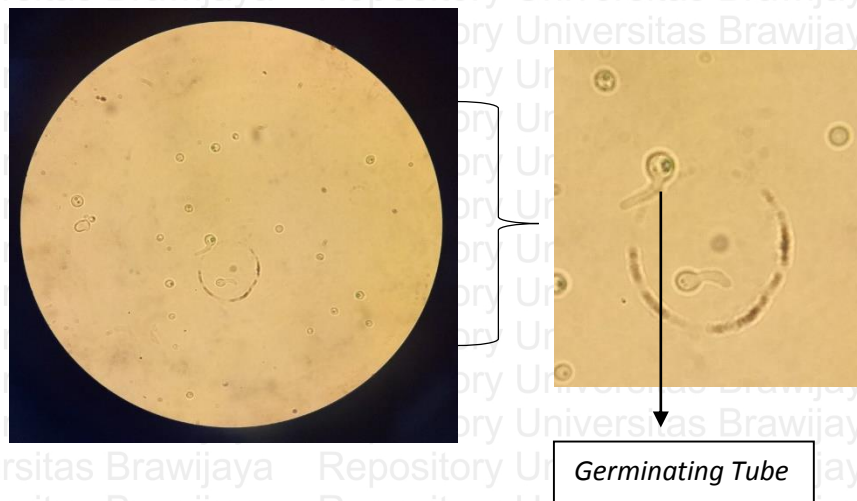
Budding cell

Gambar 5.4 Hasil Identifikasi *Candida albicans* pada Uji KOH

5.1.3.4 Identifikasi *Candida albicans* dengan Germinating Tube Test

Proses identifikasi *Candida albicans* juga dilakukan dengan *germinating tube test*. Pengamatan hasil *germinating tube test* dilakukan dengan menggunakan mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40 kali. Pada pengamatan yang dilakukan ditemukan adanya *germ tube*. *Germ tube* merupakan struktur yang memanjang pada salah satu sisi yeast akibat pelepasan spora jamur. Selanjutnya *germ tube* akan berdiferensiasi, tumbuh

dan bermitosis untuk membentuk hifa. Hasil identifikasi jamur dengan uji *germinating tube* dapat dilihat di Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Hasil Identifikasi *Candida albicans* dengan *Germinating Tube Test*

5.1.4 Uji Antijamur

5.1.4.1 Hasil Uji Pendahuluan

Studi pendahuluan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan metode dilusi agar dengan konsentrasi ekstrak 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1% dan 0% (sebagai kontrol negatif). *Candida albicans* yang digunakan merupakan *Candida albicans* dari hasil swab penderita vaginitis. Pada konsentrasi 6%, 5%, 4%, 3%, 2%, 1%, 0%, pertumbuhan jamur hanya terlihat di konsentrasi 0%. Sehingga belum dapat ditentukan nilai KHM.

Alternatif yang digunakan untuk mengetahui nilai KHM adalah dengan melakukan studi pendahuluan ulang dengan memperkecil konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh. Konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh yang digunakan pada studi pendahuluan kedua adalah 1 %, 0.8%, 0.6%, 0.4%, 0.2%,

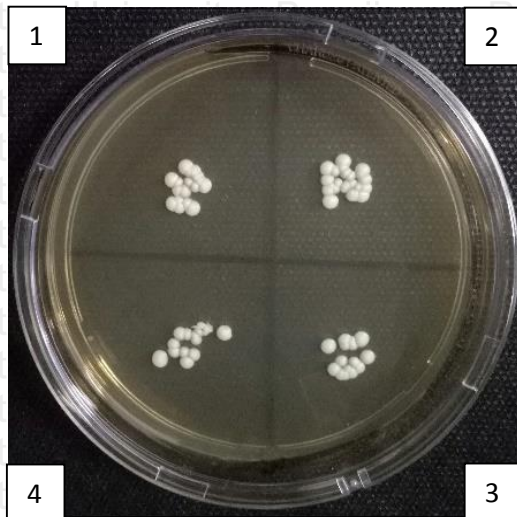


dan 0% (sebagai kontrol negatif). Hasil studi pendahuluan kedua menunjukkan bahwa tidak ada pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* pada konsentrasi ekstrak 0.6%.

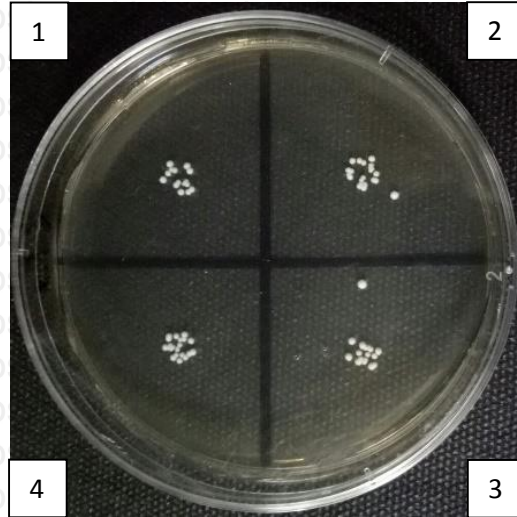
5.1.4.2 Hasil Penelitian

Berdasarkan nilai KHM yang telah diketahui pada studi pendahuluan, maka penelitian untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan konsentrasi 0%, 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *fluconazole* 0.6% (sebagai kontrol positif). Hasil pengamatan dapat diamati pada gambar 5.6.

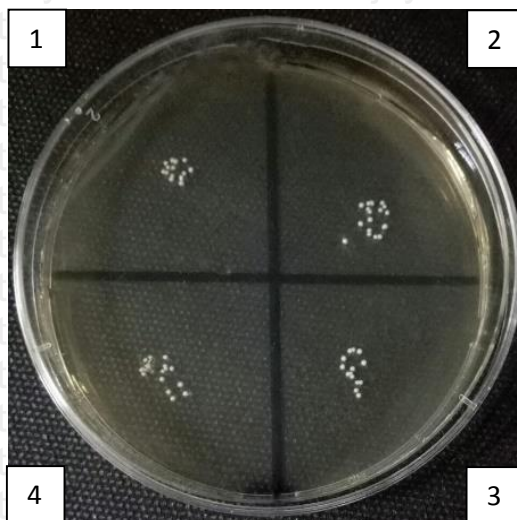
Gambar 5.6 menunjukkan bahwa pertumbuhan koloni *Candida albicans* terlihat semakin tipis, diameter koloni semakin mengecil dan jumlah koloni semakin sedikit seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh. Pertumbuhan koloni *Candida albicans* tidak terlihat pada konsentrasi ekstrak 0.6%. Penilaian KHM dilakukan dengan melihat konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Sehingga dapat disimpulkan bahwa konsentrasi ekstrak yang memiliki skor nol diseluruh pengulangan ditetapkan sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM).



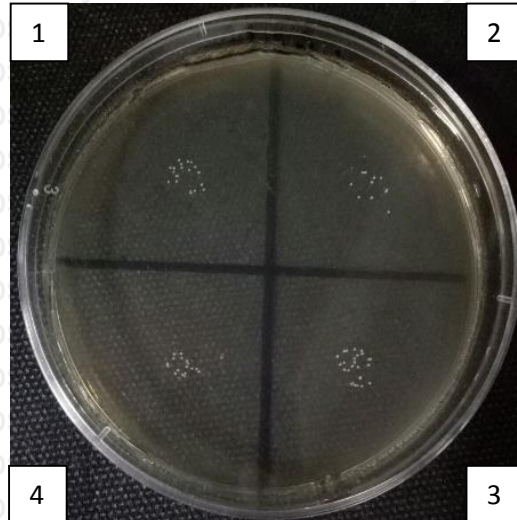
A. Konsentrasi Ekstrak 0%



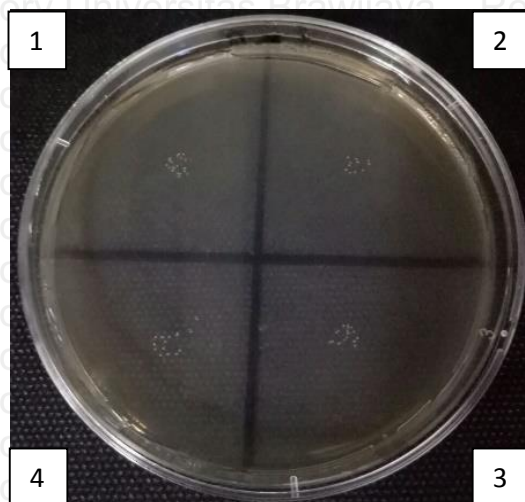
B. Konsentrasi Ekstrak 0.1%



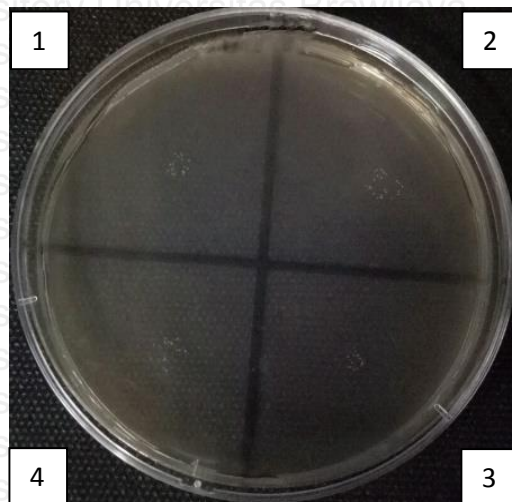
C. Konsentrasi Ekstrak 0.2%



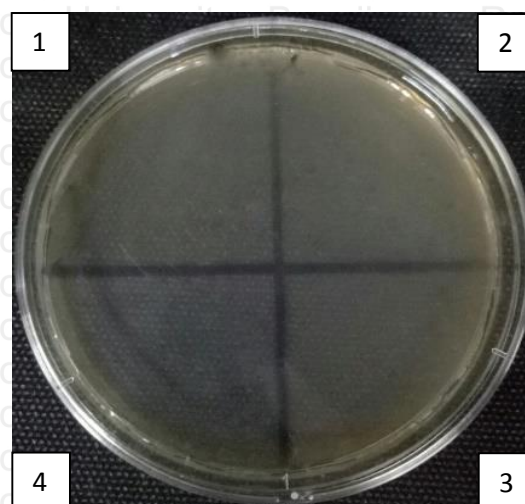
D. Konsentrasi Ekstrak 0.3%



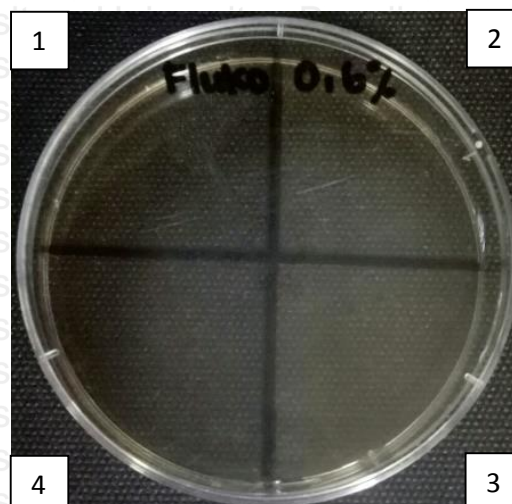
E. Konsentrasi Ekstrak 0.4%



F. Konsentrasi Ekstrak 0.5%



G. Konsentrasi Ekstrak 0.6%



H. Fluconazole 0.6%

Gambar 5.6 Pertumbuhan *Candida albicans* pada medium SDA setelah pemberian berbagai perlakuan.

Keterangan:

- 1 : Pengulangan 1
- 2 : Pengulangan 2
- 3 : Pengulangan 3
- 4 : Pengulangan 4



Interpretasi pertumbuhan *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan tiga cara yaitu menghitung jumlah koloni *Candida albicans* dengan menggunakan *colony counter*, menganalisis ketebalan koloni *Candida albicans* berdasarkan *Mean grey Value* serta mengukur diameter koloni *Candida albicans* dengan menggunakan jangka sorong di masing-masing konsentrasi ekstrak.

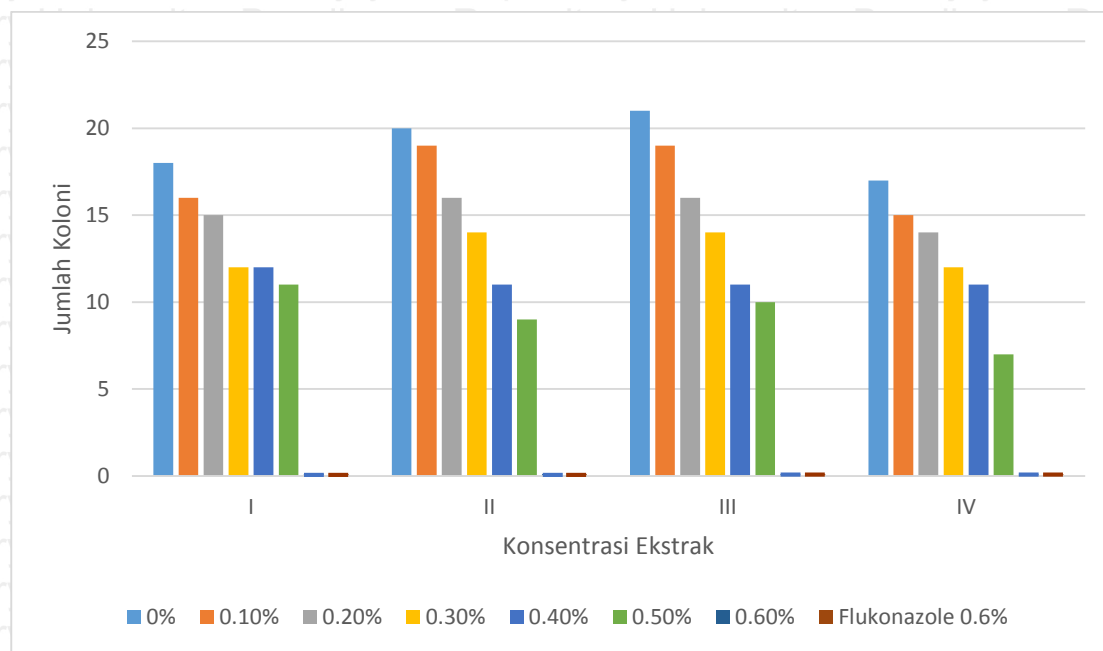
Untuk mengurangi subjektivitas dan bias pada saat pengamatan ketebalan koloni sebelum dianalisis, pengamatan ketebalan koloni *Candida albicans*, melibatkan tiga orang pengamat yang terdiri dari peneliti, peneliti lain dan analis Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Hasil perhitungan jumlah koloni, ketebalan koloni dan diameter koloni *Candida albicans* dapat diamati pada Tabel 3 hingga Tabel 6.

Tabel 3. Hasil Perhitungan Koloni *Candida albicans* dengan menggunakan *Colony counter* setelah pemberian Ekstrak Etanol Daun Cengkeh.

Konsentrasi Ekstrak (%)	Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i>				Rerata Jumlah Koloni
	Pengulangan				
	I	II	III	IV	
0%	18	20	21	17	19
0.1%	16	19	19	15	17.25
0.2%	15	16	16	14	15.25
0.3%	12	14	14	12	13
0.4%	12	11	11	11	11.25
0.5%	11	9	10	7	9.25
0.6%	0	0	0	0	0
Fluconazole 0.6%	0	0	0	0	0

Grafik 1. Hasil Perhitungan Jumlah Koloni *Candida albicans* dengan menggunakan Colony counter setelah pemberian Ekstrak Etanol Daun Cengkeh



Tabel 4. Hasil Skoring dari Pengamatan Ketebalan Koloni *Candida albicans* setelah pemberian Ekstrak Etanol Daun Cengkeh

Konsentrasi Ekstrak (%)	Ketebalan Koloni <i>Candida albicans</i>				Rerata Skor
	Pengulangan				
	I	II	III	IV	
0%	+4	+4	+4	+4	+4
0.1%	+3	+3	+3	+3	+3
0.2%	+3	+3	+3	+3	+3
0.3%	+2	+2	+2	+2	+2
0.4%	+2	+2	+2	+2	+2
0.5%	+1	+1	+1	+1	+1
0.6%	0	0	0	0	0

78

<i>Fluconazole</i>	0	0	0	0	0
0.6%					

Tabel 5. Hasil Perhitungan *Mean Gray Value* dengan aplikasi Adobe Photoshop

CS5

Konsentrasi Ekstrak 0%	Pengulangan				Rata-rata
	1	2	3	4	
0%	224.53	226.86	225.36	224.93	225.42
0.1%	158.62	158.98	158.75	158.93	158.82
0.2%	156.16	156.90	155.86	156.76	156.42
0.3%	126.81	125.64	124.21	125.11	125.44
0.4%	123.61	123.52	123.98	123.45	123.64
0.5%	102.98	102.61	102.96	102.42	102.74
0.6%	70.41	68.45	70.48	70.82	70.04
<i>Fluconazole</i> 0.6%	69.73	68.86	68.53	68.61	68.93

Keterangan :

0 = tidak terdapat pertumbuhan koloni dengan *Mean Gray Value* 0 – 71.90.

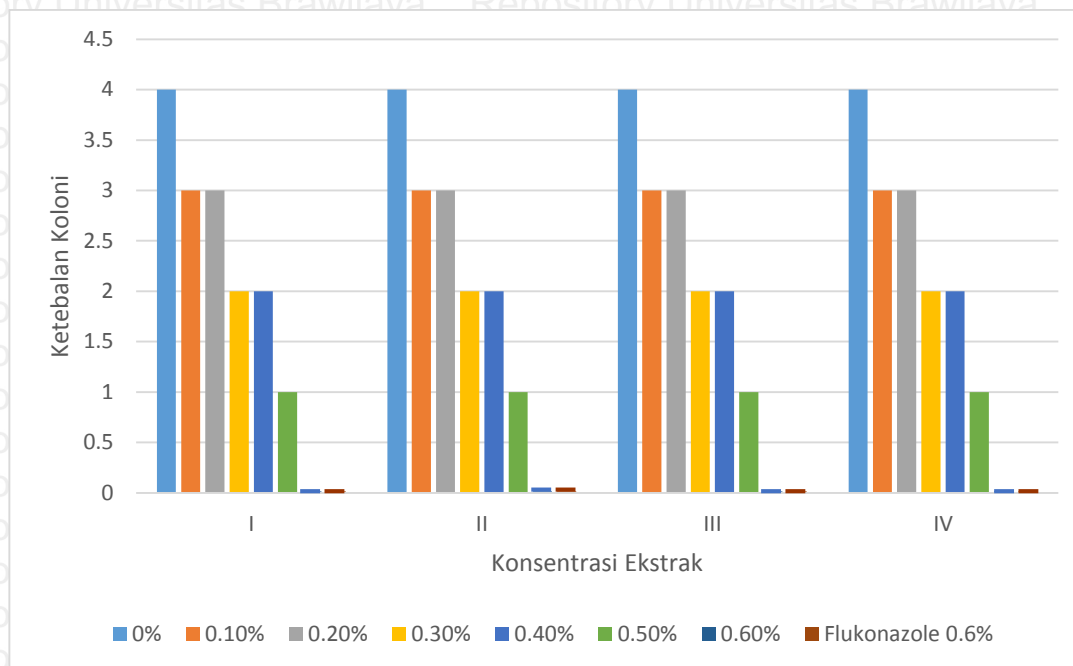
+1 = terdapat pertumbuhan koloni jamur yang sangat tipis dengan *Mean Gray Value* 71.91 – 103,01

+2 = koloni jamur tipis dengan *Mean Gray Value* 119,28 – 127,87.

+3 = koloni jamur tebal dengan *Mean Gray Value* 149,50 – 159,87.

+4 = koloni jamur sangat tebal dengan *Mean Gray Value* 210,25 – 229,18.

Grafik 2. Hasil Analisis Ketebalan koloni *Candida albicans* dengan menggunakan Mean Gray Value

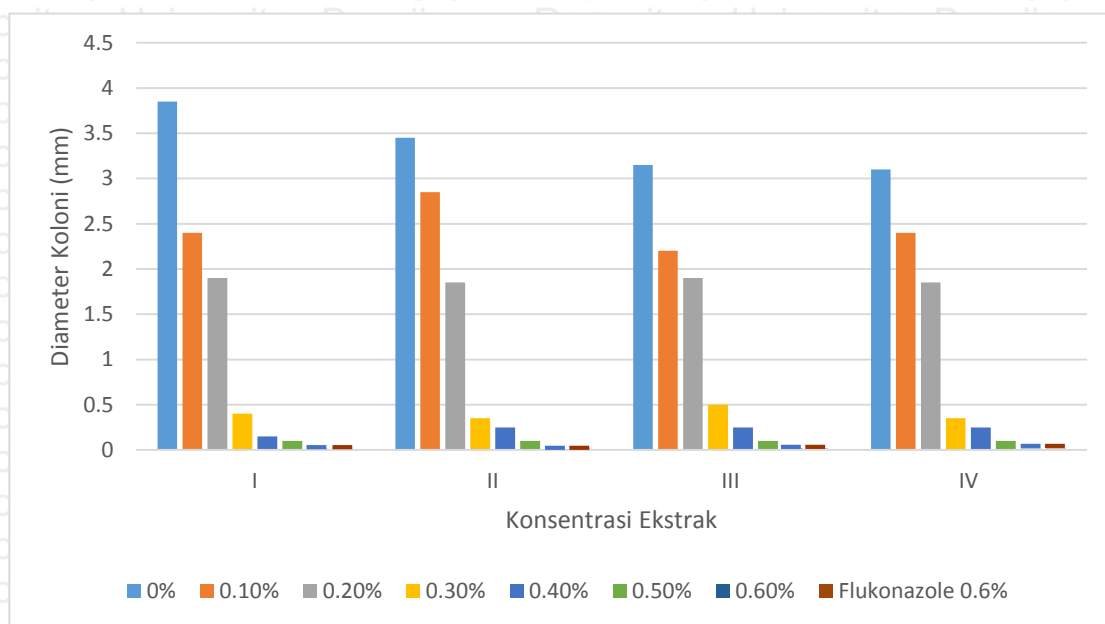


Tabel 6. Hasil Pengukuran Diameter Koloni *Candida albicans* dengan menggunakan Jangka Sorong setelah pemberian Ekstrak etanol Daun Cengkeh

Konsentrasi Ekstrak (%)	Diameter Koloni <i>Candida albicans</i> (mm)				Rerata Diameter (mm)
	Pengulangan				
	I	II	III	IV	
0%	3.85	3.45	3.15	3.1	3.4
0.1%	2.4	2.85	2.2	2.4	2.5
0.2%	1.9	1.85	1.9	1.85	1.9
0.3%	0.4	0.35	0.5	0.35	1.6

	0.4%	0.15	0.25	0.25	0.25	0.2	80
	0.5%	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	
	0.6%	0	0	0	0	0	
<i>Fluconazole</i> 0.6%	0	0	0	0	0	0	

Grafik 3. Hasil Pengukuran Diameter Koloni *Candida albicans* setelah pemberian Ekstrak etanol Daun Cengkeh





5.2 Analisis Data

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efektivitas ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* dengan menggunakan metode dilusi agar. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*). Sedangkan variabel tergantung dalam penelitian ini adalah pertumbuhan koloni *Candida albicans* yang akan diinterpretasi berdasarkan jumlah koloni, ketebalan koloni dan diameter koloni. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, data yang didapatkan berupa parametrik. Data parametrik akan dianalisis dengan uji *One Way ANOVA*, *Post Hoc Test*, Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi.

5.2.1 Analisis Data Berdasarkan Jumlah Koloni *Candida albicans*

5.2.1.1 Uji Normalitas

Langkah pertama dalam menganalisis data adalah melakukan uji normalitas. Karena data pada penelitian ini kurang dari 50 maka uji normalitas yang digunakan adalah uji *Shapiro-Wilk*. Data dikatakan terdistribusi normal jika nilai signifikansi lebih dari 0.05 ($p > 0.05$). Hasil analisis data dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan signifikansi $p = 0.324$, menandakan bahwa data terdistribusi normal. Sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji statistik parametrik yaitu Uji *One Way ANOVA*, *Post Hoc Test*, Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi. Hasil uji normalitas dapat diamati pada Tabel 7.



Tabel 7. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality						
	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Koloni	.137	32	.135	.963	32	.324

a. Lilliefors Significance Correction

5.2.1.2 Uji Homogenitas

Data dikatakan homogen atau memiliki varians sama apabila nilai signifikansi lebih dari 0.05 ($p > 0.05$). Data hasil uji homogenitas pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi 0.145, menandakan bahwa data pada penelitian ini memiliki varians sama atau homogen. Hasil uji homogenitas dapat diamati pada

Tabel 8.

Tabel 8. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Jumlah Koloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.811	6	21	.145

5.2.1.3 Uji One Way ANOVA

Uji *One Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan jumlah koloni *Candida albicans* setelah terpapar dengan ekstrak etanol daun cengkeh. Data hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi 0.000 yang berarti nilai signifikansi kurang dari 0.05 ($p < 0.05$). Hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada jumlah koloni *Candida albicans* setelah dipapar dengan ekstrak etanol daun cengkeh. Hasil uji *One Way ANOVA* dapat diamati pada Tabel 9.

Tabel 9. Hasil Uji One Way ANOVA

ANOVA					
Jumlah Koloni	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1476.500	7	210.929	129.802	.000
Within Groups	39.000	24	1.625		
Total	1515.500	31			

5.2.1.4 Uji Post Hoc Tukey (Multiple Comparison)

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparison*). Uji *Post Hoc Tukey* dilakukan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya perbedaan antar dua konsentrasi ekstrak. Hasil Uji *Post Hoc Tukey* dapat diamati pada Tabel 10.

Tabel 10. Hasil Uji Post Hoc Tukey

Jumlah Koloni							
Tukey HSD ^a							
Kelompok	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
0,60%	4	.00					
Kontrol	4	.00					
0,50%	4		9.25				
0,40%	4		11.25	11.25			
0,30%	4			13.00	13.00		
0,20%	4				15.25	15.25	
0,10%	4					17.25	17.25
0%	4						19.00
Sig.		1.000	.376	.538	.244	.376	.538

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Pada tabel 10 dapat diketahui bahwa konsentrasi efektif ekstrak etanol daun cengkeh yang dapat menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* adalah konsentrasi 0.2%. Pada hasil uji *Post Hoc* juga dapat diketahui bahwa pasangan konsentrasi 0% dan 0.1% tidak memiliki perbedaan yang signifikan dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans*. Selain itu pasangan konsentrasi



0.1% dan 0.2%, konsentrasi 0.2% dan 0.3%, konsentrasi 0.3% dan 0.4%, konsentrasi 0.4% dan 0.5%, serta konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% masuk ke dalam subset yang sama yang artinya pasangan konsentrasi tersebut tidak memiliki perbedaan yang signifikan dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans*.

5.2.1.5 Uji Korelasi Pearson

Uji Korelasi Pearson dilakukan untuk mengetahui kekuatan atau keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Sebuah hubungan antar variabel dikatakan berkorelasi jika nilai korelasi lebih dari 0.5 ($R > 0.5$). Tanda (-) pada nilai R menyatakan adanya hubungan berbanding terbalik antar dua variabel. Berdasarkan data penelitian yang telah di uji dengan uji korelasi pearson, didapatkan nilai $R = -0.921$. Nilai $R = -0.921$ menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Hasil tersebut dapat diartikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh mengakibatkan penurunan jumlah koloni *Candida albicans*. Hasil uji korelasi pearson dapat diamati pada tabel 11.

Tabel 11. Hasil Uji Korelasi Pearson

Correlations

		Konsentrasi	Jumlah Koloni
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.921**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
Jumlah Koloni	Pearson Correlation	-.921**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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



5.2.1.6 Uji Regresi

Uji Regresi merupakan uji yang menyatakan besarnya derajat keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Hasil uji regresi didapatkan koefisien korelasi R square (r^2) sebesar 0.847. Hal ini menunjukkan bahwa keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans* sebesar 84.70% sedangkan sisanya sebesar 15.30% disebabkan oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Hasil Uji Regresi dapat diamati pada Tabel 12.

Tabel 12. Hasil Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.921 ^a	.847	.842	2.421

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

5.2.2 Analisis Data Berdasarkan Ketebalan Koloni *Candida albicans*

5.2.2.1 Uji Normalitas

Hasil analisis data dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan signifikansi 0.173, menandakan bahwa data terdistribusi normal. Sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji statistik parametrik yaitu Uji *One Way ANOVA*, *Post Hoc Test*, Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi. Hasil uji normalitas dapat diamati pada Tabel 13.

Tabel 13. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan Jamur	.152	32	.059	.953	32	.173

a. Lilliefors Significance Correction



5.2.2.2 Uji Homogenitas

Data hasil uji homogenitas pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi 0.082 ($p > 0.05$), menandakan bahwa data pada penelitian ini memiliki varians sama atau homogen. Hasil uji Homogenitas dapat diamati pada Tabel 14.

Tabel 14. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances

Ketebalan Jamur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,109	7	24	,082

5.2.2.3 Uji One Way ANOVA

Uji One Way ANOVA dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan ketebalan koloni *Candida albicans* setelah terpapar dengan ekstrak etanol daun cengkeh. Data hasil uji One Way ANOVA didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada ketebalan koloni *Candida albicans* setelah terpapar dengan ekstrak etanol daun cengkeh. Hasil uji One Way ANOVA dapat diamati pada Tabel 15.

Tabel 15. Hasil Uji One Way ANOVA

ANOVA

Ketebalan Jamur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75012,385	7	10716,055	21038,644	,000
Within Groups	12,224	24	,509		
Total	75024,610	31			

5.2.2.4 Uji Post Hoc Tukey (Multiple Comparison)

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparison*). Uji *Post Hoc* dilakukan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya perbedaan antar dua konsentrasi ekstrak. Hasil Uji *Post Hoc Tukey* dapat diamati pada Tabel 16.

Tabel 16. Hasil Uji Homogenous Subsets

Ketebalan Jamur

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
Fluconazole 0,6%	4	68,9325						
0,6%	4	70,0400						
0,5%	4		102,7425					
0,4%	4			123,6400				
0,3%	4				125,4425			
0,2%	4					156,4200		
0,1%	4						158,8200	
0%	4							225,4200
Sig.		,389	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Pada tabel 16 dapat diketahui bahwa kelompok konsentrasi 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% memiliki perbedaan signifikan dalam menurunkan ketebalan koloni *Candida albicans*. Hal ini ditandai dengan terpisahnya subset masing-masing konsentrasi 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%. Tetapi konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan ketebalan koloni *Candida albicans*. Hal ini ditandai dengan hasil analisis konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% masuk ke dalam subset yang sama.



5.2.2.5 Uji Korelasi Pearson

Uji Korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui kekuatan atau keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan ketebalan *Candida albicans*. Sebuah hubungan antar variabel dikatakan berkorelasi jika nilai korelasi lebih dari 0.5 ($R > 0.5$). Tanda negatif (-) pada nilai R menyatakan adanya hubungan berbanding terbalik antar dua variabel.

Tabel 17. Hasil Uji Korelasi Pearson

Correlations			
		Konsentrasi	Ketebalan Jamur
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-,954**
	Sig. (2-tailed)	,	,000
	N	28	28
Ketebalan Jamur	Pearson Correlation	-,954**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,
	N	28	28

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

Berdasarkan data penelitian yang telah di uji dengan uji korelasi *Pearson*, didapatkan nilai $R = -0.954$. Nilai $R = -0.954$ menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan ketebalan koloni *Candida albicans*. Hasil tersebut dapat diartikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh mengakibatkan penurunan ketebalan koloni *Candida albicans*.

5.2.2.6 Uji Regresi

Uji Regresi merupakan uji yang menyatakan besarnya derajat hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan ketebalan koloni *Candida*



albicans. Hasil uji regresi didapatkan koefisien korelasi R square (r^2) sebesar 0.911.

Hal ini menunjukkan bahwa keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan ketebalan koloni *Candida albicans* sebesar 91.10%.

Sedangkan sisanya sebesar 8.90% disebabkan oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Hasil Uji Regresi dapat diamati pada Tabel 18.

Tabel 18. Hasil Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.954 ^a	.911	.907	14,17211

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

5.2.3 Analisis data Berdasarkan Diameter Koloni *Candida albicans*

5.2.3.1 Uji Normalitas

Hasil analisis data dengan uji normalitas *Shapiro-Wilk* menunjukkan signifikansi $p = 0.704$, menandakan bahwa data terdistribusi normal. Sehingga uji statistik yang digunakan adalah uji statistik parametrik yaitu Uji *One Way ANOVA*, Uji *Post Hoc*, Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi. Hasil uji normalitas dapat diamati pada Tabel 19.

Tabel 19. Hasil Uji Normalitas

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Koloni	.083	32	.200*	.977	32	.704

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction



5.2.3.2 Uji Homogenitas

Data hasil uji homogenitas pada penelitian ini didapatkan nilai signifikansi 0.288 ($p > 0.05$), menandakan bahwa data pada penelitian ini memiliki varians sama atau homogen. Hasil uji Homogenitas dapat diamati pada Tabel 20.

Tabel 20. Hasil Uji Homogenitas

Test of Homogeneity of Variances			
Diameter Koloni			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.309	7	24	.288

5.2.3.3 Uji One Way ANOVA

Uji *One Way ANOVA* dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan diameter koloni *Candida albicans* setelah terpapar dengan ekstrak etanol daun cengkeh. Data hasil uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi 0.000 ($p < 0.05$) yang berarti bahwa terdapat perbedaan efektivitas antifungi ekstrak etanol daun cengkeh terhadap diameter koloni *Candida albicans*. Hasil uji *One Way ANOVA* dapat diamati pada Tabel 21.

Tabel 21. Hasil Uji One Way ANOVA

ANOVA					
Diameter Koloni					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.400	7	7.057	278.228	.000
Within Groups	.609	24	.025		
Total	50.009	31			



5.2.3.4 Uji Post Hoc Tukey (Multiple Comparison)

Uji *Post Hoc Tukey* merupakan uji perbandingan berganda (*multiple comparison*). Uji *Post Hoc* dilakukan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya perbedaan antar dua konsentrasi ekstrak. Hasil Uji *Post Hoc Tukey* dapat diamati pada Tabel 22.

Tabel 22. Hasil Uji Homogenous Subsets

Diameter Koloni						
Tukey HSD ^a						
Kelompok	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
0,60%	4	.0000				
Kontrol	4	.0000				
0,50%	4	.1000	.1000			
0,40%	4	.2250	.2250			
0,30%	4		.4000			
0,20%	4			1.8750		
0,10%	4				2.4625	
0%	4					3.3875
Sig.		.503	.182	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Pada tabel 22 dapat diketahui bahwa kelompok konsentrasi 0%, 0.1% dan 0.2% memiliki perbedaan rata-rata yang signifikan antara satu dengan yang lain. Hal ini digambarkan pada jumlah koloni yang mendapat paparan konsentrasi 0%, 0.1% dan 0.2% masuk ke dalam subset yang berbeda. Sedangkan pada pasangan konsentrasi 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *fluconazole* 0.6% tidak memiliki perbedaan yang signifikan. Hal ini digambarkan pada jumlah koloni yang mendapat paparan konsentrasi 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *fluconazole* 0.6% masuk ke dalam subset yang sama. Selain itu dapat diketahui bahwa konsentrasi



efektif dalam menurunkan diameter koloni *Candida albicans* adalah konsentrasi 0.1%.

5.2.3.5 Uji Korelasi Pearson

Uji Korelasi *Pearson* dilakukan untuk mengetahui kekuatan atau keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan diameter *Candida albicans*. Sebuah hubungan antar variabel dikatakan berkorelasi jika nilai korelasi lebih dari 0.5 ($R > 0.5$). Tanda negatif (-) pada nilai R menyatakan adanya hubungan berbanding terbalik antar dua variabel.

Tabel 23. Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Correlations			
		Konsentrasi	Diameter Koloni
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.933**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
Diameter Koloni	Pearson Correlation	-.933**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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

Berdasarkan data penelitian yang telah di uji dengan uji korelasi pearson, didapatkan nilai $R = -0.933$. Nilai $R = -0.933$ menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Hasil tersebut dapat diartikan bahwa peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh mengakibatkan penurunan diameter koloni *Candida albicans*.

5.2.3.6 Uji Regresi

Uji Regresi merupakan uji yang menyatakan besarnya derajat hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan diameter koloni *Candida*



albicans. Hasil uji regresi didapatkan koefisien korelasi R square (r^2) sebesar 0.870.

Hal ini menunjukkan bahwa keeratan hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan diameter koloni *Candida albicans* sebesar 87%. Sedangkan sisanya sebesar 13% disebabkan oleh variabel-variabel lain yang tidak diketahui. Hasil Uji Regresi dapat diamati pada Tabel 24.

Tabel 24. Hasil Uji Regresi

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.933 ^a	.870	.865	.47388

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi



BAB VI

PEMBAHASAN

6.1 Hasil Identifikasi *Candida albicans*

6.1.1 Identifikasi *Candida albicans* dengan Pembiakan Koloni pada Medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)

Hasil pengamatan koloni *Candida albicans* pada medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) menunjukkan adanya koloni berbentuk bulat, dengan permukaan cembung dan licin, berwarna krem dengan bau khas seperti ragi. Hal ini sesuai dengan pernyataan Komariah (2012) yang menyatakan bahwa *Candida albicans* merupakan jamur yang pertumbuhannya cepat yaitu sekitar 24-72 jam dan *Candida albicans* dapat tumbuh dengan baik pada media kultur *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) yang diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam dengan membentuk koloni-koloni halus berbentuk bulat dan berwarna krem yang mempunyai aroma seperti ragi.

6.1.2 Identifikasi *Candida albicans* dengan Pewarnaan Gram

Hasil pengamatan koloni *Candida albicans* setelah dilakukan pewarnaan Gram adalah ditemukan bentukan jamur berbentuk bulat atau oval dan berwarna ungu. Sebelum pengamatan, dilakukan serangkaian proses pewarnaan dengan menggunakan larutan Kristal Violet, Lugol, Alkohol 96% dan Safranin. Warna ungu menandakan bahwa *Candida albicans* adalah kelompok Gram positif. Hal ini sesuai dengan pernyataan Tortora *et al* (2010) yang menyatakan bahwa mikroba kelompok gram positif akan mempertahankan zat warna metil ungu sewaktu proses pewarnaan Gram.



6.1.3 Identifikasi *Candida albicans* dengan Uji KOH

Hasil pengamatan di bawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x menunjukkan adanya bentukan *budding cell*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Budimulja (2011) yang menyatakan bahwa preparat basah *Candida albicans* yang ditetesi dengan Kalium Hidroksida (KOH) dapat ditemukan adanya bentukan *budding cell* dan atau pseudohifa. Tetapi pada pengamatan ini tidak ditemukan adanya pseudohifa.

6.1.4 Identifikasi *Candida albicans* dengan *Germinating Tube Test*

Hasil akhir dari prosedur *Germinating Tube Test* diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran lensa objektif 40x. Hasil pengamatan menunjukkan adanya *germ tube*. Hal ini sesuai dengan pernyataan Bhavan *et al* (2010) yang menyatakan bahwa pada pengamatan di bawah mikroskop, serangkaian proses *Germinating Tube Test* akan menunjukkan adanya bentukan *germ tube* yang merupakan struktur *yeast* yang memanjang di salah satu sisi *yeast* yang sepiintas akan terlihat bulat lonjong. *Germinating Tube Test* merupakan tes spesifik untuk *Candida albicans*, sehingga jika ditemukan adanya *germ tube* maka isolat jamur tersebut benar merupakan *Candida albicans*.

6.2 Uji Antifungi Ekstrak Etanol Daun Cengkeh terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Penelitian ini dilakukan untuk membuktikan hipotesis bahwa ekstrak etanol daun cengkeh memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans*. Metode yang digunakan adalah dilusi agar. Langkah pertama yang dilakukan adalah membuat media dengan cara melarutkan *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) dengan beberapa konsentrasi ekstrak. Konsentrasi ekstrak yang digunakan yaitu konsentrasi 0% (sebagai kontrol negatif), 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%



dan *Fluconazole* 0.6% (sebagai kontrol positif). Setelah terlarut dengan baik, dan media pada *plate* telah mengeras, media diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah di inkubasi, masing-masing *plate* ditetesi suspensi *Candida albicans* dengan kepadatan 10^4 CFU/ml. Setelah ditetesi dengan suspensi *Candida albicans*, *plate* kembali diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam. Setelah diinkubasi, dilakukan pengamatan pada *plate* untuk menentukan Kadar Hambat Minimal (KHM). Interpretasi pertumbuhan *Candida albicans* dilakukan dengan menggunakan tiga cara yaitu menghitung jumlah koloni *Candida albicans* dengan menggunakan *colony counter*, menganalisis ketebalan koloni *Candida albicans* dengan menggunakan *Adobe Photoshop CS5* serta mengukur diameter koloni *Candida albicans* dengan menggunakan jangka sorong. Selanjutnya diperoleh data hasil penelitian untuk dianalisis dengan uji statistik. Berdasarkan pengamatan pada hasil penelitian, dapat diketahui bahwa pertumbuhan *Candida albicans* terlihat semakin tipis, jumlah koloni semakin menurun dan diameter koloni semakin mengecil seiring peningkatan konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh.

Berdasarkan data hasil perhitungan **jumlah koloni** *Candida albicans* yang di analisis menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi 0.000 antara kelompok kontrol dan kelompok uji. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat efek antifungi yang bermakna pada pemberian ekstrak etanol daun cengkeh terhadap jumlah koloni *Candida albicans*.

Data hasil perhitungan jumlah koloni juga dianalisis dengan menggunakan uji *Post Hoc Tukey* yang berfungsi untuk menilai perbandingan ganda pada kelompok uji. Pada uji *Post Hoc Tukey* didapatkan hasil bahwa konsentrasi efektif yang dapat menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* adalah dimulai dari konsentrasi 0.2%. Pada konsentrasi 0.1% dan 0% tidak ada perbedaan bermakna



pada penurunan jumlah koloni. Hal ini dapat diamati dari pasangan konsentrasi 0% dan 0.1% masuk ke dalam subset yang sama. Selain itu pasangan konsentrasi 0.1% dan 0.2%, konsentrasi 0.2% dan 0.3%, konsentrasi 0.3% dan 0.4%, konsentrasi 0.4% dan 0.5%, serta konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% masuk ke dalam subset yang sama yang artinya pasangan konsentrasi tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan jumlah koloni *Candida albicans*. Hal ini dapat disebabkan karena *range* konsentrasi yang digunakan terlalu sempit sehingga penurunan jumlah koloni yang terpapar dengan konsentrasi-konsentrasi tersebut tidak memiliki perbedaan yang bermakna.

Efek antifungi yang bermakna pada pemberian ekstrak etanol daun cengkeh terhadap jumlah koloni juga didukung oleh hasil uji Korelasi *Pearson* dengan nilai koefisien korelasi sebesar $(R) = -0.921$. Tanda (-) menunjukkan adanya hubungan berbanding terbalik antar kelompok variabel. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh maka semakin sedikit jumlah koloni *Candida albicans* yang akan tumbuh. Nilai 0.921 menunjukkan adanya korelasi yang kuat antara ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa hipotesis penelitian yang telah disusun sebelumnya terbukti benar.

Untuk menilai besarnya derajat hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan jumlah koloni *Candida albicans*, data hasil perhitungan jumlah koloni *Candida albicans* juga dianalisis dengan uji Regresi. Uji Regresi menunjukkan bahwa besarnya pengaruh ekstrak etanol daun cengkeh terhadap jumlah koloni *Candida albicans* sebesar 84.70%, sedangkan 15.30% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diteliti. Faktor lain yang dapat mempengaruhi jumlah koloni jamur *Candida albicans* yaitu lama penyimpanan



ekstrak, kepadatan jamur dalam suspensi yang digunakan, dan nilai pH dari media.

Berdasarkan hasil perhitungan *Mean Grey Value* menggunakan *Adobe Photoshop CS5*, **ketebalan koloni *Candida albicans*** yang dianalisis menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0.000.

Hal ini menandakan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada ketebalan koloni *Candida albicans* setelah dipapar dengan ekstrak etanol daun cengkeh.

Pada uji *Post Hoc Tukey (Multiple Comparison)* yang dilakukan untuk mengetahui signifikan atau tidaknya perbedaan antar dua konsentrasi ekstrak diketahui bahwa kelompok konsentrasi 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% memiliki perbedaan signifikan dalam menurunkan ketebalan koloni *Candida albicans*. Hal ini ditandai dengan terpisahnya subset masing-masing konsentrasi 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6%. Tetapi konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% tidak memiliki perbedaan yang bermakna dalam menurunkan ketebalan koloni *Candida albicans*. Hal ini ditandai dengan hasil analisis konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% masuk ke dalam subset yang sama. Selain itu, dapat diketahui konsentrasi efektif yang dapat menurunkan ketebalan koloni *Candida albicans* dimulai dari konsentrasi 0.1%.

Untuk mengetahui keeratan hubungan antara pemberian ekstrak etanol daun cengkeh terhadap pertumbuhan ketebalan koloni *Candida albicans*, maka dilakukan uji *korelasi Pearson*. Dari hasil uji *korelasi Pearson* didapatkan nilai signifikansi 0.000 dengan nilai koefisien (R) = -0.954. Hal ini menunjukkan adanya pengaruh yang kuat antara pemberian ekstrak etanol daun cengkeh terhadap ketebalan koloni *Candida albicans*. Tanda (-) menunjukkan adanya hubungan berbanding terbalik yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh



yang diberikan maka semakin tipis koloni *Candida albicans* yang tumbuh.

Untuk mengetahui derajat hubungan atau pengaruh ekstrak etanol daun cengkeh maka dilakukan uji Regresi. Hasil uji Regresi menunjukkan bahwa besarnya pengaruh ekstrak etanol daun cengkeh terhadap ketebalan koloni *Candida albicans* sebesar 91.10% ,sedangkan 8.90% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diteliti.

Berdasarkan data hasil pengukuran **diameter koloni** *Candida albicans* yang di analisis menggunakan uji *One Way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi 0.000 antara kelompok kontrol dan kelompok uji. Sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat efek antifungi yang bermakna pada pemberian ekstrak etanol daun cengkeh terhadap diameter koloni *Candida albicans*.

Data hasil perhitungan diameter koloni juga dianalisis dengan menggunakan uji *Post Hoc Tukey* yang berfungsi untuk menilai perbandingan ganda pada kelompok uji. Pada uji *Post Hoc Tukey* didapatkan hasil bahwa konsentrasi efektif yang dapat menurunkan jumlah koloni *Candida albicans* dimulai dari konsentrasi 0.1%. Konsentrasi 0.1% sudah efektif dalam menurunkan diameter koloni *Candida albicans* ditandai dengan terpisahnya subset rerata diameter koloni antara konsentrasi 0% dan 0.1%. Konsentrasi 0.2% juga memiliki perbedaan yang signifikan dengan konsentrasi 0.1% dalam menurunkan diameter koloni *Candida albicans* ditandai dengan terpisahnya subset rerata diameter koloni konsentrasi 0.2% dan 0.1%. Sedangkan untuk konsentrasi ekstrak 0.3%, 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *fluconazole* 0.6% tidak memiliki perbedaan signifikan dalam menurunkan diameter koloni *Candida albicans*. Hal ini dapat disebabkan karena *range* konsentrasi yang digunakan terlalu sempit sehingga penurunan diameter koloni yang terpapar dengan konsentrasi-konsentrasi tersebut tidak memiliki



perbedaan yang bermakna.

Analisis data juga didukung oleh hasil uji Korelasi *Pearson* dengan nilai koefisien korelasi sebesar $(R) = -0.933$. Tanda $(-)$ menunjukkan adanya hubungan berbanding terbalik antar kelompok variabel. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh maka semakin kecil diameter koloni *Candida albicans* yang akan tumbuh. Nilai 0.933 menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang kuat antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan diameter koloni *Candida albicans*.

Untuk menilai besarnya derajat hubungan antara konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dengan diameter koloni *Candida albicans*, data hasil perhitungan diameter koloni *Candida albicans* juga dianalisis dengan uji Regresi. Uji Regresi menunjukkan bahwa besarnya pengaruh ekstrak etanol daun cengkeh terhadap diameter koloni *Candida albicans* sebesar 87%, sedangkan 13% dipengaruhi oleh faktor lain yang tidak diteliti. Faktor lain yang dapat mempengaruhi diameter koloni jamur *Candida albicans* yaitu lama penyimpanan ekstrak, kepadatan jamur dalam suspensi yang digunakan, dan nilai pH dari media.

Fluconazole digunakan sebagai kontrol positif karena *fluconazole* merupakan salah satu agen antifungi golongan azol generasi kedua yang masih digunakan secara luas hingga saat ini. Berdasarkan uji perbandingan berganda (*multiple comparison*) dapat diketahui perbandingan efektivitas antara beberapa konsentrasi ekstrak etanol daun cengkeh dan *fluconazole*. Pada lampiran 2 dan 6, dapat diketahui bahwa *fluconazole* 0.6% lebih efektif daripada ekstrak etanol daun cengkeh dengan konsentrasi 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, dan 0.5% dalam menurunkan jumlah koloni dan mengurangi ketebalan koloni *Candida albicans*. Hal



ini dapat diketahui dari nilai signifikansi perbandingan *fluconazole* 0.6% terhadap konsentrasi ekstrak 0.1%, 0.2%, 0.3%, 0.4%, dan 0.5% sebesar $p=0.000$.

Sedangkan jika dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 0.6%, nilai signifikansi yang didapatkan sebesar $p > 0.05$. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 0.6% dan *fluconazole* 0.6% tidak memiliki perbedaan bermakna dalam menurunkan jumlah koloni dan mengurangi ketebalan koloni *Candida albicans*. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kemampuan ekstrak dengan konsentrasi 0.6% setara dengan *fluconazole* 0.6% dalam menurunkan jumlah koloni dan mengurangi ketebalan koloni *Candida albicans*.

Berdasarkan indikator diameter koloni, dapat diketahui bahwa *fluconazole* 0.6% lebih efektif daripada ekstrak etanol daun cengkeh dengan konsentrasi 0.1%, 0.2% dan 0.3% dalam memperkecil diameter koloni *Candida albicans*. Hal ini dapat diketahui dari nilai signifikansi perbandingan *fluconazole* 0.6% terhadap konsentrasi ekstrak 0.1%, 0.2% dan 0.3% sebesar $p=0.000$. Sedangkan jika dibandingkan dengan konsentrasi ekstrak 0.4%, 0.5% dan 0.6%, nilai signifikansi yang didapatkan sebesar $p > 0.05$. Hal ini menunjukkan bahwa konsentrasi ekstrak 0.4%, 0.5%, 0.6% dan *fluconazole* 0.6% tidak memiliki perbedaan bermakna dalam memperkecil diameter koloni *Candida albicans*.

Potensi ekstrak etanol daun cengkeh sebagai antimikroba didukung dengan penelitian yang dilakukan Lambiju *et al* (2017) yang menunjukkan zona hambat ekstrak etanol daun cengkeh terhadap *Enterococcus faecalis* sebesar (8.00 ± 0.5) mm. Sebelum daun cengkeh diketahui memiliki efek antifungi dan antibakteri, ekstrak bunga cengkeh lebih sering diteliti untuk mengetahui efek antifungi maupun efek antibakterinya. Penelitian mengenai efek ekstrak bunga cengkeh dilakukan oleh Anindita *et al* (2016) yang menyatakan bahwa ekstrak



bunga cengkeh memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Porphyromonas gingivalis* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat dengan rerata 13.01 mm. Selain itu, pada penelitian uji efektivitas ekstrak etanol bunga cengkeh terhadap *Candida albicans* yang dilakukan oleh Ersu (2011) diketahui bahwa terbentuk zona hambat sebesar 19.6 mm. Dengan dilakukannya penelitian untuk menguji efek antifungi ekstrak etanol daun cengkeh maka dapat diketahui bahwa daun cengkeh juga memiliki potensi antimikroba seperti yang dimiliki bunga cengkeh.

Efek antifungi yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol daun cengkeh disebabkan karena adanya beberapa kandungan senyawa aktif berupa flavonoid, tanin, terpenoid, alkaloid dan saponin. Flavonoid, saponin, terpenoid, alkaloid dan tanin merupakan senyawa aktif yang telah terbukti memiliki efek antimikroba maupun efek antifungi.

Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan cara menyebabkan gangguan pada proses mitosis sel dengan cara mengikat protein mikrotubulus (Cunshine dan Lamb, 2011). Selain itu flavonoid dapat mengganggu permeabilitas membran sel *Candida albicans* dengan cara membentuk ikatan kompleks dengan protein membran sel *Candida albicans* sehingga menginisiasi terjadinya kerusakan membran sel *Candida albicans*. Flavonoid juga dapat menghambat kerja enzim yang mensintesis protein DNA. Gugus hidroksil yang terdapat pada senyawa flavonoid menyebabkan perubahan komponen organik pada membran sel *Candida albicans*. Perubahan ini yang secara langsung akan menghambat proses transpor nutrisi dan menyebabkan kematian sel *Candida albicans* (Engriyani *et al.*, 2012).

Tanin memiliki efek antifungi karena mampu menghambat pembentukan *chitin* yang merupakan salah satu komponen penyusun dinding sel *Candida*



albicans. Tanin berperan dalam menginaktivasi adhesin sel *Candida albicans* sehingga dinding sel menjadi lisis dan tidak mampu menginvasi sel hospes (Ismarani, 2012).

Mekanisme kerja terpenoid sebagai salah satu agen antijamur adalah dengan mengganggu keseimbangan homeostasis ion. Akibatnya *Candida albicans* akan mengalami kerusakan pada membran sel (Anjana et al., 2010).

Alkaloid dapat menyebabkan kerusakan dinding sel jamur dan menyebabkan interkalasi pada DNA jamur (Freisleben dan Jager, 2014). Akibatnya pada basa yang berurutan akan terjadi peregangan. Apabila DNA bereplikasi, maka DNA hasil replikasi akan mengalami adisi dan ada yang mengalami delesi pada area terjadinya interkalasi, sehingga *Candida albicans* akan mengalami mutasi.

Saponin dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan cara berinteraksi dengan membrane sterol *Candida albicans*. Saponin yang berikatan dengan membran sterol *Candida albicans*, akan membentuk agregasi. Agregasi ini menyebabkan terbentuknya lubang permanen pada membran plasma yang dapat menyebabkan membran sel *Candida albicans* menjadi lisis. Selain berikatan dengan membran sterol *Candida albicans*, saponin dapat menghambat sintesis enzim DNA-*polymerase* yang menyebabkan sintesis asam nukleat terganggu (Freisleben dan Jager, 2014).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Penelitian ini masih memiliki beberapa keterbatasan. Ekstrak etanol daun cengkeh yang digunakan dalam penelitian ini hanya melalui serangkaian proses uji fitokimia tetapi tidak menjalani uji kromatografi sehingga presentase masing



masing kandungan zat aktif yang terdapat di dalam ekstrak etanol daun cengkeh tidak diketahui. Keterbatasan lain dalam penelitian ini adalah hanya menggunakan satu isolat *Candida albicans* yang berasal dari swab vagina penderita kandidiasis vulvovaginalis, sehingga tidak menutup kemungkinan adanya hasil dan efek yang berbeda jika menggunakan isolat lainnya. Keterbatasan selanjutnya adalah penelitian ini hanya dapat mengetahui Kadar Hambat Minimal (KHM) karena tidak dapat diketahui efek antifungi yang ditimbulkan oleh ekstrak etanol daun cengkeh bersifat bakteriostatik atau bakterisidal. Selain itu belum adanya standar lama waktu penyimpanan ekstrak sehingga masih perlu diteliti ada tidaknya hubungan antara lama waktu penyimpanan ekstrak dengan potensi antifungi dari ekstrak tersebut. Penelitian ini memerlukan penelitian lanjutan berupa penelitian *in vivo* untuk mengetahui farmakodinamik, farmakokinetik, efek toksik, dan efek samping dari ekstrak etanol daun cengkeh. Dengan dilakukan penelitian lebih lanjut, diharapkan dapat menjadi obat alternatif bagi penderita kandidiasis vulvovaginalis.



BAB VII

PENUTUP

7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang didapatkan dari penelitian ini adalah sebagai berikut :

- 1) Ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.
- 2) Terdapat hubungan negatif atau berkebalikan antara pemberian ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak yang diberikan, maka pertumbuhan *Candida albicans* semakin menurun.
- 3) Kadar Hambat Minimal (KHM) dari ekstrak etanol daun cengkeh (*Syzygium aromaticum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah 0.6%.

7.2 Saran

Saran-saran dari peneliti berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut :

- 1) Perlu dilakukan uji kromatografi untuk mengetahui prosentase masing-masing kandungan zat aktif di dalam ekstrak etanol daun cengkeh yang berperan dalam memberikan efek antifungi.
- 2) Perlu dilakukan uji mengenai ada tidaknya hubungan antara lama waktu penyimpanan ekstrak dengan dengan potensi antifungi yang dimiliki ekstrak tersebut.

- 3) Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut berupa penelitian *in vivo* dan uji toksisitas untuk mengetahui batasan dosis yang aman untuk penggunaan terapi alternatif pada penderita kandidiasis vulvovaginalis.



DAFTAR PUSTAKA

Abouelela A., Abbas H.M., Eldeeb H., Wahdan A.A., Nassar S.M. 2005. *Automated vision system for localizing structural defects in textile fabrics*. Available form: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167865504003794> (diakses tanggal 14 Mei 2019).

Ali, M., Nas F.S., Yahaya A., Ibrahim I.S. Efficacy of Clove (*Syzygium Aromaticum*) Extracts on Food Borne Pathogens. *Bioequivalence & Bioavailability International Journal*, 2018, 2 (1) : 1-7.

Alqareer A., Alyahya A., Andersson L. The Effect of Clove and Benzocaine Versus Placebo as Topical Anesthetics. *Journal of dentistry*, 2012, 34 (10) : 747-750.

Anindita W. dan Martini S. Faktor Risiko Kejadian Kandidiasis Vaginalis pada Akseptor KB. *The Indonesian Journal of Public Health*, 2012, 3 (1) : 24-28.

Anindita, P.S., Agrianto P., Jimmy P. Uji Daya Hambat Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Terhadap Bakteri *Porphyromonas gingivalis*. *Journal e-Gigi (eG)*, 2016, 4 (2) : 229-234.

Anjana, R., Yongqiang Z., Sabina M., Rajini R. Mechanism of Antifungal Activity of Terpenoid Phenols Resembles Calcium Stress and Inhibition of the TOR Pathway. *American Society for Microbiology*, 2010, 54 (12) : 5062-5069.

Azwanida N.N. 2015. A Review on the Extraction Methods Use in Medicinal Plants, Principle, Strength and Limitation. *Medicinal & Aromatic Plants*, 2015, 4 (3) : 1-6.

Bellantoni M.S., Konnikov N. 2008. Oral antifungal agents In: Wolff K, Goldsmith LA, Katz SI, Gilchrist BS, Paller AS, Leffel DJ. eds. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*. 7th ed. New York: *Mc Graw-Hill*.p 2211-2217.

Bensky D., Steven C., Erich S., Andrew G., 2008. *Chinese Herbal Medicine: Materia Medica*, 3th Ed., Eastland Press, Washington.



Bhavan P.S., Rajkumar R., Radhakrishnan S. Culture and Identification of *Candida albicans* from Vaginal Ulcer and Separation of Enolase on SDS-PAGE. *International Journal of Microbiology*, 2010, 2 (1) : 84-93.

Brooks G.F., Butel J.S., Morse S.A., 2011. *Mycobacteriaceae in Jawetz Medical Microbiology*, 22th Ed., McGraw-Hill Companies Inc, USA, p. 453-65.

Brooks G.F., Karen C.C., Butel J.S. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran*, EGC, Jakarta.

Budimulja, U. 2011. Mikosis. In Djuanda A. Hamzah M. Aisyah S. editors. Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin, Edisi Keenam, Balai Penerbit FKUI, Jakarta.

Calderone R.A., Cornelius J.C. 2012. *Candida and Candidiasis*, 2nd Ed., American Society for Microbiology, Washington.

Cortesrojas D.F., Claudia R.F.S., Wanderley P.O. Clove (*Syzygium aromaticum*): A Precious Spice. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 2014, 4 (2) : 90-96.

Cunshine T.P., Lamb A.J. Recent Advances In Understanding The Antibacterial properties of Flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 2011, 38 (2) : 99-107.

Dabas P.S. An Approach to Etiology, Diagnosis and Management of Different Types of Candidiasis. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 2013, 4 (6) : 63-74.

Daili S.F. 2009. *Infeksi Menular Seksual*. Jakarta: Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.

Daili S.F., Makes W.I.B., Zubier F. 2009. *Infeksi Menular Seksual*. Edisi Keempat. Jakarta : Balai Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia

Dilip C.V, Mulaje SS, Mohalkar RY. A Review On Actinomycetes and Their Biotechnological Application. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 2013, 4 (5) : 1730-1742.



Direktorat Jenderal Perkebunan. 2013. Peningkatan Produksi, Produktivitas dan Mutu Tanaman Rempah dan Penyegar, Pedoman Teknis Pengembangan Tanaman Cengkeh. Jakarta : Kementerian Pertanian.

Dzen S.M., Roekistiningsih., Santoso S., Winarsih S. 2013. *Bakteriologi Medik, Tim Mikrobiologi Fakultas kedokteran Universitas Brawijaya*, Malang.

Eltayeib A.A., Maysoon, E.E. Chemical Component and Antioxidant Activity of *Eugenia Caryophyllus* Essential Oil. Departement of Chemistry. *International Journal of Current Research Chemistry and Pharmaceutical Science*, 2017, 4 (2) : 40-44.

Engriyani, R., Fitriani, A., Hamdiyati, Y. Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Salam (*Syzgium Polyanthum (Wight) Walp.*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* Secara In Vitro. *Biosfera*, 2012, 29 (2) : 71-79.

Ersa S. 2011. Efek Antifungal Ekstrak Bunga Cengkeh (*Syzygium aromaticum*) Dengan Metode Soxhletasi Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Skripsi*. Tidak Diterbitkan, Universitas Syiah Kuala, Banda Aceh.

Freisleben S.H., Jager, A.K. Correlation between Plant Secondary Metabolites and Their Antifungal Mechanisms-A Review. *Medicinal & Aromatic Plants*, 2014, 3 (2) : 1-6.

Ghom A., Mhaske S. 2010. *Textbook of Oral Pathology*. Jaypee Brothers Medical Publishers, New Delhi, p.83.

Giannini M. M. J. S., Sardi J. C. O., Scorzoni L., Bernardi T., Fusco-Almeida A.M. *Candida species*: Current Epidemiology, Pathogenicity, Biofilm Formation, Natural Antifungal Products and New Therapeutic Options. *Journal of Medical Microbiology*, 2013, 62 : 10-24.

Gray K.C., Daniel S.P., Ian D., Matthew M.E., Brice E.U., Brandon C.W., et al. Amphotericin Primarily Kills Yeast By Simply Binding Ergosterol. *Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America*, 2012, 109 (7) : 2234-2239.

Gupta, S. dan Kumar B. 2013. *Sexually Transmitted Infection*, 2nd Ed., Elsevier Ltd, New Delhi.



Hamburg G. 2014. Thermal Process Engineering: Liquid-liquid extraction and solid-liquid Extraction.

Handa, S.S., Suman P.S.K., Gennaro L., Dev D.R. 2008. *Extraction Technologies for Medicinal and Aromatic Plants*. International centre For Science And high Technology, Italy, p. 22-52

Hapsoh dan Hasanah, Y. 2011. *Budidaya Tanaman Obat Dan Rempah*, Edisi Pertama, USU Press, Medan, hal 89-95.

Ismarani. Potensi Senyawa Tannin dalam Menunjang Produksi Rumah Lingkungan. *Jurnal Agribisnis dan Pengembangan Wilayah*, 2012, 3 (2) : 46-55

Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A., 2008. *Medical Microbiology*, 24th Ed., McGraw Hill, USA, p. 700-732.

Jawetz E., Melnick J.L., Adelberg E.A. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*, Edisi Ke 23, EGC, Jakarta, hal. 259-262.

Karina D. dan Ervianti E. 2011. Kandidiasis Vulvovaginalis di divisi Infeksi Menular Seksual Unit Rawat Jalan Kesehatan Kulit dan Kelamin RSUD dr. Soetomo Surabaya Periode 2007-2009. *Berkala Ilmi Kesehatan Kulit & Kelamin*, 2011, 23 (3) : 180-188.

Khan, M.S.A., Ahmad, I., Aqil, F., Owais, M., Shahid, M., and Musarrat, J., 2010. Virulence and Pathogenicity of Fungal Pathogens with Special Reference to *Candida albicans*. *Combating Fungal Infection* Ed., Springer, Berlin, p. 21-45.

Komariah S.R. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia*, 2012, 28 (1) : 39 – 47.

Kuleta J.K., Maria R.K., Andrzej K. Fungi Pathogenic To Humans: Molecular Bases of Virulence of *Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans* and *Aspergillus fumigates*. *Acta Biochimica Polonica*, 2009, 56 (2) : 211-224.

Lambiju E.M., Pemsu M.W., Michael A.L. Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.)) terhadap Bakteri *Enterococcus faecalis*. *Jurnal e-Gigi* (eG), 2017, 5 (1) :79-83.



Lee Mary. 2013. *Basic Skills in Interpreting Laboratory Data*, 5th Ed., American Society of Health System Pharmacist, USA, p. 723

Lestari E.L. PERAN FAKTOR VIRULENSI PADA PATOGENESIS INFEKSI *Candida albicans*. *Stomatognatic*, 2010, 7 (2) : 113-117.

Lopez-Martinez, R. 2010. *Candidosis a New Challege*. *Clinics in Dermatology*. Skin Infection

Lumingkewas, M., Jeanette M., Fetty I., Amelia W., Judith M., Edi S. Aktivitas Antifotooksidan dan Komposisi Fenolik dari Daun Cengkeh (*Eugenia aromaticum* L.). *Chemistry Progress*, 2014, 7 (2) : 96-105.

Mainous A.G. 2010. *Management of Antimicrobials in Infectious Diseases*. 2nd Ed., Humana Press, New York.

Markey B. 2013. *Clinical Veterinary Microbiology* 2nd Ed, *Elsevier Ltd*.

Mounyr B., Moulay S., Saad K.I. Methods for In Vitro Evaluating Antimicrobial Activity : A Review. *Elsevier*, 2016, 6 : 71-79.

Murray R. K., Daryl K. G., Victor W.R. 1999. *Biokimia Harper*. Edisi 24. EGC. Jakarta.

Murray P.R. Baron E.J. Jorgensen J.H. Pfaller M.A. Tenover F.C. Tenover R.C. 2003. *Manual of Clinical Microbiology*, 8th Ed. ASM Press. Washington DC.

Myers R.S. 2006. *Immunizing and Antimicrobial Agents*. 4th Ed., Livingstone Press, London. p. 162.

Nuryanti. 2015. *Sejarah dan Manfaat Cengkeh*. BBPPTP Surabaya.

Office of Pesticide Programs Microbiology Laboratory. 2016. *Standard Operating Procedure for VITEK 2 Compact : Use, Maintenance and Quality Control Procedures*. US Environmental Protection Agency Office of Pesticide Programs., USA.



Parija S.C. 2012. *Textbook of Microbiology & Immunology*, 2nd Ed., Elsevier, India, p.68-71.

Pereira F.G., Marguete, R., Domingos, L.T., Mansur, E., Moreira, D.L. Antifungal Activities of the Essential Oil and Its Fractions Rich in Sesquiterpenes from leaves of *Casearia syvestris* Sw. *Annals of The Brazilian academy of Sciences*, 2017, 89 (4) : 2817-2824.

Pincus, D.H. 2016. Microbial Identification Using The Biomeriux Vitek 2 System. Biomerieux, USA, p. 1-32.

Pudjiati S.R., Soedarmadi. Dalam: Daili S.F., Makes W.I.B., Zubier F. 2009. Infeksi Menular Seksual. Edisi Keempat. Balai Penerbit FKUI: Jakarta.

Ratnakomala S., Apriliana P., Fahrurrozi., Lisdiyanti P., Kusharyoto W. Aktivitas Antibakteri Antinomisetes Laut dari Pulau Enggano. *Berita Biologi*, 2016, 15 (3) : 275-283.

Samadi, F.M., Shaista S., Manjari S., Neeta S., Shruti S., Sushil G., et al. Antifungal Efficacy of Herbs. *Journal of Oral Biology and Craniofacial Research*, 2019, 9 : 28-32.

Sanglard D., Alix C., Ferrari S. Antifungal drug resistance Mechanisms in Fungal Pathogens from The Perspective of Transcriptional Gene Regulation. *Federation European Microbiological Societies*, 2009, 9 : 1029-1050.

Seidel Veronica. 2012. Initial and Bulk Extraction of Natural Products Isolation. Natural Products Research Laboratories. *Strathclyde Institute of Pharmacy and Biomedical Sciences*, UK, p. 33-35.

Setiabudy R. 2009. *Farmakologi dan Terapi*, Edisi Kelima (Cetak Ulang Dengan Perbaikan), Gaya Baru, Jakarta.

Setyowati, H., Hanifah, Z. H., dan Nugraheni, R.P. Krim Kulit Buah Durian (*Durio zibethinus* L.) Sebagai Obat Herbal Pengobatan Infeksi Jamur *Candida albicans*. *Media Farmasi Indonesia*, 2013, 8 (2): 1-7.



Shao L. C., Sheng C. Q., Zhang W. N. 2008. Recent Advances In The Study Of Antifungal Lead Compounds With New Chemical Scaffolds. *Yao Xue Xue Bao* 42, 1129–1136 (in Chinese).

Shenoy, M.M. Teerthanath S. Vimal K.K. Grisha B.S. Prasad M.S.K. Jerome P. 2008. Comparison of Potassium Hydroxide Mount and Mycological Culture with Histopathologic Examination Using Periodic Acid-Schiff Staining of The Nail Clippings in the Diagnosis of Onychomycosis. *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 2008, 74 (3) : 226-229.

Sinaga R.M., Lubis F.M., Wahyuni D.D. The Pattern of Antifungal Resistance Against *Candida albicans* that cause Vaginal Candidiasis. *Interational Journal of ChemTech Research*, 2018, 11 (03) : 9-12.

Siregar R.S. 2005. *Penyakit Jamur Kulit*, Edisi kedua, EGC, Jakarta. Staf Pengajar Departemen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya. 2009. *Kumpulan Kuliah Farmakologi Edisi 2*. Jakarta : Penerbit buku Kedokteran EGC.

Staf Pengajar Departemen Farmakologi. 2009. *Kumpulan Kuliah Farmakologi*. Edisi Kedua, Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, Jakarta.

Sucher A.J., Chahine, E.B., Balcer, H.E. *Echinocandins: The Newest Class of Antifungals*. *Ann Pharmacother. The Annals of Pharmacotherapy*, 2009, 43 : 1647–1657.

Sulistyawati, D., Mulyati, S. Uji Aktivitas Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardum occidentale*, L.) terhadap *Candida albicans*. *Biomedika*, 2009, 2 (1) : 47-51.

Suwarto., Octavianty, Y., Hermawati, S. 2014. *Top 15 Tanaman Perkebunan*. Edisi Pertama, Penebar Swadaya, Jaakarta, hal. 21-35.

Sweetman S.C. 2009. *Martindale The Complete Drug Reference*, 36th Ed., Pharmaceutical Press, London, p. 517-551.

Tada R., Latge J.P., Aimaniana V. 2013. *Undressing The Fungal Cell Wall The Antifungal Drug Targetrs*, *Current Pharmaceutical*, 2013, 19 : 3738-3747.

Tortora G. J., Funke B. R., Case C.L. 2010. *Microbiology: An introduction*, 10th ed.



Wahyulianingsih., Handayani, S. Malik, A. Penetapan Kadar Flavonoid Ekstrak Daun Cengkeh (*Syzygium aromaticum* (L.) Merr & Perry). *Jurnal Fitofarmako Indonesia*, 2013, 3 (2) : 188-193

Warganegara, E., Dewi D.A.P. Manfaat Bawang Putih (*Allium Sativum* Linn.) pada Pengobatan Infeksi Fungal *Tinea Versicolor* (Panu). *Majority*, 2016, 5 (1) : 33-37

Webster M. 2009. Antimicrobial. *Merriam-Webster Online Dictionary*. Archived from the original on 24 April 2009.

Wibowo M.S. 2010. Pertumbuhan Mikroorganisme. Bandung : *Fakultas Farmasi Institut Teknologi Bandung*.

Yang H., Junsen T., Chul W.L. 2014. *Structural Mechanism Of Ergosterol Regulation By Fungal Sterol Transcription Factor Upc2*. Nature Research, London,

Wibowo, Y. 2013. Dermatofitosis. 7 April 2019. <https://www.slideshare.net/YogoWibowo/dermatofitosis-23197811>

Zhen W.U., Cheng A.X., Sun L.M., Lou H.X. Effect Of Plagiochin E, An Antifungal Macrocyclic Bis (Bibenzyl) On Cell Wall Chitin Synthesis In *Candida albicans*. *Acta Pharmacol Sin*, 2008, 29 (12) : 1478-1485.

Zhou X., Li Y. 2015. *Atlas of Oral Microbiology from Healthy Microflora to Disease*. Elsevier. US.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan One Way ANOVA

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Koloni	.137	32	.135	.963	32	.324

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan : Hasil Uji Normalitas

Descriptives

Jumlah Koloni

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	4	19.00	1.826	.913	16.09	21.91	17	21
0,10%	4	17.25	2.062	1.031	13.97	20.53	15	19
0,20%	4	15.25	.957	.479	13.73	16.77	14	16
0,30%	4	13.00	1.155	.577	11.16	14.84	12	14
0,40%	4	11.25	.500	.250	10.45	12.05	11	12
0,50%	4	9.25	1.708	.854	6.53	11.97	7	11
0,60%	4	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Kontrol	4	.00	.000	.000	.00	.00	0	0
Total	32	10.63	6.992	1.236	8.10	13.15	0	21

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.811	6	21	.145

Keterangan : Hasil Uji Homogenitas

ANOVA

Jumlah Koloni

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1476.500	7	210.929	129.802	.000
Within Groups	39.000	24	1.625		
Total	1515.500	31			

Keterangan : Hasil Uji One Way ANOVA

Lampiran 2. Hasil Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Jumlah Koloni
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	0,10%	1.75	.901	.538	-1.24	4.74
	0,20%	3.75*	.901	.007	.76	6.74
	0,30%	6.00*	.901	.000	3.01	8.99
	0,40%	7.75*	.901	.000	4.76	10.74
	0,50%	9.75*	.901	.000	6.76	12.74
	0,60%	19.00*	.901	.000	16.01	21.99
	Kontrol	19.00*	.901	.000	16.01	21.99
0,10%	0%	-1.75	.901	.538	-4.74	1.24
	0,20%	2.00	.901	.376	-.99	4.99
	0,30%	4.25*	.901	.002	1.26	7.24
	0,40%	6.00*	.901	.000	3.01	8.99
	0,50%	8.00*	.901	.000	5.01	10.99
	0,60%	17.25*	.901	.000	14.26	20.24
	Kontrol	17.25*	.901	.000	14.26	20.24
0,20%	0%	-3.75*	.901	.007	-6.74	-.76
	0,10%	-2.00	.901	.376	-4.99	.99
	0,30%	2.25	.901	.244	-.74	5.24
	0,40%	4.00*	.901	.004	1.01	6.99
	0,50%	6.00*	.901	.000	3.01	8.99
	0,60%	15.25*	.901	.000	12.26	18.24
	Kontrol	15.25*	.901	.000	12.26	18.24
0,30%	0%	-6.00*	.901	.000	-8.99	-3.01
	0,10%	-4.25*	.901	.002	-7.24	-1.26
	0,20%	-2.25	.901	.244	-5.24	.74
	0,40%	1.75	.901	.538	-1.24	4.74
	0,50%	3.75*	.901	.007	.76	6.74
	0,60%	13.00*	.901	.000	10.01	15.99
	Kontrol	13.00*	.901	.000	10.01	15.99
0,40%	0%	-7.75*	.901	.000	-10.74	-4.76
	0,10%	-6.00*	.901	.000	-8.99	-3.01
	0,20%	-4.00*	.901	.004	-6.99	-1.01
	0,30%	-1.75	.901	.538	-4.74	1.24
	0,50%	2.00	.901	.376	-.99	4.99
	0,60%	11.25*	.901	.000	8.26	14.24
	Kontrol	11.25*	.901	.000	8.26	14.24
0,50%	0%	-9.75*	.901	.000	-12.74	-6.76
	0,10%	-8.00*	.901	.000	-10.99	-5.01
	0,20%	-6.00*	.901	.000	-8.99	-3.01
	0,30%	-3.75*	.901	.007	-6.74	-.76
	0,40%	-2.00	.901	.376	-4.99	.99
	0,60%	9.25*	.901	.000	6.26	12.24
	Kontrol	9.25*	.901	.000	6.26	12.24
0,60%	0%	-19.00*	.901	.000	-21.99	-16.01
	0,10%	-17.25*	.901	.000	-20.24	-14.26
	0,20%	-15.25*	.901	.000	-18.24	-12.26
	0,30%	-13.00*	.901	.000	-15.99	-10.01
	0,40%	-11.25*	.901	.000	-14.24	-8.26
	0,50%	-9.25*	.901	.000	-12.24	-6.26
	Kontrol	.00	.901	1.000	-2.99	2.99
Kontrol	0%	-19.00*	.901	.000	-21.99	-16.01
	0,10%	-17.25*	.901	.000	-20.24	-14.26
	0,20%	-15.25*	.901	.000	-18.24	-12.26
	0,30%	-13.00*	.901	.000	-15.99	-10.01
	0,40%	-11.25*	.901	.000	-14.24	-8.26
	0,50%	-9.25*	.901	.000	-12.24	-6.26
	0,60%	.00	.901	1.000	-2.99	2.99

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

Keterangan : Hasil Uji Post Hoc Tukey

Lampiran 3. Hasil Uji *Post Hoc* Tukey dan Grafik Jumlah Koloni *Candida albicans*

Jumlah Koloni

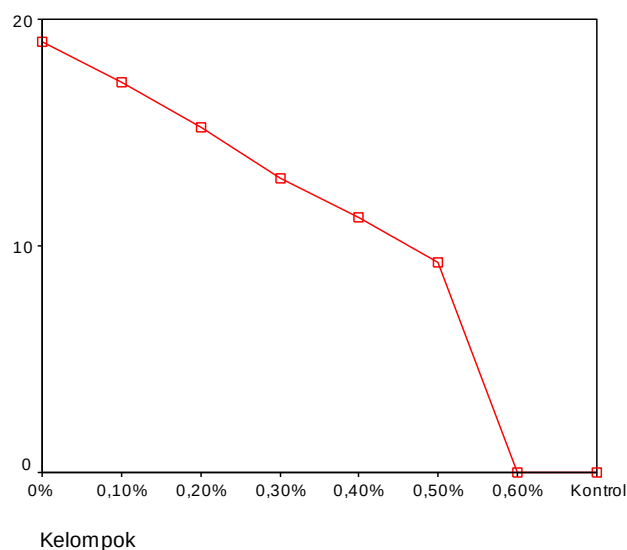
Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05					
		1	2	3	4	5	6
0,60%	4	.00					
Kontrol	4	.00					
0,50%	4		9.25				
0,40%	4		11.25	11.25			
0,30%	4			13.00	13.00		
0,20%	4				15.25	15.25	
0,10%	4					17.25	17.25
0%	4						19.00
Sig.		1.000	.376	.538	.244	.376	.538

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.

Keterangan : Hasil Uji *Post Hoc* Tukey



Keterangan : Grafik Jumlah Koloni *Candida albicans*

Lampiran 4. Hasil Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi

Correlations

		Konsentrasi	Jumlah Koloni
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.921**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
Jumlah Koloni	Pearson Correlation	-.921**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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

Keterangan : Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.921 ^a	.847	.842	2.421

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

Keterangan : Hasil Uji Regresi



Lampiran 5. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan One Way ANOVA

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Ketebalan Jamur	,152	32	,059	,953	32	,173

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan : Hasil Uji Normalitas

Descriptives

Ketebalan Jamur

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	4	225,4200	1,01807	,50904	223,8000	227,0400	224,53	226,86
0,1%	4	158,8200	,16593	,08297	158,5560	159,0840	158,62	158,98
0,2%	4	156,4200	,49234	,24617	155,6366	157,2034	155,86	156,90
0,3%	4	125,4425	1,08607	,54304	123,7143	127,1707	124,21	126,81
0,4%	4	123,6400	,23594	,11797	123,2646	124,0154	123,45	123,98
0,5%	4	102,7425	,27403	,13701	102,3065	103,1785	102,42	102,98
0,6%	4	70,0400	1,07502	,53751	68,3294	71,7506	68,45	70,82
Fluconazole 0,6%	4	68,9325	,54993	,27497	68,0574	69,8076	68,53	69,73
Total	32	128,9322	49,19501	8,69653	111,1955	146,6689	68,45	226,86

Test of Homogeneity of Variances

Ketebalan Jamur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2,109	7	24	,082

Keterangan : Hasil Uji Homogenitas

ANOVA

Ketebalan Jamur

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	75012,385	7	10716,055	21038,644	,000
Within Groups	12,224	24	,509		
Total	75024,610	31			

Keterangan : Hasil Uji One Way ANOVA

Lampiran 6. Hasil Uji Post Hoc Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Ketebalan Jamur
Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	0,1%	66,6000*	,50465	,000	64,9286	68,2714
	0,2%	69,0000*	,50465	,000	67,3286	70,6714
	0,3%	99,9775*	,50465	,000	98,3061	101,6489
	0,4%	101,7800*	,50465	,000	100,1086	103,4514
	0,5%	122,6775*	,50465	,000	121,0061	124,3489
	0,6%	155,3800*	,50465	,000	153,7086	157,0514
	Fluconazole 0,6%	156,4875*	,50465	,000	154,8161	158,1589
0,1%	0%	-66,6000*	,50465	,000	-68,2714	-64,9286
	0,2%	2,4000*	,50465	,002	,7286	4,0714
	0,3%	33,3775*	,50465	,000	31,7061	35,0489
	0,4%	35,1800*	,50465	,000	33,5086	36,8514
	0,5%	56,0775*	,50465	,000	54,4061	57,7489
	0,6%	88,7800*	,50465	,000	87,1086	90,4514
	Fluconazole 0,6%	89,8875*	,50465	,000	88,2161	91,5589
0,2%	0%	-69,0000*	,50465	,000	-70,6714	-67,3286
	0,1%	-2,4000*	,50465	,002	-4,0714	-,7286
	0,3%	30,9775*	,50465	,000	29,3061	32,6489
	0,4%	32,7800*	,50465	,000	31,1086	34,4514
	0,5%	53,6775*	,50465	,000	52,0061	55,3489
	0,6%	86,3800*	,50465	,000	84,7086	88,0514
	Fluconazole 0,6%	87,4875*	,50465	,000	85,8161	89,1589
0,3%	0%	-99,9775*	,50465	,000	-101,6489	-98,3061
	0,1%	-33,3775*	,50465	,000	-35,0489	-31,7061
	0,2%	-30,9775*	,50465	,000	-32,6489	-29,3061
	0,4%	1,8025*	,50465	,028	,1311	3,4739
	0,5%	22,7000*	,50465	,000	21,0286	24,3714
	0,6%	55,4025*	,50465	,000	53,7311	57,0739
	Fluconazole 0,6%	56,5100*	,50465	,000	54,8386	58,1814
0,4%	0%	-101,7800*	,50465	,000	-103,4514	-100,1086
	0,1%	-35,1800*	,50465	,000	-36,8514	-33,5086
	0,2%	-32,7800*	,50465	,000	-34,4514	-31,1086
	0,3%	-1,8025*	,50465	,028	-3,4739	-,1311
	0,5%	20,8975*	,50465	,000	19,2261	22,5689
	0,6%	53,6000*	,50465	,000	51,9286	55,2714
	Fluconazole 0,6%	54,7075*	,50465	,000	53,0361	56,3789
0,5%	0%	-122,6775*	,50465	,000	-124,3489	-121,0061
	0,1%	-56,0775*	,50465	,000	-57,7489	-54,4061
	0,2%	-53,6775*	,50465	,000	-55,3489	-52,0061
	0,3%	-22,7000*	,50465	,000	-24,3714	-21,0286
	0,4%	-20,8975*	,50465	,000	-22,5689	-19,2261
	0,6%	32,7025*	,50465	,000	31,0311	34,3739
	Fluconazole 0,6%	33,8100*	,50465	,000	32,1386	35,4814
0,6%	0%	-155,3800*	,50465	,000	-157,0514	-153,7086
	0,1%	-88,7800*	,50465	,000	-90,4514	-87,1086
	0,2%	-86,3800*	,50465	,000	-88,0514	-84,7086
	0,3%	-55,4025*	,50465	,000	-57,0739	-53,7311
	0,4%	-53,6000*	,50465	,000	-55,2714	-51,9286
	0,5%	-32,7025*	,50465	,000	-34,3739	-31,0311
	Fluconazole 0,6%	1,1075	,50465	,389	-,5639	2,7789
Fluconazole 0,6%	0%	-156,4875*	,50465	,000	-158,1589	-154,8161
	0,1%	-89,8875*	,50465	,000	-91,5589	-88,2161
	0,2%	-87,4875*	,50465	,000	-89,1589	-85,8161
	0,3%	-56,5100*	,50465	,000	-58,1814	-54,8386
	0,4%	-54,7075*	,50465	,000	-56,3789	-53,0361
	0,5%	-33,8100*	,50465	,000	-35,4814	-32,1386
	0,6%	-1,1075	,50465	,389	-2,7789	,5639

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

Keterangan : Hasil Uji Post Hoc Tukey

Lampiran 7. Hasil Uji *Post Hoc* Tukey dan Grafik Ketebalan Koloni *Candida albicans*

Ketebalan Jamur

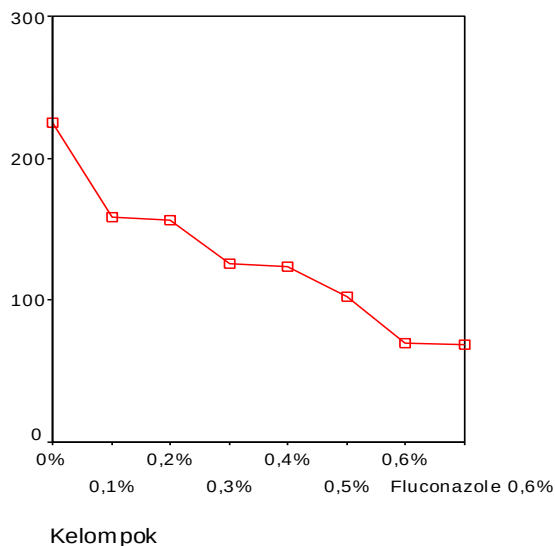
Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05						
		1	2	3	4	5	6	7
Fluconazole 0,6%	4	68,9325	102,7425	123,6400	125,4425	156,4200	158,8200	225,4200
0,6%	4	70,0400						
0,5%	4							
0,4%	4							
0,3%	4							
0,2%	4			125,4425	156,4200	158,8200	225,4200	225,4200
0,1%	4							
0%	4							
Sig.		,389	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4,000.

Keterangan : Hasil Uji *Post Hoc* Tukey



Keterangan : Grafik Ketebalan Koloni *Candida albicans*

Lampiran 8. Hasil Uji Korelasi *Pearson* dan Uji Regresi**Correlations**

		Konsentrasi	Ketebalan Jamur
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-,954**
	Sig. (2-tailed)	,	,000
	N	28	28
Ketebalan Jamur	Pearson Correlation	-,954**	1
	Sig. (2-tailed)	,000	,
	N	28	28

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

Keterangan : Hasil Uji Korelasi *Pearson*

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	,954 ^a	,911	,907	14,17211

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

Keterangan : Hasil Uji Regresi



Lampiran 9. Hasil Uji Normalitas, Uji Homogenitas dan One Way ANOVA

Tests of Normality

	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter Koloni	.083	32	.200*	.977	32	.704

*. This is a lower bound of the true significance.

a. Lilliefors Significance Correction

Keterangan : Hasil Uji Normalitas

Descriptives

Diameter Koloni

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
0%	4	3.3875	.34490	.17245	2.8387	3.9363	3.10	3.85
0,10%	4	2.4625	.27500	.13750	2.0249	2.9001	2.20	2.85
0,20%	4	1.8750	.02887	.01443	1.8291	1.9209	1.85	1.90
0,30%	4	.4000	.07071	.03536	.2875	.5125	.35	.50
0,40%	4	.2250	.05000	.02500	.1454	.3046	.15	.25
0,50%	4	.1000	.00000	.00000	.1000	.1000	.10	.10
0,60%	4	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Kontrol	4	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Total	32	1.0563	1.27011	.22453	.5983	1.5142	.00	3.85

Test of Homogeneity of Variances

Diameter Koloni

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
1.309	7	24	.288

Keterangan : Hasil Uji Homogenitas

ANOVA

Diameter Koloni

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	49.400	7	7.057	278.228	.000
Within Groups	.609	24	.025		
Total	50.009	31			

Keterangan : Hasil Uji One Way ANOVA

Lampiran 10. Hasil Uji *Post Hoc* Tukey

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter Koloni

Tukey HSD

(I) Kelompok	(J) Kelompok	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
0%	0,10%	.9250*	.11262	.000	.5520	1.2980
	0,20%	1.5125*	.11262	.000	1.1395	1.8855
	0,30%	2.9875*	.11262	.000	2.6145	3.3605
	0,40%	3.1625*	.11262	.000	2.7895	3.5355
	0,50%	3.2875*	.11262	.000	2.9145	3.6605
	0,60%	3.3875*	.11262	.000	3.0145	3.7605
	Kontrol	3.3875*	.11262	.000	3.0145	3.7605
0,10%	0%	-.9250*	.11262	.000	-1.2980	-.5520
	0,20%	.5875*	.11262	.001	.2145	.9605
	0,30%	2.0625*	.11262	.000	1.6895	2.4355
	0,40%	2.2375*	.11262	.000	1.8645	2.6105
	0,50%	2.3625*	.11262	.000	1.9895	2.7355
	0,60%	2.4625*	.11262	.000	2.0895	2.8355
	Kontrol	2.4625*	.11262	.000	2.0895	2.8355
0,20%	0%	-1.5125*	.11262	.000	-1.8855	-1.1395
	0,10%	-.5875*	.11262	.001	-.9605	-.2145
	0,30%	1.4750*	.11262	.000	1.1020	1.8480
	0,40%	1.6500*	.11262	.000	1.2770	2.0230
	0,50%	1.7750*	.11262	.000	1.4020	2.1480
	0,60%	1.8750*	.11262	.000	1.5020	2.2480
	Kontrol	1.8750*	.11262	.000	1.5020	2.2480
0,30%	0%	-2.9875*	.11262	.000	-3.3605	-2.6145
	0,10%	-2.0625*	.11262	.000	-2.4355	-1.6895
	0,20%	-1.4750*	.11262	.000	-1.8480	-1.1020
	0,40%	.1750	.11262	.771	-.1980	.5480
	0,50%	.3000	.11262	.182	-.0730	.6730
	0,60%	.4000*	.11262	.029	.0270	.7730
	Kontrol	.4000*	.11262	.029	.0270	.7730
0,40%	0%	-3.1625*	.11262	.000	-3.5355	-2.7895
	0,10%	-2.2375*	.11262	.000	-2.6105	-1.8645
	0,20%	-1.6500*	.11262	.000	-2.0230	-1.2770
	0,30%	-.1750	.11262	.771	-.5480	.1980
	0,50%	.1250	.11262	.948	-.2480	.4980
	0,60%	.2250	.11262	.503	-.1480	.5980
	Kontrol	.2250	.11262	.503	-.1480	.5980
0,50%	0%	-3.2875*	.11262	.000	-3.6605	-2.9145
	0,10%	-2.3625*	.11262	.000	-2.7355	-1.9895
	0,20%	-1.7750*	.11262	.000	-2.1480	-1.4020
	0,30%	-.3000	.11262	.182	-.6730	.0730
	0,40%	-.1250	.11262	.948	-.4980	.2480
	0,60%	.1000	.11262	.984	-.2730	.4730
	Kontrol	.1000	.11262	.984	-.2730	.4730
0,60%	0%	-3.3875*	.11262	.000	-3.7605	-3.0145
	0,10%	-2.4625*	.11262	.000	-2.8355	-2.0895
	0,20%	-1.8750*	.11262	.000	-2.2480	-1.5020
	0,30%	-.4000*	.11262	.029	-.7730	-.0270
	0,40%	-.2250	.11262	.503	-.5980	.1480
	0,50%	-.1000	.11262	.984	-.4730	.2730
	Kontrol	.0000	.11262	1.000	-.3730	.3730
Kontrol	0%	-3.3875*	.11262	.000	-3.7605	-3.0145
	0,10%	-2.4625*	.11262	.000	-2.8355	-2.0895
	0,20%	-1.8750*	.11262	.000	-2.2480	-1.5020
	0,30%	-.4000*	.11262	.029	-.7730	-.0270
	0,40%	-.2250	.11262	.503	-.5980	.1480
	0,50%	-.1000	.11262	.984	-.4730	.2730
	0,60%	.0000	.11262	1.000	-.3730	.3730

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

Keterangan : Hasil Uji *Post Hoc* Tukey

Lampiran 11. Hasil Uji *Post Hoc* Tukey dan Grafik Diameter Koloni *Candida albicans*

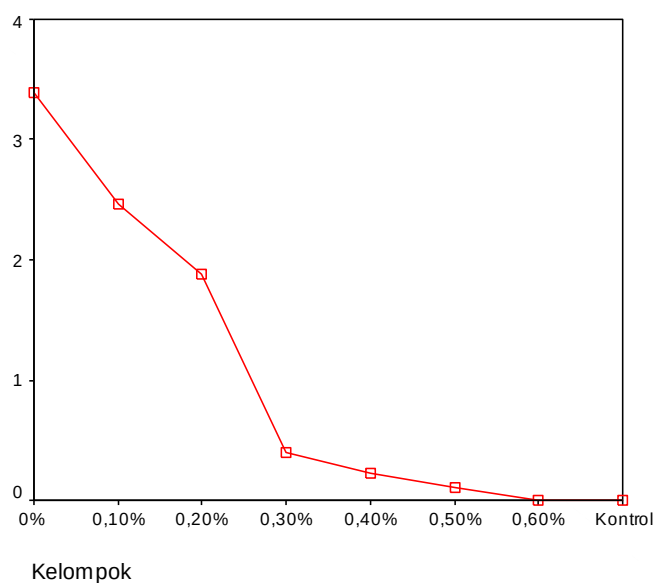
Diameter Koloni

Tukey HSD^a

Kelompok	N	Subset for alpha = .05				
		1	2	3	4	5
0,60%	4	.0000				
Kontrol	4	.0000				
0,50%	4	.1000	.1000			
0,40%	4	.2250	.2250			
0,30%	4		.4000			
0,20%	4			1.8750		
0,10%	4				2.4625	
0%	4					3.3875
Sig.		.503	.182	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 4.000.



Keterangan : Grafik Diameter Koloni *Candida albicans*

Lampiran 12. Hasil Uji Korelasi Pearson dan Uji Regresi

Correlations

		Konsentrasi	Diameter Koloni
Konsentrasi	Pearson Correlation	1	-.933**
	Sig. (2-tailed)	.	.000
	N	28	28
Diameter Koloni	Pearson Correlation	-.933**	1
	Sig. (2-tailed)	.000	.
	N	28	28

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

Keterangan : Hasil Uji Korelasi Pearson

Model Summary

Model	R	R Square	Adjusted R Square	Std. Error of the Estimate
1	.933 ^a	.870	.865	.47388

a. Predictors: (Constant), Konsentrasi

Keterangan : Hasil Uji Regresi

Lampiran 13 Hasil Pengamatan Ketebalan Koloni *Candida albicans* oleh Pengamat 1

Konsentrasi Ekstrak (%)	Ketebalan Koloni <i>Candida albicans</i>			
	Pengulangan			
	I	II	III	IV
0%	+4	+4	+4	+4
0.1%	+3	+3	+3	+3
0.2%	+3	+3	+3	+3
0.3%	+2	+2	+2	+2
0.4%	+2	+2	+2	+2
0.5%	+1	+1	+1	+1
0.6%	0	0	0	0
Fluconazole 0.6%	0	0	0	0

Lampiran 14. Hasil Pengamatan Ketebalan Koloni *Candida albicans* oleh Pengamat 2

Konsentrasi Ekstrak (%)	Ketebalan Koloni <i>Candida albicans</i>			
	Pengulangan			
	I	II	III	IV
0%	+4	+4	+4	+4
0.1%	+3	+3	+3	+3
0.2%	+3	+3	+3	+3
0.3%	+2	+2	+2	+2
0.4%	+2	+2	+2	+2
0.5%	+1	+1	+1	+1
0.6%	0	0	0	0
Fluconazole 0.6%	0	0	0	0

Lampiran 15. Hasil Pengamatan Ketebalan Koloni *Candida albicans* oleh Pengamat 3

Konsentrasi Ekstrak (%)	Ketebalan Koloni <i>Candida albicans</i>			
	Pengulangan			
	I	II	III	IV
0%	+4	+4	+4	+4
0.1%	+3	+3	+3	+3
0.2%	+3	+3	+3	+3
0.3%	+2	+2	+2	+2
0.4%	+2	+2	+2	+2
0.5%	+1	+1	+1	+1
0.6%	0	0	0	0
Fluconazole 0.6%	0	0	0	0



Lampiran 16. Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Cengkeh



PEMERINTAH PROVINSI JAWA TIMUR
DINAS KESEHATAN
UPT MATERIA MEDICA BATU
 Jalan Lahor No.87 Telp/Fax (0341) 593396. Batu
KOTA BATU

65313

Nomor : 074 / 127D / 102.7 / 2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Surat Keterangan Analisa Kualitatif**

Bersama ini kami sampaikan hasil analisa berikut ini :

- Identitas Pemohon
 Nama : Regina Ayu Fristiyanti
 NIM : 155070607111007
 Instansi : Fakultas Kedokteran, Universitas Brawijaya
 Alamat Instansi : Malang
 Nomor Telp. Instansi : -

- Identitas Sampel
 Nama daerah sampel : Cengkeh
 Nama latin : *Syzygium aromaticum*
 Bagian sampel : Daun
 Bentuk sampel : Ekstrak
 Pelarut : Etanol 96%
 Asal sampel : -
 Tanggal penerimaan : 14 November 2018
 Tanggal pemeriksaan : 14 November 2018

3. Hasil

No	Identifikasi Senyawa	Parameter	Hasil
1.	Flavonoid	Merah Bata, Merah Muda, Merah Tua	Positif
2.	Alkaloid		
	Meyer	Endapan Putih	Positif
	Dragendrof	Endapan Jingga	Positif
	Bouchardat	Endapan Cokelat	Positif
3.	Tanin	Hijau Kehitaman, Biru Kehitaman, Coklat Kehitaman	Positif
4.	Terpenoid		
	Steroid	Hijau Kebiruan	Negatif
	Triterpenoid	Orange, Jingga Kecokelatan	Positif
5.	Saponin	Busa Permanen	Positif

4. Lampiran

Nama Sampel	Flavonoid	Alkaloid		
		Meyer	Dragendrof	Bouchardat
Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)				

Nama Sampel	Tanin	Terpenoid	Saponin
Cengkeh (<i>Syzygium aromaticum</i>)			



Lampiran 17. Hasil Determinasi Tanaman Cengkeh



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

Nomor : 074/ 349A/ 102.7/ 2018
 Sifat : Biasa
 Perihal : **Determinasi Tanaman Cengkeh**

Memenuhi permohonan saudara :

Nama : REGINA AYU FRISTIYANTI
 NIM : 155070607111007
 Fakultas : FAKULTAS KEDOKTERAN
 UNIVERSITAS BRAWIJAYA MALANG

1. Perihal determinasi tanaman cengkeh

Kingdom : Plantae (Tumbuhan)
 Subkingdom : Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
 Super Divisi : Spermatophyta (Menghasilkan biji)
 Divisi : Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
 Kelas : Dicotyledonae
 Bangsa : Myrtales
 Suku : Myrtaceae
 Marga : *Syzygium*
 Jenis : *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry
 Sinonim : *Eugenia aromatica* (L.) Baill. = *Eugenia caryophyllata* Thunb. = *Eugenia caryophyllus* (Spreng.) Bull. & Harr. = *Caryophyllus aromaticus* L. = *Syzygium Perry* = *Jambos caryophyllus*, Spreng.

Nama Umum : Clove (Inggris), cengkeh (Indonesia, Jawa, Sunda), wunga lawang (Bali), cangkik (Lampung), sake (Nias), bungeu lawang (Gayo), cengke (Bugis), sinke (Flores), canke (Ujung Pandang), gomode (Halmahera, Tidore).

Kunci Determinasi: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9b-10b-11b-12b-13b-14b-16a-239b-243b-244b-248b-249b-250a-251b-253b-254b-255b-256b-261a-262b-263b-264b-2b

2. Morfologi : Habitus: Pohon, tinggi 10 m. Batang: Berkayu, bercabang banyak, bulat, mengkilap, masih muda hijau setelah tua keunguan. Daun: Tunggal, bulat telur, ujung dan pangkal runcing, tepi rata, pertulangan menyirip, permukaan atas mengkilap, panjang 6-13.5 cm, lebar 2.5-5 cm, tangkai panjang 1-2 cm, masih muda merah setelah tua hijau. Bunga: Majemuk, malai, tumbuh di ujung batang, kelopak bentuk corong, pangkal berlekatan, mahkota bentuk bintang, panjang 4-5 mm, benang sari banyak, panjang $\pm$ 5 mm, tangkai putik pendek, masih muda hijau setelah tua merah. Buah: Buni, bulat telur, panjang 2-2.5 cm, merah kehitaman. Biji: Kecil, diameter $\pm$ 4 mm, coklat muda. Akar: Tunggang, coklat.

3. Nama Simplisia : *Caryophylli Folium/ Daun Cengkeh.*

4. Kandungan : Daun mengandung saponin, flavonoida, tanin, dan minyak atsiri.

5. Penggunaan : Penelitian.

6. Daftar Pustaka

- Syamsuhidayat, Sri Sugati dan Johny Ria Hutapea. 1991. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia I*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Van Steenis, CGGI. 2008. *FLORA: untuk Sekolah di Indonesia*. Pradnya Paramita, Jakarta.

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

Batu, 09 November 2018

Kepala UPT Materia Medica Batu

Mattalaine
 Dr. Husin R.M., Drs., Apt., M.Kes.
 NIP.196111021991031003



Lampiran 18. Hasil Uji VITEK

17330

Organism Quantity:

Selected Organism : *Candida albicans*

Source: ETT

Collected:

Comments:	

Identification Information	Analysis Time: 17.98 hours	Status: Final
Selected Organism	99% Probability Bionumber: 6102546065327771	<i>Candida albicans</i>
ID Analysis Messages		

Susceptibility Information		Analysis Time: 14.55 hours		Status: Final		
Antimicrobial	#	MIC	Interpretation	Antimicrobial	MIC	Interpretation
Fluconazole		<= 1	S	Micafungin	<= 0.06	S
Voriconazole		<= 0.12	S	Amphotericin B	0.5	S
Caspofungin		<= 0.25	S	Flucytosine	<= 1	S

+= Deduced drug * = AES modified ** = User modified

AES Findings	
Confidence:	Analysis not performed