

LAPORAN PENELITIAN

**“Efektifitas Variasi Perasaan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro”**



Oleh:

Baterun Kunsah, S.T., M.Si.

0711098002

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

2016

LAPORAN PENELITIAN

**“Efektifitas Variasi Perasaan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro”**

Oleh:

Baterun Kunsah, S.T., M.Si.

0711098002

LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGABDIAN MASYARAKAT

UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURABAYA

2016

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian : Efektifitas Variasi Perasaan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Secara In Vitro
Nama Lengkap : Baterun Kunsah, S.T., M.Si.
NIDN : 0711098002
Jabatan Fungsional : Tenaga Pengajar
Perguruan Tinggi Asal : Universitas Muhammadiyah Surabaya
Alamat Institusi : Jl. Sutorejo No.59, Surabaya
Telepon/Fax/Email : 081231155565

Anggota Peneliti (1)
Nama Lengkap : -
NIDN :
Jabatan Fungsional :
Perguruan Tinggi Asal :
Alamat Institusi :
Total Biaya : Rp. 5.000.000,00

Surabaya,

Mengetahui
Dekan Fakultas Ilmu Kesehatan



Nur Mukarromah, S.KM., M.Kes.
NIP. 012.05.1.1972.97.019

Peneliti



Baterun Kunsah, S.T., M.Si.
NIP. 012.05.1.1980.11.065

Menyetujui
Ketua LPPM UMSurabaya



Sujinah, M.Pd.
NIP. 012.02.1.1965.90.004

DAFTAR ISI

COVER	i
LEMBAR PENGESAHAN	ii
DAFTAR ISI	iii
ABSTRAK	1
BAB I	
PENDAHULUAN	2
BAB II	
TINJAUAN PUSTAKA	5
BAB III	
TUJUAN PENELITIAN	20
MANFAAT PENELITIAN	20
BAB IV	
METODE PENELITIAN	21
BAB V	
HASIL	25
LUARAN YANG DICAPAI	27
BAB VI	
RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA	28
BAB VII	
SIMPULAN DAN SARAN	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	
1. Lampiran Keuangan	36
2. Lampiran Jadwal Penelitian	

ABSTRAK

Candida albicans tumbuh sebagai mikroflora normal tubuh manusia pada saluran pencernaan, pernafasan, saluran genital wanita, tetapi jumlah yang tak terkendali dapat menyebabkan infeksi patogen. Buah jeruk nipis mengandung minyak atsiri yang berfungsi sebagai antifungi. Rumusan masalah dalam penelitian ini adalah apakah ada pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*?. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Penelitian bersifat eksperimental dengan variabel terikat pertumbuhan *Candida albicans*, variabel bebas variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Variabel kontrol dalam penelitian ini adalah suhu, media pertumbuhan, kontaminasi jamur lain, jumlah koloni *Candida albicans* yang diberi perlakuan. Penelitian ini menggunakan metode dilusi tabung dengan konsentrasi 100%, 80%, 60%, 40%, 20%. Analisa data statistik menggunakan uji Anova One-Way dengan α (0,05) untuk menentukan ada tidaknya pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dan selanjutnya dilakukan uji Tukey HSD untuk melihat perbedaan dalam tiap perlakuan konsentrasi.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan perasan jeruk nipis konsentrasi 60% merupakan konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dilihat dari pertumbuhan jumlah koloni pada media Sabaroud Dekstrose Agar (SDA).

Kata kunci : *Candida albicans*, jeruk nipis

BAB I

PENDAHULUAN

Candida albicans tumbuh sebagai mikroflora normal tubuh manusia pada saluran pencernaan, pernafasan, saluran genital wanita (Jawetz dkk., 1996). Infeksi jamur yang paling banyak ditemukan disebabkan oleh spesies *Candida* terutama *Candida albicans*. *Candida albicans* adalah spesies jamur yang secara normal terdapat pada permukaan rongga mulut manusia. Menurut penelitian, *Candida albicans* terdapat sekitar 30-40% pada rongga mulut orang dewasa sehat, 45% pada neonatus, 45-65% pada anak-anak sehat, 50-65% pada pasien yang memakai gigi tiruan lepasan, 65-88% pada orang yang mengkonsumsi obat jangka panjang, 90% pada pasien leukemia akut yang menjalani kemoterapi, dan 95% pada pasien HIV/AIDS (Akpan *et al*, 2002). Maka di lapisan mukosa setiap manusia pasti terdapat *Candida albicans*, tetapi jumlah yang tak terkendali dapat menyebabkan masalah.

Candida albicans merupakan oportunistik penyebab sariawan (Kumamoto dan Vines, 2004), lesi pada kulit (Bae *et al.*, 2005), vulvaginistis (Wilson, 2005), *Candida* pada urin (*candiduria*) (Kobayashi *et al.*, 2004), gastrointestinal kandidiasis yang dapat menyebabkan *gastric ulcer* (Brzozowski *et al.*, 2005), atau bahkan dapat menyebabkan komplikasi kanker (Dinuble *et al.*, 2005).

Infeksi *Candida albicans* dapat diatasi dengan menggunakan obat antifungi yang bisa didapat dengan atau tanpa resep dokter, antara lain antifungi *polyene*, antifungi *azole*, *flucytosine*, dan antifungi *echynocandin*. Obat-obatan tersebut mengganggu keutuhan membran ergosterol atau dinding sel jamur yang pada akhirnya akan menyebabkan kematian *Candida albicans* (Klepser, 2001).

Tak hanya obat-obatan dari dokter, ada juga pengobatan alami yang mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Salah satunya menggunakan perasan jeruk nipis.

Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) adalah jenis tanaman perdu yang banyak tumbuh di Indonesia. Jeruk nipis tak hanya digunakan sebagai minuman, dapat juga digunakan sebagai obat disentri, sembelit, ambeien, haid, suara serak batuk, ketombe, flu/demam. Di dalam buah jeruk nipis terkandung banyak senyawa kimia yang bermanfaat seperti asam sitrat, asam amino (*triptofan* dan *lisin*), minyak atsiri (*limonene*, *linalin asetat*, *geranil asetat*, *felandren*, *sitral*, *lemon kamfer*, *kadinen*, *aktialdehid* dan *anildehid*), vitamin A, B1 dan vitamin C (Ibukun A. *et al.* 2007). Dari hasil penelitian sebelumnya, yang dilakukan oleh Ibukun A. *et al.* 2007 diperoleh hasil bahwa ekstrak dari jeruk nipis memiliki aktivitas antimikrobal yang tinggi.

Berdasarkan hal tersebut, peneliti ingin menggunakan perasan jeruk nipis untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan variasi konsentrasi. Dilihat dari sisi perkembangannya, jeruk nipis banyak tumbuh di Indonesia sehingga mudah didapat dan harganya pun terjangkau. Maka peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan judul “Pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*”.

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

2.2.1 Taksonomi Jeruk nipis

Secara taksonomi, tanaman *Citrus aurantifolia* termasuk dalam klasifikasi sebagai berikut (Ferguson, 2002) :

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Divisi	: <i>Spermatophyta</i>
Subdivisi	: <i>Angiospermae</i>
Kelas	: <i>Dicotyledonae</i>
Ordo	: <i>Rutales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus aurantifolia</i> (<i>Cristm.</i>) Swingle



Gambar 2.1 Buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)(Saraf S, 2006).

Jeruk nipis memiliki beberapa nama yang berbeda di Indonesia, antara lain jeruk nipis (Sunda), jeruk pecel (Jawa), jeruk dhurga (Madura), lemo (Bali), mudutelong (Flores) dan lain sebagainya. Jeruk nipis merupakan tumbuhan obat

dari *family Rutaceae*. Dalam pengobatan tradisional digunakan antara lain sebagai peluruh dahak dan obat batuk (Sarwono B, 2006).

2.2.2 Morfologi jeruk nipis

Jeruk nipis termasuk salah satu jenis citrus genuk yang termasuk jenis tumbuhan perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting. Tingginya sekitar 0,5-3,5 meter. Batang pohonnya berkayu ulet, berduri dan keras, sedangkan permukaan kulit luarnya berwarna tua dan kusam. Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat. Bunganya berukuran majemuk/tunggal yang tumbuh di ketiak daun atau di ujung batang dengan diameter 1,5-2,5 cm. Buahnya berbentuk bulat sebesar bola pingpong dengan diameter 3,5-5 cm, berwarna (kulit luar) hijau atau kekuning-kuningan. Buah jeruk nipis yang sudah tua rasanya asam. Tanaman jeruk umumnya menyukai tempat-tempat yang dapat memperoleh sinar matahari langsung (Dalimartha S, 2006).

2.2.3. Kandungan dan manfaat Jeruk Nipis

Buah jeruk nipis mengandung bahan kimia diantaranya asam sitrat sebanyak 7-7,6%, damar lemak, mineral, vitamin B1, minyak terbang (minyak atsiri atau *essensial oil*). Minyak esensial sebesar 7% mengandung sitrat limonene, fellandren, lemon kamfer, geranil asetat, cadinen, linalin asetat, flavonoid, seperti poncirin, hesperidine, rhoifolin, dan naringin. Selain itu, jeruk nipis juga mengandung vitamin C sebanyak 27 mg/100 g jeruk, ca sebanyak 40mg/100 g jeruk dan pospat sebanyak 22 mg (Hariana HA, 2008).

Manfaat dari komponen-komponen kimia tersebut sangat beragam, diantaranya vitamin C membantu penyembuhan dan perbaikan jaringan gingiva. Minyak atsiri mempunyai fungsi sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri

yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* dan golongan *Candida albicans* (Aibinu I, 2007).

2.2.3.1 Minyak atsiri

Minyak atsiri disebut juga minyak eteris adalah minyak yang bersifat mudah menguap, yang terdiri dari campuran yang mudah menguap, dengan komposisi dan titik didih berbeda-beda. Setiap substansi yang dapat menguap memiliki titik didih dan tekanan uap tertentu dan dalam hal ini dipengaruhi oleh suhu. Pada umumnya tekanan uap yang rendah dimiliki oleh persenyawaan yang memiliki titik didih tinggi (Guenther, 2006). Minyak Atsiri, atau dikenal juga sebagai Minyak Eteris (*Aetheric Oil*), Minyak Esensial, Minyak Terbang, serta Minyak Aromatik, adalah kelompok besar minyak nabati yang berwujud cairan kental pada suhu ruang namun mudah menguap sehingga memberikan aroma yang khas.

2.2.3.2 Asam amino

Asam amino adalah persenyawaan yang dapat menjadi struktur protein. Selama perkembangan buah, kandungan asam amino berubah-ubah secara kuantitatif dan kualitatif. Buah jeruk manis Valencia dan Washinton, semakin tua kandungan prolinenya makin tinggi.

2.2.3.3 Asam sitrat

Kandungan asam sitrat jeruk manis pada waktu muda cukup banyak, tetapi sesudah buah masak makin berkurang. Cairan buah jeruk manis mengandung asam malat 1,4-1,8 mgm per liter.

2.2.3.4 Vitamin

Pada umumnya, buah jeruk merupakan sumber vitamin C yang berguna untuk kesehatan manusia. Sari buah jeruk mengandung 40-70 mgm vitamin C per 100

cc, tergantung pada jenisnya. Makin tua buah jeruk, biasanya makin berkurang kandungan vitamin C nya. Vitamin C terdapat dalam sari buah, daging, dan kulit, terutama terdapat pada bagian *flavedo* atau *exocarp* (lapisan terluar kulit buah) (Pracaya, 2003).

2.2 *Candida albicans*

Jamur oportunistik patogen seperti *Candida albicans*, dapat ditemukan di dalam flora usus normal dan mukosa rongga mulut manusia yang paling sehat (Biswas et al, 2007). *Candida albicans* juga dapat ditemukan dalam rongga mulut, saluran pencernaan, dan vagina yang merupakan mikroorganisme oportunistik patogen (Hirawasa and Takada, 2004). Menurut penelitian, prevalensi *candida* di dalam rongga mulut manusia sehat berkisar dari 40% sampai 60%. Ketika kondisi badan yang buruk defisiensi lokal atau sistemik pertahanan tubuh yang menurun, *candida* dapat berkembang biak sehingga bisa menimbulkan infeksi patologis pada jaringan mukosa (Samaranayake. 2009).

Oral hygiene yang buruk dapat meningkatkan prevalensi *Candida albicans*. Diet karbohidrat dan gula yang tinggi juga akan mengubah suasana mulut menjadi asam, dan ini merupakan habitat yang baik untuk pertumbuhan *Candida albicans*. Terdapat sekitar 30% - 40% pada rongga mulut orang dewasa sehat, 45% pada neonatus, 45-65% pada anak-anak sehat, 50-65% pada pasien yang memakai gigi tiruan lepasan, 65-88% pada orang yang mengkonsumsi obat jangka panjang, 90% pada pasien leukemia akut yang menjalani kemoterapi, dan 95% pada pasien HIV/AIDS (Akpan et al, 2002).

Candida albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Hifa semu terbentuk dengan banyak

kelompok blastospora berbentuk bulat atau lonjong di sekitar septum. Pada beberapa strain, blastospora berukuran besar, berbentuk bulat atau seperti botol, dalam jumlah sedikit. Sel ini dapat berkembang menjadi klamidospora yang berdinding tebal dan bergaris tengah. *Candida albicans* tumbuh pada variasi pH yang luas, tetapi pertumbuhannya akan lebih baik pada pH antara 4,5-6,5. Jamur ini dapat tumbuh dalam pembedahan pada suhu 28°C - 37°C (Tjampakasari, 2006).

Jamur ini merupakan organisme anaerob fakultatif yang mampu melakukan metabolisme sel, baik dalam suasana anaerob maupun aerob. Proses peragian (fermentasi) pada *Candida albicans* dilakukan dalam suasana aerob dan anaerob. Karbohidrat yang tersedia dalam larutan dapat dimanfaatkan untuk melakukan metabolisme sel dengan cara mengubah karbohidrat menjadi CO₂ dan H₂O dalam suasana aerob. Dalam suasana anaerob, hasil fermentasi adalah berupa asam laktat atau etanol dan CO₂. Proses akhir fermentasi anaerob menghasilkan persediaan bahan bakar yang diperlukan untuk proses oksidasi dan pernafasan. Pada proses asimilasi, karbohidrat dipakai oleh *Candida albicans* sebagai sumber karbon maupun sumber energi untuk melakukan pertumbuhan sel (Anaisie, 2007).

2.2.1 Klasifikasi *Candida albicans*

Secara taksonomi *Candida albicans* diklasifikasikan menjadi (Akpan and Morgan, 2002) :

Divisi : Deuteromycetes
Subdivisio : Fungi
Ordo : Moniliales
Family : Cryticoccaceae
Subfamili : Candidodea
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans*

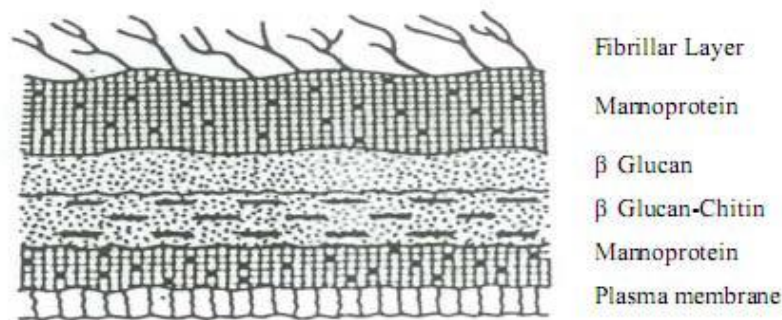


Gambar 2.2 *Candida albicans* (McGinnis,2000).

2.2.2 Struktur fisik *Candida albicans*

Dinding sel *Candida albicans* berfungsi sebagai pelindung dan target dari beberapa antimikotik. Dinding sel juga berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utama dinding sel tersebut adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. *Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks, tebalnya 100 sampai 400 nm (Darmani, 2003). Komposisi primer terdiri dari glukukan, manan dan khitin. Manan dan protein berjumlah sekitar 15,2-30% dari berat kering dinding sel, β -1,3-D-glukan dan β -1,6-D-glukan sekitar 47-60%, khitin sekitar 0,6-9%, protein

6-25% dan lipid 1-7%. Dalam bentuk ragi, kecambah dan miselium, komponen-komponen ini menunjukkan proporsi yang serupa tetapi bentuk miselium memiliki khitin tiga kali lebih banyak dibandingkan dengan sel ragi. Dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda (Tjampakasari, 2006).



Gambar 2.3 Skema dinding sel *Candida albicans* (Tjampakasari, 2006).

Membran sel *Candida albicans* seperti sel eukariotik lainnya terdiri dari lapisan fosfolipid ganda. Membran protein ini memiliki aktifitas enzim seperti manan sintase, khitin sintase, glukon sintase, ATPase, aspartil protease dan protein yang mentransport fosfat. Terdapatnya membran sterol pada dinding sel memegang peranan penting sebagai target antimikotik dan kemungkinan tempat bekerjanya enzim-enzim yang berperan dalam sintesis dinding sel. Mitokondria *Candida albicans* merupakan pembangkit daya sel, dengan menggunakan energi yang diperoleh dari penggabungan oksigen dengan molekul-molekul makanan, organel ini memproduksi ATP (Darmani, 2003).

Seperti halnya pada eukariot lain, nukleus *Candida albicans* merupakan organel paling menonjol dalam sel. Organ ini dipisahkan dari sitoplasma oleh membran yang terdiri dari dua lapisan. Semua DNA kromosom disimpan dalam nukleus, terkemas dalam serat-serat kromatin. Isi nukleus berhubungan dengan sitosol melalui pori-pori nukleus. Vakuola berperan dalam sistem pencernaan sel,

sebagai tempat penyimpanan lipid dan granula polifosfat. Mikrotubul dan mikrofilamen berada dalam sitoplasma. Pada *Candida albicans* mikrofilamen berperan penting dalam terbentuknya perpanjangan hifa (Tjampakasari, 2006).

2.2.3 Struktur genetik *Candida albicans*

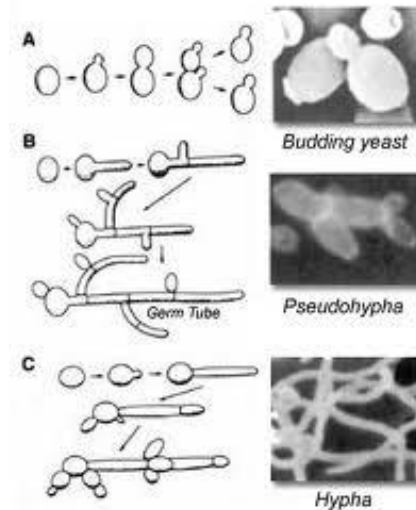
Candida albicans mempunyai genom diploid. Kandungan DNA yang berasal dari sel ragi pada fase stasioner ditemukan mencapai 3,55 µg/108 sel. Ukuran kromosom *Candida albicans* diperkirakan berkisar antara 0,95-5,7 Mbp. Beberapa metode menggunakan *Alternating Field Gel Electrophoresis* telah digunakan untuk membedakan *strain Candida albicans*. Perbedaan strain ini dapat dilihat pada pola pita yang dihasilkan dan metode yang digunakan. *Strain* yang sama memiliki pola pita kromosom yang sama berdasarkan jumlah dan ukurannya (Calderone, 2002).

Terdapat 17 *strain* isolate *Candida albicans* dari kasus kandidosis. Dengan metode elektroforesis, 17 isolat *Candida albicans* tersebut dikelompokkan menjadi enam tipe. Adanya variasi dalam jumlah kromosom kemungkinan besar adalah hasil dari *chromosome rearrangement* yang dapat terjadi akibat delesi, adisi, atau variasi dari pasangan yang homolog. Peristiwa ini merupakan hal sering terjadi dan merupakan bagian dari daur hidup normal berbagai macam organisme. Hal ini juga sering kali menjadi dasar perubahan sifat fisiologis, serologis maupun virulensi (Calderone, 2002).

2.2.4 Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans memiliki tiga bentuk morfologi yaitu : (Handayani dkk, 2010)

1. *Blastophere* (Ragi berbentuk sel). Terlihat kumpulan sel berbentuk bulat atau oval dengan variasi ukuran lebar 2-8 μ m, dengan panjang 3-14 μ m, dan diameter 1,5-5 μ m. sering ditemukan di rongga mulut dan jarang ditemukan berbahaya.
2. *Pseudohyphae* (mycelial), sel membentuk ekor panjang pada perkembangan biakan serum manusia. Miselium adalah bentuk dari kumpulan hifa.
3. *Clamidospore* (hypae), dinding sel bulat dengan diameter 8-12 μ m, terdiri dari sel-sel bodies yang tertutup dinding refraktil yang tebal dengan diameter keseluruhan 7-17 μ m.



Gambar 2.4 Gambaran *Candida albicans* dari bentuk *budding yeast* (A), bentuk *pseudohyphae* (B), bentuk *clamidospore* (*hypae*) (C) (Jessop,2010)

2.2.5 Biakan *Candida albicans*

Candida albicans dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Pada kondisi anaerob, *Candida albicans* mempunyai waktu generasi yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Walaupun *Candida albicans* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan pertumbuhan lebih tinggi pada media cair dengan digoyang pada suhu 37°C. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Biswas dan Chaffin, 2005). Pada media *Sabaroud Dextrose Agar* atau glucose-yeast extract- peptone water *Candida albicans* berbentuk bulat atau oval yang biasa disebut dengan bentuk khamir dengan ukuran (3,5-6) x (6-10) µm. Koloni berwarna krem, agak mengkilat dan halus. Pada media cornmeal agar dapat membentuk chlamydospora dan lebih mudah dibedakan melalui bentuk pseudomycelium (bentuk filamen). Pada pseudomycelium terdapat kumpulan blastospora yang bisa terdapat pada bagian terminal atau intercalary (Lodder, 1970). Kemampuan *Candida albicans* untuk tumbuh baik pada suhu 37°C memungkinkannya untuk tumbuh pada sel hewan dan manusia. Sedangkan bentuknya yang dapat berubah, bentuk khamir dan filamen, sangat berperan dalam proses infeksi ke tubuh inang.

2.2.6 Patologi dan Manifestasi Klinik

Pada manusia, *Candida albicans* sering ditemukan di dalam mulut, feses, kulit dan di bawah kuku orang sehat. *Candida albicans* dapat membentuk blastospora dan hifa, baik dalam biakan maupun dalam tubuh. Bentuk jamur di dalam tubuh dianggap dapat dihubungkan dengan sifat jamur, yaitu sebagai saproba tanpa menyebabkan kelainan atau sebagai parasit patogen yang menyebabkan kelainan dalam jaringan (Tjampakasari, 2006).

Bentuk blastospora diperlukan untuk memulai suatu lesi pada jaringan. Sesudah terjadi lesi, dibentuk hifa yang melakukan invasi. Dengan proses tersebut terjadilah reaksi radang. Pada kandidosis akut biasanya hanya terdapat blastospora, sedang pada yang menahun didapatkan miselium (Tjampakasari, 2006).

Hal ini dapat dipergunakan untuk menilai hasil pemeriksaan bahan klinik, misalnya dahak, urin untuk menentukan stadium penyakit. Kelainan jaringan yang disebabkan oleh *Candida albicans* dapat berupa peradangan, abses kecil atau granuloma. Pada kandidosis sistemik, alat dalam yang terbanyak terkena adalah ginjal, yang dapat hanya mengenai korteks atau korteks dan medulla dengan terbentuknya abses kecil-kecil berwarna keputihan (Calderone, 2002).

Organ dalam lainnya yang juga dapat terkena adalah hati, paru-paru, limpa dan kelenjar gondok. Mata dan otak sangat jarang terinfeksi. Kandidosis jantung berupa poliferasi pada katup-katup atau granuloma pada dinding pembuluh darah koroner atau miokardium. Pada saluran pencernaan tampak nekrosis atau ulkus yang kadang-kadang sangat kecil sehingga sering tidak terlihat pada pemeriksaan. Manifestasi klinik infeksi *Candida albicans* bervariasi tergantung dari organ yang diinfeksi. Antara tipe kandidosis yang disebabkan oleh *Candida albicans* adalah kandidosis kulit, kandidosis kuku, kandidosis pencernaan, kandidosis vagina dan kandidosis paru (Aurora, 2009).

2.2.7 Infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*

Kandidiasis (Kandidosis) adalah infeksi primer atau sekunder dari genus *Candida* yang penting karena *Candida albicans*. Kandidiasis superfisialis adalah kandidiasis pada dermatomikosis superfisialis, yang sering dijumpai yaitu :

2.2.6.1 Mengenai mukosa

a. Kandidiasis oral (KO)

1. Kandidiasis pseudomembran akut (*thrush*)

Tampak plak/pseudomembran, putih seperti sari susu, mengenai mukosa bukal, lidah dan permukaan oral lainnya. Pseudomembran tersebut terdiri atas kumpulan hifa dan sel ragi, sel radang, bakteri, sel epitel, debris makanan dan jaringan nekrotik. Bila plak diangkat tampak dasar mukosa eritematosa atau mungkin berdarah dan terasa nyeri sekali.

2. Kandidiasis eritema

a) Kandidiasis atrofi akut (stomatitis antibiotik)

Disebut juga *midline glossitis*, kandidosis antibiotik, *glossodynia*, *antibiotic tongue*, kandidosis eritematosa akut. Mungkin merupakan kelanjutan kandidiasis pseudomembran akut akibat menumpuknya pseudomembran. Daerah yang terkena tampak khas sebagai lesi eritematosa, simetris, tepi berbatas tidak teratur pada permukaan dorsal tengah lidah, sering hilangnya papilla lidah dengan pembentukan pseudomembran minimal dan ada rasa nyeri. Sering berhubungan dengan pemberian antibiotik spektrum luas, kortikosteroid sistemik, inhalasi maupun topikal.

b) Kandidiasis atrofi kronis (stomatitis gigi palsu dan glossitis)

Disebut juga *denture stomatitis*, *denture-sore mouth*. Bentuk tersering pada pemakai gigi palsu (1 di antara 4 pemakai) dan 60% di atas usia 65 tahun, serta wanita lebih sering terkena. Gambaran khas berupa eritema kronis dan edema di sebagian palatum di bawah prostesis maksilaris. Ada 3 stadium yang berawal dari lesi bintik-bintik (*pinpoint*) yang hiperemia, terbatas pada asal duktus kelenjar mukosa palatum. Kemudian dapat meluas sampai hiperemia generalisata dan peradangan seluruh area yang menggunakan gigi palsu. Bila tidak diobati pada tahap selanjutnya terjadi hiperplasia papilar granularis. Kandidiasis atrofi kronis sering disertai kheilosis kandida, tidak menunjukkan gejala atau hanya gejala ringan. *C.albicans* lebih sering ditemukan pada permukaan gigi palsu daripada di permukaan mukosa. Bila ada gejala, umumnya pada pasien dengan peradangan granular atau generalisata, keluhan dapat berupa rasa terbakar, pruritus dan nyeri ringan sampai berat

3. Kandidiasis hiperplastik kronis (Kandida leukoplakia)

Gejala bervariasi dari bercak putih, yang hampir tidak teraba sampai plak kasar yang melekat erat pada lidah, palatum atau mukosa bukal. Keluhan umumnya rasa kasar atau pedih di daerah yang terkena. Tidak seperti pada kandidiasis pseudomembran, plak disini tidak dapat dikerok. Harus dibedakan dengan leukoplakia oral oleh sebab lain yang sering dihubungkan dengan rokok sigaret dan keganasan. Terbanyak pada pria, umumnya di atas usia 30 tahun dan perokok.

4. Angular kheilitis (*Perleche*, Kandida kheilosis)

Sinonim *perleche*, *angular cheilitis*, *angular stomatitis*. Khas ditandai eritema, fisura, maserasi dan pedih pada sudut mulut. Biasanya pada mereka yang mempunyai kebiasaan menjilat bibir atau pada pasien usia lanjut dengan kulit yang kendur pada komisura mulut. Juga karena hilangnya dimensi vertikal pada 1/3 bawah muka karena hilangnya susunan gigi atau pemasangan gigi palsu yang jelek dan oklusi yang salah. Biasanya dihubungkan dengan kandidiasis atrofi kronis karena pemakaian gigi palsu.

b. Kandidiasis vulvovaginalis (Kandida vulvovaginitis/KVV)

Keluhan sangat gatal atau pedih disertai keluar cairan yang putih mirip krim susu/keju, kuning tebal, tetapi dapat cair seperti air atau tebal homogen dan tampak pseudomembran abu-abu putih pada mukosa vagina. Lesi bervariasi, dari reaksi eksema ringan dengan eritema minimal sampai proses berat dengan pustul, eksoriasi dan ulkus, serta dapat meluas mengenai perineum, vulva, dan seluruh area inguinal. Sering dijumpai pada wanita hamil, dan pada wanita tidak hamil biasanya keluhan dimulai seminggu sebelum menstruasi. Gatal sering lebih berat bila tidur atau sesudah mandi air hangat. Umumnya didapati disuria dan dispareunia superfisial. Dapat juga terjadi vulvitis tanpa disertai infeksi vagina. Umumnya vulva eritema dengan fisura yang sering lokalisata pada tepi mukosa introitus vagina, tetapi dapat meluas mengenai labia mayora. Intertrigo perineal dengan lesi vesikular dan pustul dapat terjadi.

c. Kandida balanitis / Kandida balanoposthitis

Balantis adalah infeksi di glans penis, postitis adalah infeksi di prepusium. Tampak erosi merah superfisialis dan pustul berdinding tipis di atas glans penis, sulkus koronarius (balanitis) dan pada prepusium penis yang tidak disirkumsisi (balanopostitis). Papul kecil tampak pada glans penis beberapa jam sesudah berhubungan seks, kemudian menjadi pustul putih atau vesikel dan pecah meninggalkan tepi yang mengelupas. Bentuk ringan ini biasanya berhubungan dengan rasa pedih sedikit dan iritasi. Pada bentuk lanjut tampak bercak putih susu di glans penis, sulkus koronarius dan kadang-kadang di batang penis. Dapat meluas ke skrotum, paha dan seluruh area inguinalis, terutama pada udara panas. Pada kasus berat lesi tampak pada epitel uretra, lesi di penis susah hilang dan menetap pada glans serta prepusium, yang akan menghambat aktifitas seks karena rasa pedih (Sunarso, 2013).

2.2.6.2 Mengenai kulit

a. Kandidiasis intertriginosa (kandida intertrigo) dan Kandidiasis generalisata mengenai daerah pelipitan-pelipitan badan, umbilikus, pannikulus (lipatan lemak badan) dan dapat meluas ke kulit badan (generalisata). Dapat mengenai skrotum dan penis. Kulit nyeri, inflamasi, eritematus dan ada satelit vesikel/pustul, bula atau papulopustular yang pecah meninggalkan permukaan yang kasar dengan tepi yang erosi.

b. Paronikhia dan Onikomikosis

1. Kandida paronikhia

Infeksi lipitan kuku proksimal atau kutikula, khas adanya eritema, oedema, dan cairan purulen, tebal, pus putih, membentuk kantong yang mungkin menyebabkan infeksi kuku. Infeksi ini mampu menimbulkan rasa nyeri. Banyak menginfeksi orang yang tanganya sering terkena air, tepung, karbohidrat lain.

2. Kandida onikomikosis (Kandida onikhia)

Gejala klinis (diskromia unguium = perubahan warna kuku, onikolisis = lepasnya lempeng kuku dari dasar kuku, hipertropia unguium = penebalan lempeng kuku) dimulai kuku proksimal dengan tekanan dan gerakan kuku terasa nyeri. Dapat dengan atau tanpa paronikia (Dwi Murtiastutik, 2009).

2.2.8 Faktor predisposisi pada infeksi *Candida albicans*

Infeksi *Candida* merupakan infeksi oportunistik yang dimungkinkan karena menurunnya pertahanan tubuh pejamu. Faktor – faktor predisposisi yang dihubungkan dengan meningkatnya insidensi dan infeksi *Candida* yaitu :

1. Faktor mekanis

Trauma (luka bakar, abrasi, pemakaian IUD, meningkatnya frekuensi koutis) dan oklusi lokal, kelembaban atau maserasi (gigi palsu, pakaian sintetik/ketat atau balut tertutup, kegemukan).

2. Faktor nutrisi

Avitaminosis, defisiensi besi, malnutrisi.

3. Perubahan fisiologi

Umur sangat muda/sangat tua, kehamilan, menstruasi.

4. Penyakit sistemik

Diabetes mellitus dan endokrinopathies tertentu lainnya, uremia, malignasi dan keadaan immunodefisiensi intrinsik (misalkan infeksi HIV/AIDS).

5. Penyebab latrogenik

Faktor barrier lemah (pemasangan kateter, penyalahgunaan obat iv.), radiasi sinar x, obat-obatan oral, parenteral, topikal dan aerosol (kortikosteroid dan immunosupresi lainnya, antibiotika spektrum luas, metronidasol, transkuilaiser, kontrasepsi oral/estrogen, kolkhsin, phenilbutason dan histamine 2-blocker).

6. Idiopatik

Kemampuan ragi berubah bentuk menjadi hifa dianggap sebagai mekanisme patogen primer dan terbukti bila bentuk hifa melekat lebih kuat pada permukaan epitel, namun, sekarang diketahui bahwa bentuk ragi (yeast) mampu invasi dan tidak lagi dianggap hanya sebagai komensial (Dwi Murtiastutik, 2009).

2.2.9 Pembentukan Biofilm

Kemampuan suatu mikroorganisme untuk mempengaruhi lingkungannya diantaranya tergantung pada kemampuannya untuk membentuk suatu komunitas. *Candida albicans* membentuk komunitasnya dengan membentuk ikatan koloni yang disebut biofilm (Nabile dan Mitchell, 2005). Menurut Mukherjee *et al.*, 2005) biofilm merupakan koloni mikroba (biasanya penyebab suatu penyakit) yang membentuk matrik polimer organik yang dapat digunakan sebagai penanda pertumbuhan mikroba. Biofilm tersebut dapat berfungsi sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk biofilm biasanya mempunyai resistensi terhadap antimikroba biasa atau menghindar dari sistem kekebalan sel inang. Berkembangnya biofilm biasanya seiring dengan bertambahnya infeksi klinis

pada sel inang sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi. Pembentukan biofilm dapat dipacu dengan keberadaan serum dan saliva dalam lingkungannya (Nikawa *et al.*, 1997).

Hasil scanning mikroskop electron menunjukkan bahwa biofilm *Candida albicans* yang matang berisi sel dalam bentuk khamir maupun hifa yang menyisip dan terikat rapat pada bahan ekstraseluler yang biasanya berbentuk fibrous (Andes *et al.*, 2004). Secara struktur, biofilm terbentuk dari dua lapisan yaitu lapisan basal yang tipis dan merupakan lapisan khamir dan lapisan luar yaitu lapisan hifa yang lebih tebal tetapi lebih renggang. *Hifa-mutant* memproduksi lapisan basal saja sementara *khamir-mutant* memproduksi lapisan hifa. Biofilm dari *khamir-mutant* yang mudah dihilangkan dari permukaan sel membuktikan bahwa lapisan basal merupakan lapisan biofilm yang penting dalam perlekatan pada permukaan. Di samping itu, biofilm yang dibentuk pada permukaan filter selulosa mempunyai penampakan yang berbeda. *Hifa-mutant* dan *wild-type* mampu memproduksi lapisan khamir dan *khamir-mutant* memproduksi lapisan hifa yang rapat pada permukaan filter. Hasil tersebut membuktikan bahwa struktur biofilm *Candida albicans* tergantung pada keadaan permukaan tempat kontak (Baillie and Douglas, 1999). Faktor lain yang mempengaruhi pembentukan biofilm *Candida albicans* diantaranya adalah, ketersediaan udara. Ketersediaan udara akan mendukung pembentukan biofilm. Pada kondisi anaerob, *Candida albicans* dapat membentuk hifa tetapi tidak mampu membentuk biofilm (Biswas dan Chaffin, 2005).

Pembentukan biofilm *Candida albicans* dimulai dengan perlekatan sel *Candida albicans* pada sel inang yang berlangsung antara 0–2 jam. Proses tersebut diikuti dengan germinasi dan pembentukan

mikrokoloni (2–4 jam). Yang diteruskan dengan pembentukan hifa (4–6 jam). Benang–benang hifa tersebut membentuk monolayer (6–8 jam) yang akan berproliferasi (8–24 jam) untuk kemudian mengalami maturasi (24–48 jam). Ketersediaan saliva dan serum pada masa pra–pembentukan biofilm meningkatkan perlekatan *Candida albicans* terhadap sel inang tetapi kurang berpengaruh pada pembentukan biofilm (Ramage *et al.*, 2001). Mekanisme probiotik dilaporkan dapat menghambat kolonisasi tetapi belum ada laporan bahwa probiotik dapat menghambat pembentukan biofilm (Meurman, 2005).

2.3 Mekanisme kandungan kimia buah jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Candida albicans*

Banyak orang yang tau, bahwa jeruk nipis mempunyai banyak manfaat yang lebih. Salah satunya mampu menghambat pertumbuhan aktivitas jamur *Candida albicans*. Dapat kita lihat dari kandungan kimia buah jeruk nipis terkandung banyak senyawa kimia yang bermanfaat seperti asam sitrat, asam amino (*triptofan* dan *lisin*), minyak atsiri (*limonene*, *linalin asetat*, *geranil asetat*, *fellandren*, *sitral*, *lemon kamfer*, *kadinen*, *aktialdehid* dan *anildehid*), vitamin A, B1 dan vitamin C (Ibukun A. *et al.* 2007). Minyak atsiri mempunyai fungsi sebagai antibakteri terhadap beberapa bakteri yaitu *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Salmonella typhi* dan golongan *Candida albicans* (Aibinu I, 2007). Komponen *limonene* yang terdapat dalam minyak atsiri memiliki efek antifungi yang cukup baik (Chee *et al.*, 2009). Dari penelitian sebelumnya didapatkan hasil bahwa ekstrak jeruk nipis memiliki aktivitas antimikrobial yang

tinggi. Hal ini terlihat dari kemampuannya menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur.

2.4 Uji aktivitas antifungi *in Vitro*

Uji aktivitas antifungi serupa dengan uji untuk bakteri, dimana spora fungi atau miselium fungi dilarutkan pada larutan agen antimikroba uji, dan selanjutnya pada interval waktu tertentu disubkultur pada media yang sesuai. Setelah diinkubasi, pertumbuhan fungi pun diamati dan diukur diameter yang terbentuk (Krisno A, 2011). Metode untuk uji aktivitas antifungi meliputi :

2.4.1 Metode Dilusi

Metode dilusi dibedakan menjadi dua yaitu dilusi cair (*broth dilution*) dan dilusi padat (*solid dilution*).

2.4.1.1 Metode Dilusi Cair / *Broth Dilution Test* (serial dilution)

Metode ini bertujuan mengukur MIC (*minimum inhibitory concentration*). Cara yang dilakukan adalah dengan membuat seri pengenceran agen antifungi apa medium cair yang ditambahkan dengan jamur uji. Larutan uji agen antifungi apa kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan jamur uji ditetapkan sebagai KHM, selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan jamur uji ataupun agen antifungi, dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair tetap terlihat jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai KBM (Krisno A, 2011).

2.4.1.2 Metode Dilusi Padat

Metode ini serupa dengan metode dilusi cair namun menggunakan media padat (*solid*) (Krisno A, 2011).

2.4.2 Metode Difusi

Metode yang lazim digunakan adalah metode *disc diffusion* (Tes Kirby dan Bauer) (Hudzicki J., 2010). Metode ini digunakan untuk menentukan aktivitas agen antifungi. Kertas cakram yang berisi agen antifungi diletakkan pada media agar yang telah diinokulasi dengan mikroorganisme uji yang kemudian akan berdifusi pada media agar tersebut. Selanjutnya media agar diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan kemudian dilakukan pengamatan terhadap area jernih di sekitar kertas cakram. Area jernih mengindikasikan adanya hambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh agen antifungi pada permukaan media agar (Hudzicki J., 2010; Krisno A., 2011).

BAB III

TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN

3.1. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan umum

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

1.3.2 Tujuan khusus

1.3.2.1 Untuk menganalisis perbedaan jumlah koloni jamur *Candida albicans* pada media *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA) yang telah diberi perasan jeruk nipis 20%, 40%, 60%, 80%, 100%.

1.3.2.2 Untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimal (KBM) pada media *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA) yang telah diberi perasan jeruk nipis 20%, 40%, 60%, 80%, 100%.

3.2. Manfaat Penelitian

1.4.1 Bagi masyarakat

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan dan masukan kepada masyarakat untuk dapat memanfaatkan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam pencegahan penyakit yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans*.

1.4.2 Bagi Produsen

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan informasi kepada produsen untuk dapat menggunakan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

sebagai salah satu alternatif obat untuk penyakit yang disebabkan oleh *Candida albicans*.

1.4.3 Bagi Peneliti

Diharapkan hasil penelitian ini dapat memberikan wawasan baru kepada peneliti lain bahwa jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) memiliki berbagai macam manfaat salah satunya dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

1.4.4 Bagi Prodi D3 Analis Kesehatan

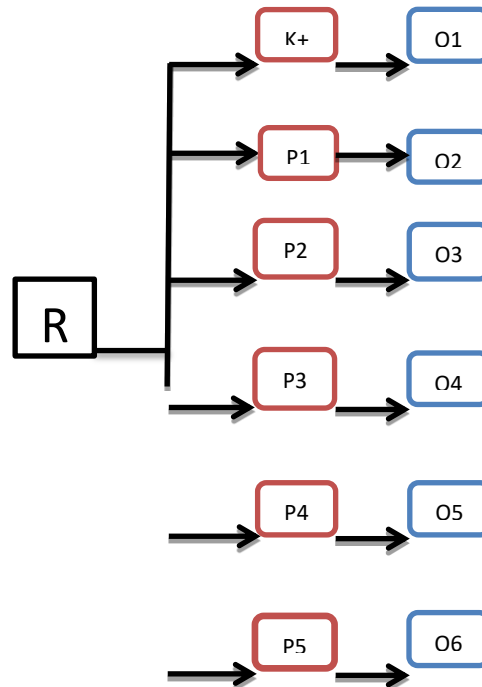
Diharapkan hasil penelitian ini dapat dijadikan sebagai tambahan pengetahuan bagi mahasiswa Prodi D3 Analis Kesehatan dan menambah koleksi bagi perpustakaan.

BAB IV METODE PENELITIAN

3.1 4.1 Jenis Penelitian

Rancangan penelitian yang digunakan adalah bersifat *eksperimental*, yaitu untuk mengetahui adanya pengaruh variasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan variasi konsentrasi terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

Desain penelitian sebagai berikut :



Gambar 3.1 Desain penelitian (Sudjana,1994)

Keterangan :

R : Random

K+ : Kontrol positif , tanpa pemberian perasan jeruk nipis

P1 : Pemberian perasan jeruk nipis 20%

P2 : Pemberian perasan jeruk nipis 40%

P3 : Pemberian perasan jeruk nipis 60%

P4 : Pemberian perasan jeruk nipis 80%

P5 : Pemberian perasan jeruk nipis 100%

O1 : Observasi tanpa pemberian perasan jeruk nipis

- O2 : Observasi setelah pemberian perasan jeruk nipis 20%
- O3 : Observasi setelah pemberian perasan jeruk nipis 40%
- O4 : Observasi setelah pemberian perasan jeruk nipis 60%
- O5 : Observasi setelah pemberian perasan jeruk nipis 80%
- O6 : Observasi setelah pemberian perasan jeruk nipis 100%

3.2 Populasi dan Sampel penelitian

3.2.1 Populasi Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah biakan jamur *Candida albicans* yang ditanam pada perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*).

3.2.2 Sampel Penelitian

Sampel dalam penelitian ini adalah biakan jamur *Candida albicans* yang ditanam pada perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*). Sampel diambil secara random (acak). Terdapat 6 perlakuan konsentrasi dari perasan jeruk nipis dan setiap konsentrasi dilakukan minimal 4 pengulangan untuk setiap perlakuan. Yang diperoleh berdasarkan rumus.(Notobroto,2005)

Hasil replikasi sebagai berikut :

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

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n-6 \geq 15$$

$$6n \geq 21 \rightarrow n \geq 3,5 \approx 4$$

Keterangan:

p = jumlah perlakuan

n = jumlah sampel

3.3 Lokasi dan Waktu Penelitian

3.3.1 Lokasi Penelitian

Lokasi penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Prodi D3 Analisis Kesehatan Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Surabaya Jl. Sutorejo no. 59 Surabaya.

3.3.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan Desember 2013 sampai dengan Juni 2014, sedangkan waktu pemeriksaan dilakukan pada bulan Mei 2014.

3.4 Variabel Penelitian dan Definisi Operasional Variabel

3.4.1 Variabel Penelitian

3.4.1.1 Variabel terikat : Pertumbuhan *Candida albicans*

3.4.1.2 Variabel bebas : Variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

3.4.1.3 Variabel kontrol : Suhu , media pertumbuhan, kontaminasi jamur lain, jumlah koloni *Candida albicans* yang diberi perlakuan

3.4.2 Definisi Operasional Variabel

3.4.2.1 Variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*): Dalam penelitian menggunakan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% untuk menguji pertumbuhan *Candida albicans*.

3.4.2.2 Pertumbuhan *Candida albicans*: Data pertumbuhan dalam penelitian ini berupa angka yang menunjukkan jumlah koloni *Candida albicans* pada setiap media *Sabaroud Dektrose Agar (SDA)*.

3.4.2.3 Suhu : Suhu yang dipakai untuk inkubasi. Jamur diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

3.4.2.4 Kontaminasi jamur lain: Tumbuhnya jamur lain yang dapat terkontaminasi pada *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA).

3.4.2.5 Media pertumbuhan : Media pertumbuhan menggunakan *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA) merupakan media selektif untuk pertumbuhan jamur.

3.4.2.6 Jumlah *Candida albicans*: Penanaman jamur menggunakan standar Mc Farland. Standar Mc Farland ini dipakai untuk memperoleh jumlah koloni jamur yang seragam sebelum ditanam pada *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA).

3.5 Metode Pengumpulan Data

Data pertumbuhan *Candida albicans* dikumpulkan dengan cara pemeriksaan laboratorium dengan langkah, sebagai berikut :

3.5.1 Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian antara lain : autoclave, cawan petri, tabung reaksi, rak tabung, lampu spiritus, inkubator, kaki tiga dan asbes, ose bulat, batang pengaduk, pipet ukur, filler, vortex, timbangan analitik, hot plate, pisau, saringan, corong, telenan, erlenmeyer, beaker glass.

Bahan pemeriksaan yang digunakan dalam penelitian ini adalah perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dan biakan jamur *Candida albicans*, sedangkan media yang dipakai adalah *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA). Bahan lain yang digunakan antara lain : PZ steril, aquades steril, alkohol 96%, Ba₂Cl 1%, H₂SO₄ 1%.

3.5.2 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat dan bahan yang akan digunakan dalam penelitian ini sebelumnya disteril dalam autoclave, dengan menggunakan suhu 121°C selama 15 menit.

Prosedur sterilisasi :

1. Memasukkan air secukupnya ke dalam bejana.
2. Memasang pemanasnya.
3. Memasukkan bahan dan alat yang akan disterilkan ke dalam bejana diatas lempeng yang berlubang lalu autoclave dikunci tutupnya hingga kuat.
4. Membuka pentil pengaman sampai semua udara didalam bejana keluar.
5. Menutup katup pengaman dan biarkan sampai suhu 121°C serta mempertahankan selama 15 menit.
6. Mematikan pemanas, biarkan suhu turun lalu katup pengaman dibuka tutup agar tekanan udara dalam bejana turun.
7. Membuka autoclave setelah suhunya menunjukkan angka 0.(Novel dkk,2010)

3.5.3 Pembuatan Media *Sabaroud Dekstrose Agar (SDA)*

Alat yang digunakan adalah gelas arloji, erlenmeyer 500ml, batang pengaduk, pipet ukur 10ml, neraca analitik, hot plate, plate, gelas ukur, pH media, pipet tetes.

Bahan yang digunakan adalah pepton 10 gram, glukosa 40 gram, bacto agar 18 gram, aquadest 1000 ml, lar. Chloramphenicol steril.

Prosedur :

1. Menimbang semua bahan dan memasukkan ke dalam erlenmeyer.
2. Melarutkan bahan-bahan tersebut dengan 1000ml aquades kedalam erlenmeyer.
3. Memanaskan sampai larut sempurna (mendidihkan kira-kira 1 sampai 3 menit).
4. Menutup erlenmeyer dengan kapas berlemak yang diselimuti dengan kain kasa dan bungkus mulut erlenmeyer dengan kertas koran serta ikat dengan tali.
5. Mensterilkan dengan autoclave pada suhu 121°C selama 15 menit.
6. Setelah selesai disterilkan tambahkan dengan larutan chloramphenicol 2 ml secara steril kedalam larutan media tadi (larutan chloramphenicol : 250mg chloramphenicol ditambah 10ml Pz steril). Melakukan penambahan larutan chloramphenicol ke dalam larutan media sebelum membeku.
7. Menuangkan larutan media pada plate steril. Semua tahapan dilakukan secara steril.(Soewarsono, 1996)

3.5.4 Pembuatan Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Cara pembuatan perasan jeruk nipis dalam penelitian ini, sebagai berikut :

1. Menyiapkan semua bahan dan alat yang akan digunakan dalam keadaan steril.
2. Mencuci jeruk nipis dengan aquades lalu bilas lagi dengan alkohol 96%.

3. Memotong jeruk nipis menjadi dua lalu peras dan ditampung pada erlenmeyer steril yang di atasnya sudah ada corong, kertas saring dan saringan.
4. Melakukan semua hal dalam keadaan steril.
5. Hasil saringan yang didapat dianggap mempunyai konsentrasi 100%.
6. Melakukan sterilisasi bahan dengan mengkultur pada media *Sabaroud Dektrose Agar* (SDA) diinkubasi 37°C selama 24 jam. Apabila tidak terdapat pertumbuhan jamur maka bahan perasan dinyatakan steril. (Galuh dkk, 2012)

3.5.5 Pembuatan suspensi Jamur *Candida albicans*

3.5.5.1 Prodesur Pembuatan Standart Mc Farland 0,5

1. Memipet 0.05 ml Barium Klorida (BaCl_2) 1% kedalam tabung reaksi.
2. Menambahkan 9,95 ml Asam Sulfat (H_2SO_4) 1%.
3. Mencampur kedua larutan tersebut hingga didapat standart Mc Farland 0,5 dan setara dengan jumlah jamur $1,5 \times 10^8$ CFU/ml. (Aulia abdul dkk, 2012)

3.5.5.2 Prosedur Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans*

1. Mengisi tabung reaksi dengan 1 ml PZ steril.
2. Menambahkan 1 mata ose bulat biakan murni jamur *Candida albicans*, menghomogenkan.
3. Membandingkan dengan standart Mc farland 0,5.
4. Bila suspensi jamur lebih keruh dari standart Mc farland 0,5 maka ditambah PZ steril.

5. Bila suspensi jamur kekeruhannya kurang maka ditambah dengan biakan jamur murni.

3.5.6 Pengenceran Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

Pengenceran perasan jeruk nipis menggunakan metode dilusi tabung. Perasan jeruk nipis dibuat pengenceran dengan konsentrasi tertentu menggunakan aquadest steril menjadi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Cara pengenceran :

1. Menyiapkan 24 tabung reaksi steril dan diberi label keterangan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%
2. Membuat deret konsentrasi perasan jeruk nipis dan kontrol, diisi sebagai berikut :
 - a. Konsentrasi 100% : 1 ml perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)
 - b. Konsentrasi 80% : 0,8 ml perasan jeruk nipis + 0,2 ml aquades steril
 - c. Konsentrasi 60% : 0,6 ml perasan jeruk nipis + 0,4 ml aquades steril
 - d. Konsentrasi 40% : 0,4 ml perasan jeruk nipis + 0,6 ml aquades steril
 - e. Konsentrasi 20% : 0,2 ml perasan jeruk nipis + 0,8 ml aquades steril
3. Untuk tabung kontrol positif dengan kode K, diisi 2 ml suspensi jamur.
4. Memberikan suspensi jamur *Candida albicans* sebanyak 1 ml pada semua tabung perlakuan, ditutup dengan kapas steril lalu divortex.

5. Selanjutnya menginkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam, dan diamati kekeruhannya.(Galuh dkk,2012)

3.5.7 Penanaman Pada Media *Sabaroud Dektrose agar* (SDA)

Setelah mengamati kekeruhan, dari tiap-tiap tabung hasil uji dilusi tabung melakukan penanaman dengan cara penggoresan (*streaking*) pada medium padat SDA. Prosedur penanaman :

1. Memberi label pada masing-masing media SDA sesuai konsentrasinya.
2. Mensteril ose bulat standart menggunakan lampu spiritus hingga merah membara, lalu dinginkan.
3. Mengambil 1 mata ose koloni jamur pada setiap konsentrasi.
4. Menggesekkan pada media SDA sesuai dengan konsentrasi masing-masing perasan jeruk nipis.
5. Lakukan juga pada kontrol positif.
6. Inkubasi pada inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam. Setelah diinkubasikan, hitung koloni yang tumbuh pada SDA untuk menentukan Kadar Bunuh Minimal (KBM).(Sri winarsih dkk,2011)

3.5.8 Interpretasi Hasil

Daya antifungi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dapat diketahui dari nilai KHM dan KBM yang diperoleh. Berdasarkan hasil uji dilusi tabung, diperoleh nilai Kadar Hambat Minimal (KHM) dengan melihat tingkat kekeruhan yang terjadi. Berdasarkan jumlah pertumbuhan koloni hasil *streaking* pada media SDA diperoleh nilai Kadar Bunuh Minimal (KBM).(Sri winarsih dkk,2011) Secara makroskopis jamur

Candida albicans yaitu bentuk koloni menonjol dari permukaan medium, permukaan koloni halus, licin, keruh, berwarna krem dan berbau ragi.

Untuk memperoleh hasil penelitian secara eksperimental diperoleh data dari pertumbuhan koloni dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Hasil ditabulasi pada tabelberikut :

Tabel 3.1 Data Hasil Penelitian tentang Pengaruh Variasi Konsentrasi Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap Pertumbuahn *Candida albicans*.

Pengulangan	<i>Candida albicans</i> pada media <i>Sabaroud Dekstrose Agar</i> (SDA)					
	100%	80%	60%	40%	20%	Control
1						
2						
3						
4						

3.6 Metode Analisis Data

Dari data hasil penelitian maka dilakukan uji Anova One-Way sesuai dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, menggunakan skala rasio dengan taraf signifikan 5% ($\alpha = 0,05$).

BAB 5
HASIL DAN LUARAN YANG DICAPAI

5.1. Hasil Penelitian

Berdasarkan pengamatan pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA) yang dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Muhammadiyah Surabaya didapatkan hasil sebagai berikut:

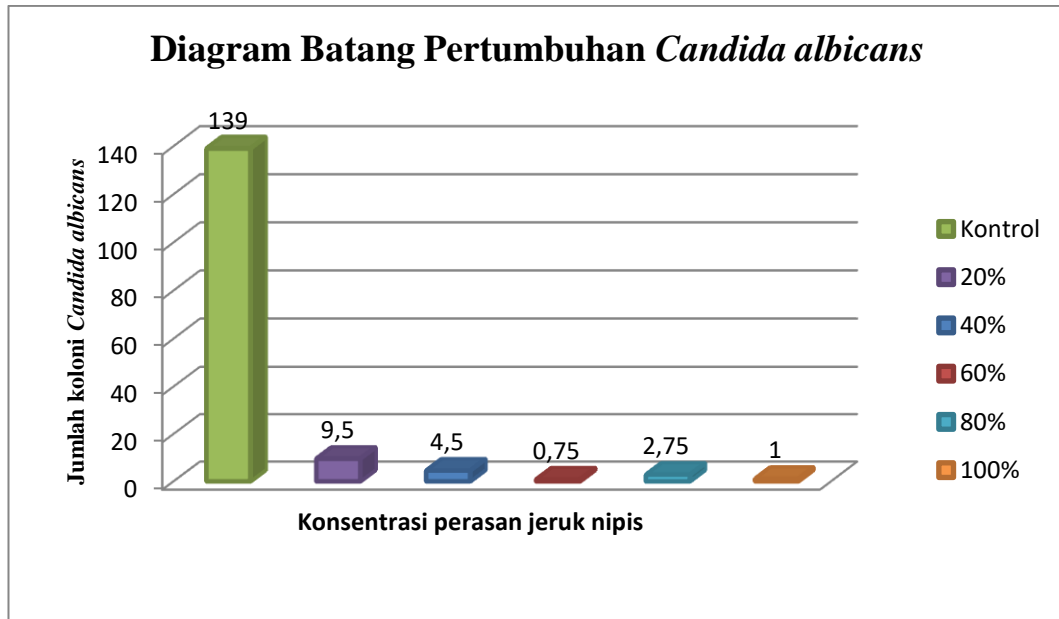
Tabel 4.1 Hasil pengamatan jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh dari media *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA) dengan berbagai perlakuan perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam 48 jam.

Perasan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>) konsentrasi	<i>Candida albicans</i> pada media <i>Sabaroud Dekstrose Agar</i>				Jumlah (Σ)	Rata-rata (\bar{X})
	Pengulangan					
	1	2	3	4		
100%	2	0	0	2	4	1
80%	2	5	1	3	11	2,75
60%	2	0	1	0	3	0,75
40%	3	5	4	6	18	4,5
20%	8	11	9	10	38	9,5
Kontrol	269	113	121	53	556	139

Sumber : Data primer

Dari tabel 4.1 diatas dapat kita lihat rata-rata jumlah koloni dari setiap konsentrasi berbeda. Pada tabel 4.1 rata-rata jumlah koloni yang tertinggi sebanyak 9,5 koloni didapatkan pada konsentrasi 20%. Selain itu, rata-rata jumlah koloni yang terendah sebanyak 0,75 koloni didapatkan pada konsentrasi 60%.

Dari data pada tabel 4.1 dilihat dalam bentuk diagram batang berikut ini :



Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata jumlah koloni *Candida albicans* pada media Sabaroud Dektrose Agar (SDA) dengan pemberian perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

4.2 Analisa Data

Hasil data pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media Sabouroud Dextrosa Agar (SDA) dengan variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*), melalui uji Analisis of Varians (ANOVA) One-way dengan taraf signifikan (α) sebesar 0,05 (dengan menggunakan program SPSS for Windows 16) adalah sebagai berikut :

Tabel 4.2 Hasil Uji Analisis of Varians One-Way

	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	8.723	5	1.745	39.572	.000
Within Groups	.617	14	.044		
Total	9.340	19			

Berdasarkan hasil uji anova pada tabel 4.2 diatas, menunjukkan signifikansi (p) sebesar 0,00, yang berarti p lebih kecil dari $\alpha = 0,05$, maka hipotesis diterima, jadi ada pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*)

terhadap pertumbuhan *Candida albicans* (Perhitungan hasil uji normalitas data dapat dilihat dilampiran).

Untuk melihat sejauh mana perbedaan antar perlakuan terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dilakukan uji Tukey HSD sebagai uji lanjutan (perhitungan dapat dilihat dilampiran). Adapun hasil uji Tukey HSD adalah sebagai berikut :

Tabel 4.3 Hasil Uji Tukey HSD

Antar Perlakuan		Keterangan
0%	20%	Berbeda
	40%	Berbeda
	60%	Berbeda
	80%	Berbeda
	100%	Berbeda
20%	0%	Berbeda
	40%	Tidak berbeda
	60%	Berbeda
	80%	Berbeda
	100%	Berbeda
40%	0%	Berbeda
	20%	Tidak berbeda
	60%	Tidak berbeda
	80%	Tidak berbeda
	100%	Tidak berbeda
60%	0%	Berbeda
	20%	Berbeda
	40%	Tidak berbeda
	80%	Tidak berbeda
	100%	Tidak berbeda
80%	0%	Berbeda
	20%	Berbeda
	40%	Tidak berbeda
	60%	Tidak berbeda
	100%	Tidak berbeda
100%	0%	Berbeda
	20%	Berbeda
	40%	Tidak berbeda
	60%	Tidak berbeda
	80%	Tidak berbeda

Dari hasil uji Tukey HSD di atas , dapat kita lihat terdapat perbedaan pertumbuhan jamur *Candida albicans* antar perlakuan, yaitu konsentrasi 0%

berbeda dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100%. Selain itu juga konsentrasi 20% berbeda dengan konsentrasi 60%, 80%, 100%.

Pembahasan

Pada penelitian uji pengaruh perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap *Candida albicans* yang telah dilakukan pada bulan Desember 2013 sampai dengan bulan Juni 2014, diperoleh rata-rata tertinggi jumlah koloni *Candida albicans* sebanyak 9,5 koloni pada konsentrasi 20% sedangkan rata-rata terkecil jumlah koloni *Candida albicans* sebanyak 0,75 koloni pada konsentrasi 60%. Hasil uji Anova One-Way menunjukkan $\rho < \alpha$ (0,05) yang artinya ada pengaruh perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa perasan jeruk nipis mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Pengaruh perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dapat disebabkan karena beberapa kandungan kimia yang ada didalam buah jeruk nipis seperti asam sitrat, asam amino (triptofan dan lisin), minyak atsiri (*limonene, linalin asetat, geranil asetat, fellandren, sitral, lemon kamfer, kadinen, aktialdehid dan anilaldehid*), vitamin A, B1 dan vitamin C (Ibukun A. *et al.* 2007). Komponen *limonene* yang terdapat dalam minyak atsiri memiliki efek antifungi yang cukup baik (Chee *et al.*, 2009).

Biofilm tersebut dapat berfungsi sebagai pelindung sehingga mikroba yang membentuk biofilm biasanya mempunyai resistensi terhadap antimikroba biasa atau menghindar dari sitem kekebalan sel inang. Berkembangnya biofilm biasanya seiring dengan bertambahnya infeksi klinis pada sel inang sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor virulensi dan resistensi (Nikawa *et al.*, 1997).

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh hasil bahwa konsentrasi 60% lebih efektif menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dibandingkan dengan konsentrasi 100%. Hal ini dipengaruhi oleh pembentukan lapisan biofilm. Pada konsentrasi 60% jamur *Candida albicans* mulai membentuk lapisan biofilm, sehingga pada konsentrasi 80% yang seharusnya jumlah koloni yang tumbuh lebih kecil. Dalam hasil pengamatan didapatkan jumlah koloni konsentrasi 80% lebih besar dari konsentrasi 60%.

5.2.Luaran Yang Dicapai

Publikasi ilmiah pada jurnal Nasional ber-ISSN dan ESSN

BAB 6
RENCANA TAHAPAN BERIKUTNYA

1. Rencana jangka pendek :

Publikasi ilmiah pada jurnal nasional ber-ISSN dan ESSN

2. Rencana jangka panjang :

Peneliti akan melakukan penelitian mengenai daya hambat jenis jeruk lain (selain jeruk nipis) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Simpulan

Dari hasil penelitian di atas dapat diambil simpulan sebagai berikut :

- 6.1.1 Adanya pengaruh variasi konsentrasi perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara signifikan.
- 6.1.2 Perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) konsentrasi 60% merupakan konsentrasi efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan melihat jumlah koloni *Candida albicans* yang tumbuh pada media *Sabaroud Dekstrose Agar* (SDA).

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian dapat diberikan saran, yaitu :

- 6.1.3 Pada masyarakat

Masyarakat agar lebih menjaga kebersihan mulut dan saluran genital wanita
- 6.1.4 Pada penelitian selanjutnya
 - a. Melakukan penelitian lebih lanjut mengenai pengaruh perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dengan range variasi konsentrasi lebih kecil untuk mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* menggunakan metode Spektrofotometri.
 - b. Melakukan penelitian pengaruh jeruk nipis terhadap pertumbuhan jamur atau bakteri lain.

- c. Melakukan penelitian pengaruh jeruk nipis terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara in vivo sehingga bisa diaplikasikan ke masyarakat sebagai obat herbal.

DAFTAR PUSTAKA

- Aibinu I, Adenipekun T, Adelowotan T, Ogunsanya T, Odugbemi T. *Evaluation of the antimicrobial properties of different parts of Citrus aurantifolia (lime fruit) as used locally*. Afr. J. Trad. Complem. Alter. Med. 2007; 4(2): 185-195.
- Akpan, A., Morgan,R. 2002. Oral candidiasis. *Postgrad Med Journal* (78) : 455-459.
- Anaissie, E.J. 2007. *The Changing Epidemiology of Candida Infection*. Available at : <http://repository.usu.ac.id/bistream/123456789/1935/1/09E1452.pdf>. Accessed on Januari 2014.
- Andes D, Nett J, Oschel P, Albrecht R, Marchillo K and Pitula A. 2004. development and characterization of an *invivo* central venous catheter *C. albicans* biofilm model. *Infect Immun*. 72(10): 6023-31.
- Aurora R. 2009. *Textbook of Microbiology for Dental Students*. Alkem company. Singapore. Pp. 145.
- Bae GV, Lee HW, Chang SE, Moon KC, Lee MW, Choi JH and Koh JK. 2005. Clinico pathologic review of 19 patients with systemic candidiasis with skin lesions. *Int J Dermatol* 44 (7): 550-5.
- Baillie GS and Douglas LJ. 1999. Role of dimorphism in the development of *Candida albicans* biofilm. *J Med. Microbiol*. 48(7) : 671-9.
- Biswas S, Dijck P.V, and Datta A. 2007. *Environmental Sensing and Signal Transduction Pathways Regulating Morphopathogenic Determinants of Candida albicans*. *Microbiology and Mole Rev* 71(2). Pp. 394.
- Biswas SK and Chaffin WL. 2005. Anaerobic growth of *C. albicans* does not support biofilm formation under similar conditions

used for aerobic biofilm. *Curr Microbiol* (Epub ahead of print).

- Brzozowski T, Zwolinska-Weislo M, Konturekpc, Kwiecien S, Drozdowicz D, Kontureksj, Stachura J, Budak A, Bogdal J, Pawlikww and Habn Eg. 2005. Influence of gastric colonization with *Candida albicans* on ulcer healing in rats: effect of ranitidine, aspirin and probiotic therapy. *Scand J Gastroenterol*.40(3): 286-96.
- Calderone R.A. 2002. *Introduction and Historical Perspective*. *Candida and Candidiasis*. American Society of Microbiology Press. Washington DC. Pp. 3-10, 303.
- Chanthaphon, Sumonrat, Suphitchaya C, Tipparat H. *Antimicrobial activities of essential oils and crude extracts from tropical Citrus spp. against food-related microorganisms*. Songklanakarin J. Sci. Technol; 2008: 125-131.
- Chee *et al.* 2009. Antifungal Activity of Limonene against *Trichophyton rubrum*. *J Microbiology* 37 (3) : 243-246.
- Chutia, M., Bhuyan, D. P., Pathak, M. G., Sarma, T. C., Boruah P. *Antifungal activity and chemical composition of citrus reticulata blanco essential oil against phytopathogens from North East India*. Food Science and Technology; 2009: 42, 777-780.
- Dahlan, M. S. 2010. *Langkah-langkah membuat proposal penelitian bidang Kedokteran dan Kesehatan*. Edisi 2. Jakarta: Salemba Medika.
- Dalimartha S. *Atlas tumbuhan obat Indonesia: jilid 4*. Jakarta: Puspa Swara, Anggota Ikapi; 2006: 11-15.
- Darmani E.H. 2003. *Hubungan Antara Pemakaian AKDR dengan Kandidiasis Vagina di RSUP Dr. Pirngandi Medan*. Available at : <http://respiratory.usu.ac.id/bitstream/123456789/6373/1/kulit-endang.pdf>. Accessed on Desember 2013

- Dinubile Mj, Bille D, Sable Ca and Kartsonisna. 2005. Invasive candidiasis in cancer patients: observations from a randomized clinical trial. *J Infect.* 50(5): 443-9.
- Ferguson. *Medicinal use of citrus scienses department cooperative extension services institute of food agricultural science.* Gainesville: University of Florida; 2002: 121-25.
- Greenberg, Martin S & Michael Glick. 2003. *Burket's Oral Medicine Diagnosis & Treatment.* 10ed. USA: BC Decker Inc.
- Hamid, Aulia Abdul; Fitriani, Delvi; Pamungkas, Rizqi Priasa. 2011. *Uji efek antifungi ekstrak kulit lemon (Citrus limon L.) sebagai antifungi terhadap Candida albicans secara in Vitro.* Jurnal penelitian fakultas kedokteran gigi Universitas brawijaya Malang. Hlm 4.
- Handayani, Olivia; Endah, Adiastruti P; Djahmari, Mintarsih. 2010. *Daya hambat madu Indonesia terhadap pertumbuhan Candida albicans.* Skripsi fakultas kedokteran gigi Universitas airlangga Surabaya. Hlm. 1-2, 12-13.
- Hariana HA. *Tumbuhan Obat dan Khasiatnya.* Jakarta: Niagaswadaya; 2008: 149-152.
- Hirasawa M, Takada K. 2004. *Multiple Effects of green tea caetchin on the antifungal actifty of antymicrotics against Candida albicans.* J. Antimicrob. Chemother. 53(2). Pp. 225-229.
- Hudzicki, J. 2010. *Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol.* Available at : <http://www.microbelibrary.org/component/resource/laboratory-test/3189-kirby-bauer-disk-diffusion-susceptibility-test-protocol> (Accessed Januari 2014)
- Ibukun A *et al.* 2007. *Evaluation of The Antimicrobial Properties of Different Parts of Citrus Aurantifolia (Lime Fruit) as Used Locally.* African Journall of Traditional, Complementary and Alternative Medicines. Vol.4, hlm.185-195.
- Jawetz, Melnick, dan Adelbergs. 1996. *Mikrobiologi Kedokteran.* Alih Bahasa.

- Klepser, M.E. 2001. *Antifungi Resistance among Candida Species*. Pharmacotherapy 21 (8s). Michigan: Pharmacotherapy Publications, (online),<http://www.medscape.com/viewarticle/412677>. Accessed on Desember 2013
- Kobayashi Cc, De Fernandes Of, Miranda Kc,De Sonsa Ed, and Silva Mdo R. 2004. Candiduria in hospital patients: a study prospective. *Mycopathologia*. 158(1): 49-52.
- Kumamoto Ca and Vinces Md. 2004. Alternative *Candida albicans* life styles: growth on thesur faces. *Annu Rev Microbiol* (Epub Ahead of print).
- Krisno, A. 2011. Pemanfaatan mikroorganisme sebagai indikator uji. Availaible at : <http://aguskrisnoblog.wordpress.com/2011/01/14/pemanfaatan-mikroorganisme-sebagai-indikator-uji/>(Accessed Januari 2014)
- Lodder J. 1970. *The yeast. A taxonomic study*. Nort-Holland Publishing Company. Pp: 914- 19.
- Mc.Ginnis L, F., Francis R, L. & White J, A. 2000. *Facility Layout and Location, an Analytical Approach.2nd edition*. Prentice-Hall, Inc. Englewood Cliffs, New Jersey.
- Meurman JH. 2005. Probiotics: do they have a role in oral medicine and dentistry. *Eur J Oral Sci*. 113(3): 188–96.
- Mukherjee PK, Zhou G, Munyon R and Ghannoum MA. 2005. *Candida* biofilm: a well-designed protected environment. *Med Mycol*. 43(3): 191–208.
- Murtiastutik, Dwi. *Atlas penyakit kulit & kelamin / Departemen SMF kesehatan kulit dan kelamin*. Ed 2. Cet 1. Surabaya: Airlangga University Press. 2009.
- Nikawa H, Hamada T, Yamamoto T and Kumagai H. 1997. Effect salivary or serum pellicles on *C. albicans* growth and biofilm formation on soft lining materials *in-vitro*. *J Oral Rehabil*. 24(8): 594–604.

- Nobile CJ and Mitchell AP. 2005. Regulation of cell-surface genes and biofilm formation by the *C. albicans* transcription factor Bcr1p. *Curr Biol.* 15(12): 1150-5.
- Notobroto, B.H. 2005. *Penelitian Eksperimental dalam Materi Praktikum Teknik Sampling dan Perhitungan Besar Sampel Angkatan III.* Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Novel dkk. 2010. *Praktikum mikrobiologi dasar.* Jakarta: Trans info media.
- Puspitasari, Galuh; Murwani, Sri; Herawati. 2012. *Uji daya antibakteri perasan buah mengkudu matang (Morinda citrifolia) terhadap bakteri Methicillin Resistan Staphylococcus aureus (MRSA) M.2036.T secara in Vitro.* Jurnal penelitian fakultas kedokteran hewan Universitas brawijaya Malang. Hlm 2-3.
- Ramage G, Vandewalle K, Wickes BL and Lopez-Ribot JL. 2001. Characteristics of biofilm formation by *C. albicans*. *Rev Iberoam Micol.* 18(4): 163-70.
- Samaranayake L. 2009. *Commensal Oral Candida in Asian Cohorts.* International Journal of Oral Science, 1(1). P.2.
- Saraf, S. *Textbook of oral pathology.* USA: Jeypee Brothers Publishers; 2006: 234-45.
- Sarwono B. *Khasiat dan manfaat jeruk nipis.* Jakarta: Agromedia Pustaka; 2006: 23-25.
- Soewarsono. 1996. *Petunjuk Pembuatan Media dan Reagensia.* Surabaya: Balai Laboratorium Kesehatan.
- Sudjana. 1994. *Desain dan Analisis Eksperimen.* III. Bandung: Tarsito.
- Sukaji, Soetarlinah. *Menyusun dan mengevaluasi laporan penelitian.* Jakarta: Universitas Indonesia (UI-Press); 2000.

- Suyoso, Sunarso. 2013. *Kandidiasis Mukosa*. Departemen/ SMF Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/ RSUD Dr. Soetomo Surabaya.
- Tjampakasari C.R. 2006. *Karakteristik Candida albicans*. Cermin Dunia Kedokteran. Vol 151. Pp. 34-35.
- Wilson C. 2005. Recurrent vulvovaginitis candidiasis; an overview of traditional and alternative therapies .*Adv Nurse Pract.* 13(5):24-9.
- Winarsih, Sri; Rofid, Aunur; Fiohana, Puput. 2010. *Pengaruh ekstrak etanol bunga mawar merah (Rosa indica fragrans hybrids) terhadap pertumbuhan Candida albicans secara in Vitro*. Hlm 5-6.

LAMPIRAN

1. Lampiran Keuangan

LAPORAN KEUANGAN

TAHUN 2016

LAPORAN KEUANGAN				
TAHUN 2016				
Bahan Habis Pakai				
No	Bahan Habis Pakai	Jumlah	Harga	Total
1	Asam Asetat glasial	1	Rp 100.000	Rp 100.000
2	Kloroform	1	Rp 470.000	Rp 470.000
3	Potasium Iodida	1	Rp 150.000	Rp 150.000
4	Larutan Pati 1%	1	Rp 50.000	Rp 50.000
5	Sodium Tiosulfat	1	Rp 150.000	Rp 150.000
6	Sewa Neraca Analitik	1	Rp 100.000	Rp 100.000
7	Buret	1	Rp 350.000	Rp 350.000
8	Erlenmeyer	5	Rp 50.000	Rp 250.000
9	Sewa stirer atau shaker	1	Rp 100.000	Rp 100.000
10	Pipet tetes	20	Rp 2.500	Rp 50.000
11	NAOH/ KOH 0,1 N	1	Rp 50.000	Rp 50.000
12	Asam oksalat 0,1 N	1	Rp 25.000	Rp 25.000
13	Indikator PP 1%	1	Rp 65.000	Rp 65.000
14	handscoon dan masker	1	Rp 110.000	Rp 110.000
15	Alkohol 96%	1	Rp 400.000	Rp 400.000
16	Sewa laboratorium	1	Rp 450.000	Rp 450.000
17	Beaker glass 500 ml	2	Rp 75.000	Rp 150.000
18	Beaker glass 1000 ml	2	Rp 165.000	Rp 330.000
19	Tissue/pembersih	4	Rp 15.000	Rp 60.000
20	Rak tabung reaksi	4	Rp 65.000	Rp 260.000
21	Gelas ukur 500 ml	2	Rp 150.000	Rp 300.000
22	Print + Fotocopy+ATK	1	Rp 150.000	Rp 150.000
TOTAL				Rp 4.120.000
Honorarium				
No	Honorarium	Jumlah	Harga	Total
1	pembantu peneliti	1	Rp 280.000	Rp 280.000
Publikasi				
No	Publikasi	Jumlah	Harga	Total
1	Jurnal	1	Rp 400.000	Rp 400.000
2	Poster	1	Rp 200.000	Rp 200.000
TOTAL				Rp 600.000
TOTAL LAPORAN KEUANGAN(100 %)				
1	Bahan Habis Pakai			Rp 4.120.000
2	Honorarium (pembantu peneliti)			Rp 280.000
3	Publikasi			Rp 600.000
TOTAL				Rp 5.000.000

LAPORAN KEUANGAN

TAHUN 2016

LAPORAN KEUANGAN				
TAHUN 2016				
Bahan Habis Pakai				
No	Bahan Habis Pakai	Jumlah	Harga	Total
1	Tekur Ayam Kampung	20	Rp 3.000	Rp 60.000
2	Spidol	1	Rp 30.000	Rp 30.000
3	Batang Pengaduk	6	Rp 15.000	Rp 90.000
4	Tabung nessler	10	Rp 30.000	Rp 300.000
5	Sodium Tiosulfat	1	Rp 150.000	Rp 150.000
6	Sewa Neraca Analitik	1	Rp 100.000	Rp 100.000
7	Buret	1	Rp 350.000	Rp 350.000
8	Erlenmeyer	5	Rp 50.000	Rp 250.000
9	Labu ukur 500 ml	1	Rp 100.000	Rp 100.000
10	Pipet tetes	20	Rp 2.500	Rp 50.000
11	labu kjeldhal 250 m l	2	Rp 200.000	Rp 400.000
12	Sewa spektrofotometer UV VIS	1	Rp 500.000	Rp 500.000
13	Reagen nessler	2	Rp 450.000	Rp 900.000
14	handscoon dan masker	1	Rp 110.000	Rp 110.000
15	Alkohol 96%	1	Rp 400.000	Rp 400.000
16	Sewa laboratorium	1	Rp 450.000	Rp 450.000
17	Beaker glass 500 ml	2	Rp 75.000	Rp 150.000
18	Beaker glass 1000 ml	2	Rp 165.000	Rp 330.000
19	Tissue/pembersih	4	Rp 15.000	Rp 60.000
20	Rak tabung reaksi	4	Rp 65.000	Rp 260.000
21	Gelas ukur 500 ml	2	Rp 150.000	Rp 300.000
22	Reagen laboratorium	1	Rp 145.000	Rp 145.000
23	Print + Fotocopy+ATK	1	Rp 135.000	Rp 135.000
TOTAL				Rp 5.620.000
Honorarium				
No	Honorarium	Jumlah	Harga	Total
1	pembantu peneliti	1	Rp 280.000	Rp 280.000
Publikasi				
No	Publikasi	Jumlah	Harga	Total
1	Jurnal	1	Rp 400.000	Rp 400.000
2	Poster	1	Rp 200.000	Rp 200.000
TOTAL				Rp 600.000
TOTAL LAPORAN KEUANGAN(100 %)				
1	Bahan Habis Pakai			Rp 5.620.000
2	Honorarium (pembantu peneliti)			Rp 280.000
3	Publikasi			Rp 600.000
TOTAL				Rp 6.500.000

2. Lampiran Jadwal Penelitian

No	Kegiatan	Bulan												
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
1.	Mengadakan pertemuan awal antara ketua dan anggota tim													
2.	Menetapkan rencana jadwal kerja & Menetapkan pembagian kerja													
3.	Menetapkan desain penelitian & Menentukan instrument penelitian													
4.	Menyusun proposal & Mengurus perijinan penelitian													
5.	Mempersiapkan dan menyediakan bahan dan peralatan penelitian & Melakukan Penelitian													
6.	Melakukan pemantauan atas pengumpulan data, Menyusun dan mengisi format tabulasi, Melakukan analisis data, Menyimpulkan hasil analisis, Membuat tafsiran dan kesimpulan hasil serta membahasnya													
7.	Menyusun konsep laporan													