

**UJI ANTIJAMUR KOMBINASI KLORHEKSIDIN GLUKONAT,
GENTIAN VIOLET, DAN ASAM HIALURONAT TERHADAP
Candida albicans ATCC 10231 DAN ISOLAT
DARI PASIEN *Stomatitis Aftosa Rekuren***



Oleh:

Selvi Sutanto

21154388A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

**UJI ANTIJAMUR KOMBINASI KLORHEKSIDIN GLUKONAT,
GENTIAN VIOLET, DAN ASAM HIALURONAT TERHADAP
Candida albicans ATCC 10231 DAN ISOLAT
DARI PASIEN *Stomatitis Aftosa Rekuren***

SKRIPSI

*Diajukan untuk memenuhi salah sat syarat mencapai
derajat Sarjana Farmasi (S. Farm)
Program Studi Ilmu Farmasi pada Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi*

Oleh:

Selvi Sutanto
21154388A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2018**

PENGESAHAN SKRIPSI
berjudul

**UJI ANTIJAMUR KOMBINASI KLORHEKSIDIN GLUKONAT,
GENTIAN VIOLET, DAN ASAM HIALURONAT TERHADAP
Candida albicans ATCC 10231 DAN ISOLAT
DARI PASIEN *Stomatitis Aftosa Rekuren***

Oleh:

Selvi Sutanto
21154388A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada tanggal : Oktober 2018



Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi

Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt.

Pembimbing,

Dr. Ana Indrayati, M.Si.

Pembimbing Pendamping,

Dra. Nony Puspawati, M.Si.

Penguji :

1. Dwi Ningsih, M.Farm., Apt.

2. Dra. Kartinah Wiryosoendjoyo, SU.

3. Endang Sri Rejeki, M.Si., Apt.

4. Dr. Ana Indrayati, M.Si.

HALAMAN PERSEMBAHAN

Sukses bukan hanya milik mereka yang cerdas dan pintar, tetapi juga milik mereka yang mau bekerja keras mewujudkan impianinya. Cara terbaik untuk mewujudkan impian adalah dengan menyadarinya, sadar bahwa impian kita harus terlaksana dalam kehidupan nyata.

Skripsi ini kupersembahkan kepada :

- Tuhan Yang Maha Esa yang selalu memberiku perlindungan dan kelancaran.
- Keluargaku yang telah memberikanku doa yang tak terhingga, kasih sayang, dan dukungan selama penyelesaian skripsi ini.
- Dosen pembimbingku Ibu Dr. Ana Indrayati, M.Si. dan Dra. Nony Puspawati, M.Si. yang telah bersedia meluangkan waktu dan membimbingku dalam penyelesaian skripsi ini.
- Keluarga besar “Etam” yang telah memberiku semangat yang tak terhingga.
- Poeby dan Giselle, anjing-anjingku yang tak henti menenemaniku tiap saat.
- Teman-temanku yang tidak bisa kusebutkan satu persatu, terima kasih atas segala dukungan dan bantuan kalian selama proses penggerjaan skripsi ini.
- Agama, Bangsa, Negara, dan Almamaterku.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesajanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/ karya ilmiah/ skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta, 15 Oktober 2018



Selvi Sutanto

KATA PENGANTAR

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesikan skripsi yang berjudul "**UJI ANTIJAMUR KOMBINASI KLORHEKSIDIN GLUKONAT, GENTIAN VIOLET, DAN ASAM HIALURONAT TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231 DAN ISOLAT DARI PASIEN *Stomatitis Aftosa Rekuren***". Skripsi ini disusun sebagai salah satu syarat untuk mencapai dearajat Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak, untuk itu penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA., selaku Rektor Universitas Setia Budi Surakarta.
2. Prof. Dr. R.A. Oetari, SU., MM., M.Sc., Apt. Selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi Surakarta.
3. Dr. Ana Indrayati, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan, dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
4. Dra. Nony Puspawati, M.Si. selaku dosen pembimbing yang telah banyak memberikan ilmu, masukan, pengarahan, dan bimbingan selama penyusunan skripsi ini.
5. Tim penguji selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk skripsi ini.
6. Segenap dosen, asisten, dan staff laboratorium, serta karyawan perpustakaan yang telah banyak membantu dan menyediakan fasilitas demi kelancaran skripsi ini.
7. Serta semua pihak yang tidak bisa penulis sebutkan satu ersatu yang telah membantu dalam penyelesaian skripsi ini dan memberikan dukungan kepada penulis.

Tak ada gading yang tak retak, begitu pula dengan penyusunan skripsi ini. Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih banyak kekurangan dan jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran dari pembaca untuk menyempurnakan skripsi ini. Semoga skripsi ini bisa berguna bagi siapa saja yang membacanya.

Surakarta, 15 Oktober 2018

Penulis

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL.....	i
PENGESAHAN SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
PERNYATAAN.....	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
INTISARI.....	xv
ABSTRACT	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian.....	3
D. Kegunaan Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. <i>Candida albicans</i>	5
1. Taksonomi <i>C. albicans</i>	5
2. Morfologi dan sifat <i>C. albicans</i>	5

3. Patogenesis <i>C. albicans</i>	6
B. Stomatitis Aftosa Rekuren	6
1. Definisi <i>Stomatitis Aftosa Rekuren</i> (SAR)	6
2. Etiologi <i>Stomatitis Aftosa Rekuren</i>	7
2.1 Diabetes	7
2.2 Trauma	7
2.3 Air liur	7
2.4 pH rongga mulut.....	7
2.5 Permeabilitas <i>C. albicans</i>	7
3. Gambaran klinis <i>Stomatitis Aftosa Rekuren</i>	8
C. Agen Antijamur	8
1. Agen antijamur herbal	8
1.1 Minyak esensial	8
2. Agen antijamur kimia	8
2.1 Amfoteresin B	8
2.2 Flusitosin	8
2.3 Azol	9
2.4 Klorheksidin glukonat	9
2.5 Policresulen	10
2.6 Gentian violet	10
2.7 Asam hialuronat	10
D. Metode Uji Aktivitas Antijamur	11
1. Metode difusi	11
1.1 Metode difusi cakram	11
1.2 Metode gradien antimikroba (Etest).....	11
1.3 Metode difusi sumuran.....	11
2. Metode dilusi	12
2.1 Metode dilusi broth	12
2.2 Metode dilusi agar	12
E. Monografi Agen Antijamur	12
1. Klorheksidin glukonat (KHG)	12
2. Asam hialuronat (AH)	13
3. Gentian violet (GV)	13
F. Landasan Teori	13
G. Hipotesis	15
H. Kerangka Pikir Penelitian	16
BAB III METODE PENELITIAN	17
A. Populasi dan Sampel	17
1. Populasi	17
2. Sampel	17
B. Variabel Penelitian	17
1. Identifikasi variabel utama	17
2. Klasifikasi variabel utama	18
3. Definisi operasional variabel utama	18
C. Alat dan Bahan	19

1.	Bahan	19
1.1	Bahan sampel	19
1.2	Bahan kimia.....	19
1.3	Jamur uji.....	19
2.	Alat	20
D.	Jalannya Penelitian	20
1.	Penanaman biakan murni <i>C. albicans</i> ATCC 10231.....	20
2.	Isolasi Candida dari pasien SAR	20
3.	Perbanyak <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	20
4.	Identifikasi <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	21
4.1	Identifikasi pada media <i>Saboraud Glucose Agar</i> (SGA) .	21
4.2	Identifikasi pada media <i>HiCrome Candida Differential Agar</i> (HCA).....	21
4.3	Identifikasi dengan pengecatan <i>Lactophenol Cotton Blue</i> (LCB)	21
4.4	Identifikasi dengan uji biokimia.....	21
5.	Penentuan jumlah jamur uji berdasarkan standar McFarland 0,5	22
6.	Pembuatan kontrol dan preparasi larutan uji	22
7.	Pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi cakram	22
8.	Pengamatan hasil pengujian aktivitas antijamur	23
E.	Analisis Hasil.....	23
F.	Skema Penelitian	24
BAB IV	HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN	26
1.	Isolasi Candida dari pasien SAR	26
2.	Perbanyak <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	26
3.	Identifikasi <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	27
3.1	Identifikasi pada media <i>Saboraud Glucose Agar</i> (SGA)	27
3.2	Identifikasi pada media <i>HiCrome Candida Differential Agar</i> (HCA).....	28
3.3	Identifikasi dengan pengecatan <i>Lactophenol Cotton Blue</i> (LCB).....	29
3.4	Identifikasi dengan uji biokimia.....	30
4.	Pengujian aktivitas antijamur terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR dengan metode difusi cakram	31
5.	Mekanisme kerja agen antijamur terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.....	34
6.	Perbandingan zona hambat dari pengujian antijmaur terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.....	34
BAB V	KESIMPULAN DAN SARAN	43
A.	Kesimpulan.....	43

B. Saran	43
DAFTAR PUSTAKA	44
LAMPIRAN	50

DAFTAR GAMBAR

Halaman

Gambar 1.	Struktur dinding sel <i>C. albicans</i> (Kiyoura & Tamai 2015)	6
Gambar 2.	Skema kerangka pikir penelitian.....	16
Gambar 3.	Skema identifikasi <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.....	24
Gambar 4.	Skema pengujian antijamur.....	25
Gambar 5.	Hasil isolasi Candida dari pasien SAR	26
Gambar 6.	Hasil pengecatan <i>Lactophenol Cotton Blue</i> <i>C. albicans</i> ATCC 10231(a), <i>C. albicans</i> isolat dari pasien SAR(b)	29
Gambar 7.	Hasil identifikasi dengan <i>Saboraud Glucose Agar</i> <i>C. albicans</i> ATCC 10231(a), Candida isolat dari pasien SAR.....	28
Gambar 8.	Hasil identifikasi dengan <i>HiCrome Candida Differential Agar</i> <i>C. albicans</i> ATCC 10231(a), Candida isolat dari pasien SAR.....	28
Gambar 9.	Susunan dinding sel <i>C. albicans</i> (Kiyoura & Tamai 2015).....	34
Gambar 10.	Struktur kimia klorheksidin glukonat (a) (Bello <i>et al.</i> 2015), asam silikat dari sel <i>C. albicans</i> (b) (NCBI 2018)	35
Gambar 11.	Struktur kimia gentian violet (Zhao <i>et al.</i> 2008)	36
Gambar 12.	Struktur kimia gentian violet setelah berdisosiasi (NCBI 2018)	36
Gambar 13.	Struktur kimia gentian violet pada kondisi asam (Zhao <i>et al.</i> 2008)	36
Gambar 14.	Struktur kimia RNA <i>C. albicans</i> yang terdeprotonisasi (Zhao <i>et al.</i> 2008)	37
Gambar 15.	Pengikatan antara gentian violet dan RNA <i>C. albicans</i> (Zhao <i>et al.</i> 2008)	37

Gambar 16. Pengikatan gentian violet terhadap thioredoxin 2 (Maley & Arbiser 2013)	38
Gambar 17. Perubahan siklus sel <i>C. albicans</i> (CyberBridge)	38

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil identifikasi dengan uji biokimia terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	30
Tabel 2. Hasil data rata-rata diameter hambat uji aktivitas antijamur secara difusi cakram terhadap <i>C. albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	31

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

Lampiran 1.	Alat- alat penelitian	50
Lampiran 2.	Bahan-bahan penelitian	52
Lampiran 3.	Hasil identifikasi dengan uji biokimia terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	53
Lampiran 4.	Perhitungan konsentrasi larutan stok klorheksidin glukonat, gentian violet, dan asam hialuronat	54
Lampiran 5.	Hasil pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	57
Lampiran 6.	Analisa data pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	58
Lampiran 7.	Hasil pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap <i>Candida albicans</i> isolat dari pasien SAR	61
Lampiran 8.	Analisa data pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap <i>Candida albicans</i> isolat dari pasien SAR	62
Lampiran 9.	Hasil data replikasi diameter hambat uji aktivitas antijamur secara difusi cakram terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR	65
Lampiran 10.	Analisa data perbandingan zona hambat dari pengujian antijamur terhadap <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.....	66
Lampiran 11.	Pembuatan media	71
Lampiran 12.	Komposisi media.....	73

INTISARI

SUTANTO, S., 2018, UJI ANTIJAMUR KOMBINASI KLORHEKSIDIN GLUKONAT, GENTIAN VIOLET, DAN ASAM HIALURONAT TERHADAP *Candida albicans* ATCC 10231 DAN ISOLAT DARI PASIEN *Stomatitis Aftosa Rekuren*, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Stomatitis Aftosa Rekuren (SAR) merupakan penyakit yang ditandai dengan rasa nyeri dan lesi putih. Penyebab utama dari SAR adalah jamur *Candida albicans*. *C.albicans* susah diatasi karena mekanisme pertahanan hidupnya yang kuat. Klorheksidin glukonat (KHG), gentian violet (GV), dan asam hialuronat (AH) merupakan agen antijamur yang mempunyai toksisitas rendah dan berpotensi untuk dibuat kombinasi. Penelitian bertujuan mengetahui perbedaan aktivitas antijamur antarkombinasi, kombinasi yang paling aktif, dan perbedaan aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dibandingkan isolat dari pasien SAR.

Variasi kombinasi KHG, GV, dan AH dibuat dengan konsentrasi akhir masing-masing sebesar 0,1%, kemudian diuji aktivitas antijamur secara difusi cakram terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR. Data diameter hambat yang diperoleh, diolah dengan SPSS Statistics 17.0 melalui uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA).

Hasil pengujian menunjukkan adanya perbedaan aktivitas antijamur dari tiap kombinasi. Kombinasi yang paling aktif adalah KHG:GV:AH dan terdapat perbedaan aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dibandingkan isolat dari pasien SAR.

Kata kunci : *Stomatitis Aftosa Rekuren*, *Candida albicans*, klorheksidin glukonat, gentian violet, asam hialuronat

ABSTRACT

SUTANTO, S., 2018, ANTIFUNGAL TEST WITH COMBINATION OF CHLORHEXIDINE GLUCONATE, GENTIAN VIOLET, AND HYALURONIC ACID AGAINST *Candida albicans* ATCC 10231 AND ISOLATE FROM *Recurrent Aphthous Stomatitis* patient, SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA.

Recurrent Aphthous Stomatitis (RAS) is a disease that has symptoms such as sore and white lesions in the oral cavity. The main factor of RAS is *Candida albicans*. *C.albicans* is difficult to cure because of its tough life defense mechanism. Chlorhexidine gluconate (CHX), gentian violet (GV), and hyaluronic acid (HA) are antifungal agents that have low toxicity and potential to be combined. The aim of this study are to find out the difference of their antifungal activity between the combination, the most active combination, and the difference of antifungal activity against *C. albicans* ATCC 10231 compared to isolate from RAS patient.

Variety of combination between CHX, GV, and HA are made with each final concentration of 0,1% , then tested for antifungal activity by disc diffusion against *C. albicans* ATCC 10231 and isolate from RAS patient. Data of inhibition zone diameter is obtained and processed with SPSS Statistics 17.0 through *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) test.

The test results show the difference in antifungal activity from each combination. The most active combination is KHG:GV:AH and there is difference in antifungal activity against *C. albicans* ATCC 10231 compared to isolate from RAS patient.

Key words : *Recurrent Aphthous Stomatitis*, *Candida albicans*, chlorhexidine gluconate, gentian violet, hyaluronic acid

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang Masalah

Jamur adalah mikroorganisme golongan eukariotik yang mempunyai struktur yang berbeda dari kingdom lainnya. Struktur ini meliputi hifa dan dinding sel yang terbentuk dari kitin atau polimer lainnya (Watkinson *et al.* 2015). Jamur merupakan makhluk hidup yang tidak mempunyai klorofil, bertahan hidup dengan menumpang pada organisme lain. Mekanisme tersebut membuat jamur disebut sebagai mikroorganisme saprofit. Mikroorganisme ini juga bersifat patogen bagi manusia, terutama keberadaannya yang luas pada kulit dan membran mukosa.

Salah satu jamur yang bersifat patogen adalah *Candida albicans*. Spesies jamur ini merupakan faktor penyebab utama dari berbagai jenis penyakit yang disebabkan oleh jamur. Jamur patogen ini membawa bermacam-macam infeksi seperti septikemia, endokarditis, dan meningitis (Simatupang 2008). *C. albicans* juga dapat menyebabkan sariawan, vulvovaginitis, dan kandidiasis gastrointestinal. Jamur saprofit mampu melakukan penyebaran dan menginfeksi ke berbagai organ dalam tubuh inang karena jamur mempunyai perangkat virulensi yang sangat kompleks. Adanya perubahan bentuk dari sel ragi ke bentuk lainnya yang disebut pseudohifa dan mekanisme pembentukan biofilm membuat jamur ini mampu bertahan dalam tubuh inangnya (Komariah 2012).

Membran mukosa mulut merupakan salah satu habitat yang sangat mendukung untuk terjadinya koloniasi oleh *C. albicans*. Salah satu penyakit pada rongga mulut yang disebabkan oleh jamur ini adalah *Stomatitis Aftosa Rekuren* (SAR) atau yang lebih dikenal dengan sebutan sariawan. SAR merupakan suatu luka berupa lesi yang melepuh berbentuk oval pada membran mukosa mulut. Luka ini akan pecah dan berwarna putih pada bagian tengahnya, dibatasi dengan adanya kemerahan. Penyakit ini menyerang berbagai kalangan usia, bersifat ringan dan tidak menular, namun keberadaannya cukup mengganggu terutama saat makan, berbicara, dan aktivitas lainnya yang terkait dengan mulut. Menurut penelitian Suling *et al.* (2013), kejadian stomatitis di dunia mencapai rata-rata

prevalensi populasi sebanyak 20%. Kasus stomatitis di daerah Surakarta juga sering terjadi, terbukti didapatkan data sebanyak 2.710 jiwa yang mengalami stomatitis (Dinkes 2014).

Prevalensi dari penyakit SAR relatif tinggi sedangkan pemilihan terapi terhadap penyakit yang disebabkan oleh jamur cukup sulit. Masalah ini disebabkan oleh sifat sel dari manusia itu sendiri yang mirip dengan sel jamur. Sifat sel jamur yang dimaksud adalah sifatnya sebagai mikroorganisme eukariotik. Sel jamur yang patogen ini juga susah untuk diatasi karena mekanisme pertahanan hidupnya yang dikenal cukup kuat yaitu dari pseudohifanya yang berukuran besar sehingga sulit untuk difagositosis oleh makrofag (Irianto 2013). Pola pertahanan hidup jamur *C. albicans* yang kuat menyebabkan kebutuhan akan pemilihan agen antijamur yang efektif meningkat (Denning & Hope 2010).

Agen antijamur beredar dalam berbagai macam bentuk sediaan di Indonesia. Salah satu bentuk sediaan yang biasa digunakan adalah dalam bentuk obat kumur. Obat kumur dapat memiliki aktivitas antijamur bila di dalamnya terdapat zat aktif. Kandungan zat aktif yang beredar di perdagangan dapat dibedakan menjadi zat aktif kimia dan alami. Kelebihan zat aktif kimia dibandingkan zat aktif alami yaitu lebih poten dan cepat dalam menghambat dan membunuh sejumlah patogen. Kelebihan ini dibuktikan oleh penelitian Ristianti *et al.* (2015). Zat aktif kimia yang biasa terdapat pada obat kumur dan berpotensi melawan *C. albicans* antara lain klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet. Zat-zat aktif ini dipilih karena mereka mempunyai efek samping yang relatif rendah terhadap manusia dan efek toksik yang tinggi terhadap *C. albicans* (Camacho *et al.* 2007). Mekanisme kerja dari zat-zat tersebut juga berbeda-beda. Klorheksidin glukonat melawan jamur patogen tersebut melalui ikatan antara muatan positifnya dengan muatan negatif dari permukaan sel jamur (Balagopal & Arjunkumar 2013). Asam hialuronat melawan *C. albicans* dengan menginduksi produksi air liur (Park *et al.* 2010), sedangkan gentian violet bekerja dengan menghambat sintesis protein dari sel jamur (Maley & Arbiser 2013).

Berdasarkan perbedaan mekanisme kerja dan potensi dari masing-masing zat aktif dalam melawan *C. albicans*, maka salah satu strategi untuk memperoleh efek

antijamur yang lebih baik lagi adalah dengan cara kombinasi, melalui cara ini diharapkan menghasilkan respon yang sinergis. Penelitian ini menggunakan berbagai macam variasi kombinasi dari zat-zat aktif tersebut yang bertujuan untuk mengetahui kombinasi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi rekomendasi terapi bagi pasien SAR sekaligus formula baru bagi pengembangan sediaan antijamur yang akan datang.

B. Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang masalah di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

Pertama, apakah terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR?

Kedua, kombinasi manakah yang paling aktif terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR?

Ketiga, apakah terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 jika dibandingkan dengan isolat dari pasien SAR?

C. Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah sebagai berikut :

Pertama, untuk mengetahui perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.

Kedua, untuk mengetahui kombinasi manakah yang paling aktif terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.

Ketiga, untuk mengetahui perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet

terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 jika dibandingkan dengan isolat dari pasien SAR.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat secara luas, terutama bagi pasien SAR. Penelitian ini juga diharapkan memberikan kontribusi terhadap pengembangan ilmu pengetahuan di bidang ilmu farmasi dan kesehatan serta dapat menjadi referensi bagi penelitian selanjutnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Candida albicans*

1. Taksonomi *C. albicans*

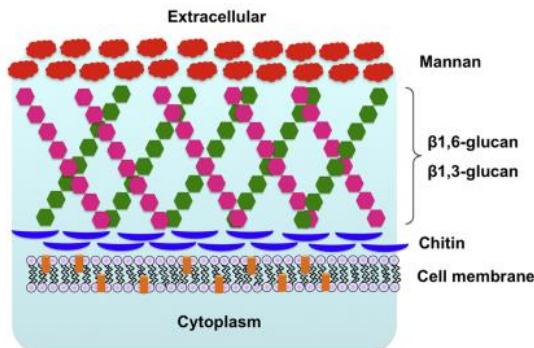
Taksonomi jamur *C. albicans* menurut Mainous & Pomeroy (2010) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Ascomycotina
Class	: Ascomycetes
Oerder	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: Candida
Species	: <i>Candida albicans</i>

2. Morfologi dan sifat *C. albicans*

Pada media kultur, *C. albicans* tumbuh sebagai sel ragi bertunas dan berbentuk bulat sampai oval, berukuran 3-6 µm. Koloninya halus, berwarna krem, dan aromanya seperti ragi (Jawetz *et al.* 2010). Dinding sel *C. albicans* bersifat dinamis dengan struktur berlapis, terdiri dari beberapa jenis karbohidrat: mannan, β -glukan, dan kitin. Unsur penting lain yang menyusun spesies ini adalah protein dan lemak (Kiyoura & Tamai 2015).

Spesies ini memperbanyak diri dengan membentuk blastospora. Blastospora ini saling bersambung dan bertambah panjang sehingga membentuk pseudohifa. Pseudohifa bersifat lebih virulen dan invasif daripada spora. Sifat virulensi ini didapat dari ukurannya yang besar sehingga sulit untuk difagositosis oleh makrofag, selain itu senjata dari spesies ini memiliki titik-titik blastokonidia multipel pada filamennya sehingga lebih banyak jumlah elemen infeksiusnya (Irianto 2013).



Gambar 1. Struktur dinding sel *C. albicans* (Kiyoura & Tamai 2015).

3. Patogenesis *C. albicans*

Serangkaian proses infeksi yang dilakukan oleh *C. albicans* dimulai dengan perlekatan pada sel epitel. Kemampuan perlekatan yang dimiliki oleh *C. albicans* diikuti dengan proses sekresi enzim proteolitik yang menyebabkan kerusakan pada ikatan protein sel penjamu sehingga memudahkan *C. albicans* untuk melakukan invasi. Hasil kolonisasi dari *C. albicans* memudahkan proses invasi tersebut sehingga menimbulkan gejala pada pejamu. Gejala yang mudah diamati ini biasanya berupa bercak keputih-putihan atau abu-abu keputih-putihan dengan tampilan seperti dadih. *C. albicans* juga mengeluarkan mikotoksin yang mampu menghambat aktivitas fagositosis dan menekan sistem imun. Jamur jenis ini sering tampak pada seseorang dengan sistem imun tidak normal, namun lebih sering ditemukan pada pasien diabetes, AIDS, dan pada wanita hamil (Irianto 2013).

B. Stomatitis Aftosa Rekuren (SAR)

1. Definisi Stomatitis Aftosa Rekuren

Stomatitis Aftosa Rekuren (SAR) merupakan jenis penyakit yang sering ditemukan pada mukosa mulut. Penyakit ini lebih dikenal oleh masyarakat dengan sebutan sariawan. Sebutan lain untuk SAR antara lain *recurrent aphthae*, *recurrent oral ulceration* ataupun *cancer sores*. SAR berupa lesi pseudomembran keputih-putihan, bentuknya berupa bercak-bercak atau menyatu yang terbentuk dari sel epitel, ragi, dan pseudohifa (Jawetz *et al.* 2010).

2. Etiologi Stomatitis Aftosa Rekuren

Berikut merupakan beberapa faktor yang menjadi penyebab terjadinya SAR (Salerno *et al.* 2011) :

2.1 Diabetes. Air liur yang berasal dari pasien diabetes lebih disukai oleh *C. albicans* sebagai media pertumbuhannya. Pada permukaan gigi tiruan pasien diabetes, terdapat peningkatan sejumlah koloni ragi. Komponen gula yang tinggi dalam air liur merupakan faktor penyebab dari kolonisasi *C. albicans*.

2.2 Trauma. Trauma bertindak sebagai kofaktor yang dapat meningkatkan kemampuan invasi *C. albicans*. Faktor ini dapat meningkatkan adhesi, penetrasi *C. albicans*, dan meningkatkan permeabilitas epitelium toksin dan zat terlarut lain yang diproduksi oleh spesies *Candida* ini.

2.3 Air liur. Beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa air liur dapat mengurangi kemampuan adhesi dari *C. albicans*. Pernyataan ini didukung oleh kenyataan bahwa air liur memiliki beberapa molekul defensif seperti lisozim, lakoferin, kalprotektin, dan Ig A yang mampu menurunkan adhesi dari spesies *Candida* ke mukosa mulut. Kondisi rongga mulut yang kering dapat menjadi faktor terjadinya SAR karena kurang terdapatnya agen-agen proteksi di dalam rongga mulut.

2.4 pH rongga mulut. pH rendah dapat mendukung proses adhesi dan proliferasi dari *C. albicans*. Nilai pH yang sama dengan 3 tidak hanya dimanfaatkan oleh jamur ini untuk proses adhesinya, namun juga untuk aktivitas enzimatik proteinase yang merupakan faktor virulensi penting bagi spesies *Candida*. Kadar karbohidrat yang tinggi dalam air liur juga bisa bertindak sebagai sumber makanan untuk *C. albicans*. Proses metabolisme gula ini menghasilkan produk metabolik asam yang berkontribusi dalam pertahanan pH lingkungan yang rendah.

2.5 Permeabilitas *C. albicans*. Adhesi *C. albicans* bergantung pada mikroporositas yang ada pada permukaan gigi tiruan. Kondisi ini memungkinkan jamur ini untuk bersarang. Pada seseorang dengan kebersihan mulut yang buruk, *C. albicans* bisa menembus, menempel dan bergabung bersama komunitas bakteri lainnya seperti *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus gordonii*, *Streptococcus*

oralis dan *Streptococcus anginosus* melalui interaksi antara protein dan karbohidrat.

3. Gambaran klinis Stomatitis Aftosa Rekuren

Lesi muncul pada saat yang bervariasi, pada umumnya berupa rasa nyeri yang muncul dalam interval 3 – 4 minggu. Ada yang berlangsung terus-menerus, tetapi ada juga yang muncul kembali setelah beberapa bulan. SAR yang soliter dapat bertahan hingga 7 – 10 hari, kemudian sembuh tanpa membentuk jaringan parut. Lesi ini umumnya terjadi pada mukosa yang tidak berkeratin seperti mukosa bukal, sulkus, dan bagian lateral lidah. Jenis penyakit ini dapat terjadi pada bagian mukosa yang terlibat dalam pengunyahan. Rasa nyeri yang terjadi pada stomatitis aftosa dapat mengganggu fungsi makan (Cawson & Odell 2008).

C. Agen Antijamur

1. Agen antijamur herbal

1.1 Minyak esensial. Minyak esensial yang mengandung beberapa senyawa seperti fenol, timol 0,064%, eukaliptol 0,092%, dan mentol 0,042% biasa digunakan dalam obat kumur. Mekanisme kerja dari agen antijamur ini terhadap patogen sangat kompleks. Pada konsentrasi tinggi, terjadi gangguan pada dinding sel dan adanya pengendapan protein sel dari patogen. Pada konsentrasi rendah, ada inaktivasi enzim esensial yang penting bagi patogen (Weijden *et al.* 2015).

2. Agen antijamur kimia

2.1 Amfoterisin B. Amfoterisin B berikatan kuat dengan ergosterol dalam membran sel. Interaksi ini mengubah fluiditas membran dan memunculkan poripori di membran yang menjadi tempat keluarnya molekul-molekul kecil. Sel mamalia tidak mempunyai ergosterol sehingga relatif resisten terhadap kerja dari agen ini. Amfoterisin B berikatan lemah dengan kolesterol di membran mamalia (Jawetz *et al.* 2010).

2.2 Flusitosin. Agen ini ditranspor secara aktif ke dalam sel jamur oleh permease. Agen ini dikonversi oleh enzim sitosin deaminase pada jamur menjadi 5-fluorouracil dan tergabung ke dalam asam 5-fluorodeoksiuridilat monofosfat yang bekerja mengganggu aktivitas timidilat sintetase dan sintesis DNA. Sel

mamalia tidak memiliki sitosin deaminase sehingga mereka terlindungi dari efek toksik fluorouracil. Mutan yang resisten terhadap agen ini muncul dengan cepat sehingga kegunaan flusitosin menjadi terbatas (Jawetz *et al.* 2010).

2.3 Azol. Kelompok azol dapat dibagi menjadi dua kelompok berdasarkan jumlah nitrogen pada cincin azolnya. Kelompok imidazol (ketokonazol, mikonazol, dan klotrimazol) terdiri dari dua nitrogen dan kelompok triazol (itrakonazol, flukonazol, varikonazol, dan posakonazol) mengandung tiga nitrogen (Onyewu & Heitman 2007). Kedua kelompok ini memiliki spektrum dan mekanisme aksi yang sama. Golongan azol bekerja dengan mengganggu biosintesis ergosterol yang merupakan sterol utama untuk mempertahankan integritas membran sel jamur. Agen ini menyekat 14- α -demetilasi lanosterol yang merupakan prekursor ergosterol di dalam jamur dan kolesterol di dalam sel mamalia. Sitokrom P450 jamur lebih sensitif sekitar 100-1.000 kali terhadap golongan azol dibandingkan dengan yang ada di dalam sistem mamalia. Agen ini bersifat fungistatik (Jawetz *et al.* 2010).

2.4 Klorheksidin glukonat. Klorheksidin glukonat merupakan agen disinfektan dan antiseptik yang mempunyai aktivitas antimikroba dalam spektrum yang cukup luas. Klorheksidin glukonat dengan konsentrasi 2% dalam isopropil alkohol sebesar 70% biasanya digunakan sebagai antiseptik. Klorheksidin glukonat juga banyak digunakan untuk pencegahan infeksi Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan dalam larutan antiseptik untuk kebersihan mulut (Simsek & Duman 2017). Klorheksidin glukonat adalah bisbiguanide kationik yang aktif melawan gram positif, gram negatif, anaerob fakultatif, aerob, dan ragi. Mekanisme kerja dari agen ini untuk menghambat patogen adalah dengan memanfaatkan muatan positifnya. Muatan positif ini berikatan dengan muatan negatif milik sel inang sehingga menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel inangnya, mengakibatkan komponen sitoplasma keluar, diikuti dengan kematian dari sel inang itu sendiri (Balagopal & Arjunkumar 2013). Klorheksidin glukonat juga bekerja dengan menghambat proses adhesi dari jamur ke permukaan sel host. Agen ini bersifat fungisidal dan fungistatik (Weijden *et al.* 2015).

2.5 Policresulen. Policresulen diaplikasikan secara topikal pada sel yang terluka. Agen yang satu ini dapat menginduksi pembersihan luka dan memfasilitasi regenerasi sel-sel epitel dengan cepat. Policresulen juga bisa menyebabkan koagulasi selektif pada jaringan yang bermasalah tanpa mempengaruhi jaringan yang normal (Havlickova & Weyandt 2014).

2.6 Gentian violet. Gentian violet juga dikenal sebagai kristal violet atau metil violet. Agen antijamur ini merupakan pewarna trifenilmetana dengan sifat antibakteri, antijamur, antelmintik, antiangiogenik dan antitumor. Senyawa ini digunakan sebagai monoterapi dan tambahan untuk pengobatan dalam berbagai penyakit. Gentian violet juga digunakan sebagai dasar pewarnaan gram untuk mengidentifikasi bakteri. Studi menunjukkan bahwa gentian violet dengan konsentrasi kritis rendah sangat efektif dalam melawan *Candida*, *Streptococcus* *Staphylococcus*, dan cukup efektif melawan bakteri gram negatif. Ada beberapa mekanisme dari gentian violet sebagai agen antimikroba. Kristal violet ini mampu melakukan penghambatan sintesis protein. Gentian violet juga mampu menembus dinding sel mikroba dan berikatan kovalen dengan protein milik mikroba (Maley & Arbiser 2013).

2.7 Asam hialuronat. Asam hialuronat merupakan suatu senyawa yang tersusun atas asam D-glukuronat dan N-asetil-D-glukosamin. Komponen penyusun ini dihubungkan oleh ikatan glikosida β (1→3) dan β (1→4). Struktur molekul dari asam hilauronat tergolong unik, zat aktif ini mempunyai ukuran struktur molekul yang tergolong besar. Ukuran struktur ini tidak lepas dari besarnya bobot molekul yang dimiliki oleh asam hialuronat yang mempunyai efek penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* (Sakai *et al.* 2007). Asam hialuronat dapat ditemukan pada air liur, sel epitel pada rongga mulut manusia, vitreous humor pada mata, dan cairan sendi artikular. Kehadiran dari senyawa ini dalam air liur manusia sangat berkontribusi pada mukosa mulut pasien yang cenderung kering. Senyawa ini bekerja dengan memberikan pelumasan dan perlindungan terhadap mukosa mulut tersebut. Sifatnya sebagai lubrikan ini membuat asam hialuronat dapat dianggap sebagai kandidat molekul pengganti air liur untuk pasien dengan mulut kering (Park *et al.* 2010). Asam hialuronat

merupakan senyawa kimia yang bersifat fungistatik. Asam hialuronat menghambat pertumbuhan dari jamur dengan meningkatkan sifat protektif air liur dari host melalui kemampuannya dalam merangsang produksi air liur (Park *et al.* 2010).

D. Metode Uji Aktivitas Antijamur

1. Metode difusi

1.1 Metode difusi cakram. Metode pengujian antijamur dengan difusi cakram menggunakan suatu piringan agar yang diinokulasikan dengan mikroba uji. Kertas cakram (berdiameter sekitar 6 mm) direndam ke dalam larutan senyawa uji dengan konsentrasi tertentu. Perendaman selesai, diikuti dengan penempatan kertas cakram pada permukaan piringan agar. Cawan petri yang berisi piringan agar yang telah ditambahkan dengan mikroba uji dan senyawa uji diinkubasi dalam kondisi yang sesuai dengan kondisi optimum pertumbuhan mikroba uji tersebut. Agen antimikroba berdifusi ke dalam agar dan menghambat pertumbuhan mikroorganisme uji, kemudian diameter zona pertumbuhan penghambatan diukur (Balouiri *et al.* 2016).

1.2 Metode gradien antimikroba (Etest). Metode pengujian aktivitas antijamur ini menggunakan strip diimpregnasi dengan agen antimikroba. Gradien konsentrasi dari agen antimikroba dibuat meningkat dari ujung satu ke ujung lainnya, yang kemudian diaplikasikan ke permukaan agar-agar yang telah diinokulasikan dengan mikroba uji sebelumnya. Metode ini dapat digunakan untuk penentuan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) (Balouiri *et al.* 2016).

1.3 Metode difusi sumuran. Prosedur yang digunakan pada metode ini hampir sama dengan metode difusi cakram. Piringan agar disiapkan, kemudian mikroba uji diinokulasikan ke permukaan agar-agar. Perbedaan dari metode difusi cakram adalah pada metode ini dibuat lubang pada agar dengan diameter 6-8mm menggunakan penggerek gabus steril. Larutan agen antimikroba dimasukkan ke dalam sumur tersebut. Piringan agar diinkubasi pada kondisi yang sesuai

tergantung mikroba uji. Agen antimikroba berdifusi ke media agar dan menghambat pertumbuhan mikroba uji (Balouiri *et al.* 2016).

2. Metode dilusi

2.1 Metode dilusi broth. Prosedur dari metode ini dimulai dengan menyiapkan agen antimikroba yang diencerkan dua kali (misalnya 1, 2, 4, 8, 16 dan 32 mg/ ml) dalam media pertumbuhan cair pada suatu tabung. Setiap tabung atau sumur diinokulasikan dengan mikroba uji yang telah distandarisasi dengan skala 0,5 McFarland. Tabung tersebut diinkubasi dalam kondisi yang sesuai tergantung mikroba uji. Metode ini digunakan untuk penentuan nilai MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dari suatu agen antimikroba. MIC adalah konsentrasi terendah agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba dalam tabung yang dideteksi dengan mata telanjang (Balouiri *et al.* 2016).

2.2 Metode dilusi agar. Metode ini melibatkan penggabungan berbagai macam konsentrasi zat antimikroba yang diinginkan ke dalam medium agar (medium agar cair). Pada metode ini, biasanya digunakan pengenceran sebanyak dua kali diikuti dengan inokulasi inokulum mikroba ke permukaan piringan agar. Titik akhir MIC dicatat sebagai konsentrasi terendah agen antimikroba untuk menghambat pertumbuhan mikroba pada kondisi inkubasi yang sesuai (Balouiri *et al.* 2016).

E. Monografi Agen Antijamur

1. Klorheksidin glukonat (KHG)

Klorheksidin glukonat ($C_{34}H_{54}Cl_2N_{10}O_{14}$) merupakan agen antijamur bisbiguanid. Senyawa ini mempunyai nama kimia klorheksidin biglukonat atau lebih dikenal dengan nama klorheksidin diglukonat di perdagangan. Agen antijamur ini merupakan bahan yang berwujud cair dan tidak berwarna. Persentase kelarutan dalam airnya mencapai 50% (w/v). Berat jenis senyawanya adalah 1,06g/ mL pada suhu 25°C. Senyawa ini tergolong senyawa yang sangat sensitif terhadap cahaya sehingga penyimpanannya harus terhindar dari sumber cahaya dan suhunya harus selalu dikontrol (NCBI 2018).

2. Asam hialuronat (AH)

Asam hialuronat ($C_{28}H_{44}N_2O_{23}$) memiliki bobot molekul sebesar 776.651 g/mol. Bentuk secara fisiknya berupa serbuk berwarna putih. Bahan kimia ini sangat mudah larut dalam air terutama air dingin. Asam hialuronat tidak dapat larut dalam pelarut organik. Senyawa ini tergolong sensitif terhadap paparan cahaya secara langsung sehingga penyimpanannya di tempat yang tertutup dan kering (NCBI 2018).

3. Gentian violet (GV)

Gentian violet ($C_{25}H_{30}ClN_3$) adalah pewarna biru, diekstrak dari tanaman genus Gentiana, yang digunakan dalam larutan topikal dengan khasiat antijamur. Senyawa ini dikenal juga dengan nama kristal violet dan anilina violet. Berat molekulnya adalah 407.986 g/mol. Wujud dari senyawa ini adalah berupa serbuk berwarna hijau hingga hijau tua. Gentian violet sangat larut dalam air dan kloroform, serta larut dalam etanol (30 mg/mL) (NCBI 2018).

F. Landasan Teori

Stomatitis Aftosa Rekuren (SAR) atau lebih dikenal dengan nama sariawan merupakan salah satu penyakit yang mempunyai nilai prevalensi cukup tinggi (Suling *et al.* 2013; Dinkes 2014). Salah satu tanda signifikan dari SAR adalah ditemukannya lesi pseudomembran keputih-putihan, bentuknya berupa bercak-bercak atau menyatu yang terbentuk dari sel epitel, ragi, dan pseudohifa (Jawetz *et al.* 2010). Lesi muncul pada saat yang bervariasi, ada yang berlangsung terus-menerus, tetapi ada juga yang muncul kembali setelah beberapa bulan. Lesi ini umumnya terjadi pada mukosa yang tidak berkeratin seperti mukosa bukal, sulkus, dan bagian lateral lidah. Rasa nyeri yang terjadi pada SAR dapat mengganggu fungsi makan (Cawson & Odell 2008). Terdapat beberapa faktor yang mempengaruhi SAR menurut Salerno *et al.* (2011) seperti : penyakit diabetes (kondisi ini lebih disukai sebagai media pertumbuhan *C. albicans*), pH rongga mulut (pH rendah berpotensi menimbulkan SAR), dan trauma (kofaktor peningkat invasi *C. albicans*).

Penyebab utama dari penyakit SAR adalah jamur *C. albicans*. Spesies ini memperbanyak diri dengan membentuk blastospora. Blastospora saling bersambung dan bertambah panjang sehingga membentuk pseudohifa yang bersifat lebih virulen dan invasif daripada spora sehingga sulit untuk difagositosis oleh makrofag. Proses infeksi yang dilakukan oleh *C. albicans* dimulai dengan perlekatan pada sel epitel. Perlekatan diikuti dengan proses sekresi enzim proteolitik yang menyebabkan kerusakan pada ikatan protein sel penjamu sehingga memudahkan *C. albicans* untuk melakukan invasi. *C. albicans* juga mengeluarkan mikotoksin yang mampu menghambat aktivitas fagositosis dan menekan sistem imun (Irianto 2013).

Cara untuk melawan *C. albicans* penyebab SAR adalah dengan menggunakan agen antijamur. Agen antijamur yang beredar di perdagangan salah satunya dalam bentuk sediaan obat kumur. Agen antijamur (dalam obat kumur) di perdagangan yang mampu melawan dan mempunyai efek toksik terhadap jamur patogen ini diantaranya adalah klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet. Zat-zat aktif tersebut mempunyai efek samping yang rendah dan mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* yang berbeda-beda. Klorheksidin glukonat memanfaatkan muatan positifnya untuk berikatan dengan muatan negatif jamur yang berasal dari asam silikat pada permukaan sel jamur (Soares *et al.* 2000) sehingga menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel jamur, komponen sitoplasma keluar, diikuti dengan kematian dari sel jamur itu sendiri (Balagopal & Arjunkumar 2013), zat ini bersifat fungistatik dan fungisidal (Weijden *et al.* 2015). Asam hialuronat menghambat pertumbuhan dari jamur dengan menginduksi produksi air liur dari sel inang (Park *et al.* 2010). Pada penelitian Jurevic *et al.* (2011), gentian violet dengan konsentrasi 0,00165% mempunyai aktivitas antijamur. Gentian violet mampu menembus dinding sel jamur dan berikatan kovalen dengan protein sel patogen tersebut, senyawa ini juga bisa menghambat sintesis protein dari jamur (Maley & Arbiser 2013). Berdasarkan potensi tiap zat aktif tersebut, maka diharapkan bisa menghasilkan diameter zona hambat yang lebih besar terhadap *C. albicans* ketika mereka diberikan secara kombinasi.

Berdasarkan studi literatur tersebut, maka peneliti bertujuan untuk mengetahui kombinasi mana yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Metode uji antijamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode difusi cakram, dimana aktivitas penghambatan digambarkan melalui nilai diameter zona hambat dari agen antijamur (Balouiri *et al.* 2016). Jamur patogen penyebab SAR yang digunakan pada penelitian adalah *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR. Pada penelitian ini digunakan 2 jenis jamur karena kondisi pertumbuhan mereka sangat berbeda. *C. albicans* ATCC 10231 mendapat makanan dari media dengan nutrisi yang optimal, sedangkan *C. albicans* hasil isolasi sariawan hidupnya lebih liar sehingga secara otomatis hidupnya bersaing dengan mikroba lain (Puspawati 2012). Persaingan ini membuat *C. albicans* isolat memiliki kemampuan bertahan hidup yang lebih baik dibandingkan *C. albicans* murni. Penggunaan agen antijamur lain oleh pasien juga mempengaruhi tingkat kekebalan dari *C. albicans* isolat ini. Berdasarkan penelitian tersebut, peneliti ingin mengetahui kombinasi agen antijamur mana yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.

G. Hipotesis

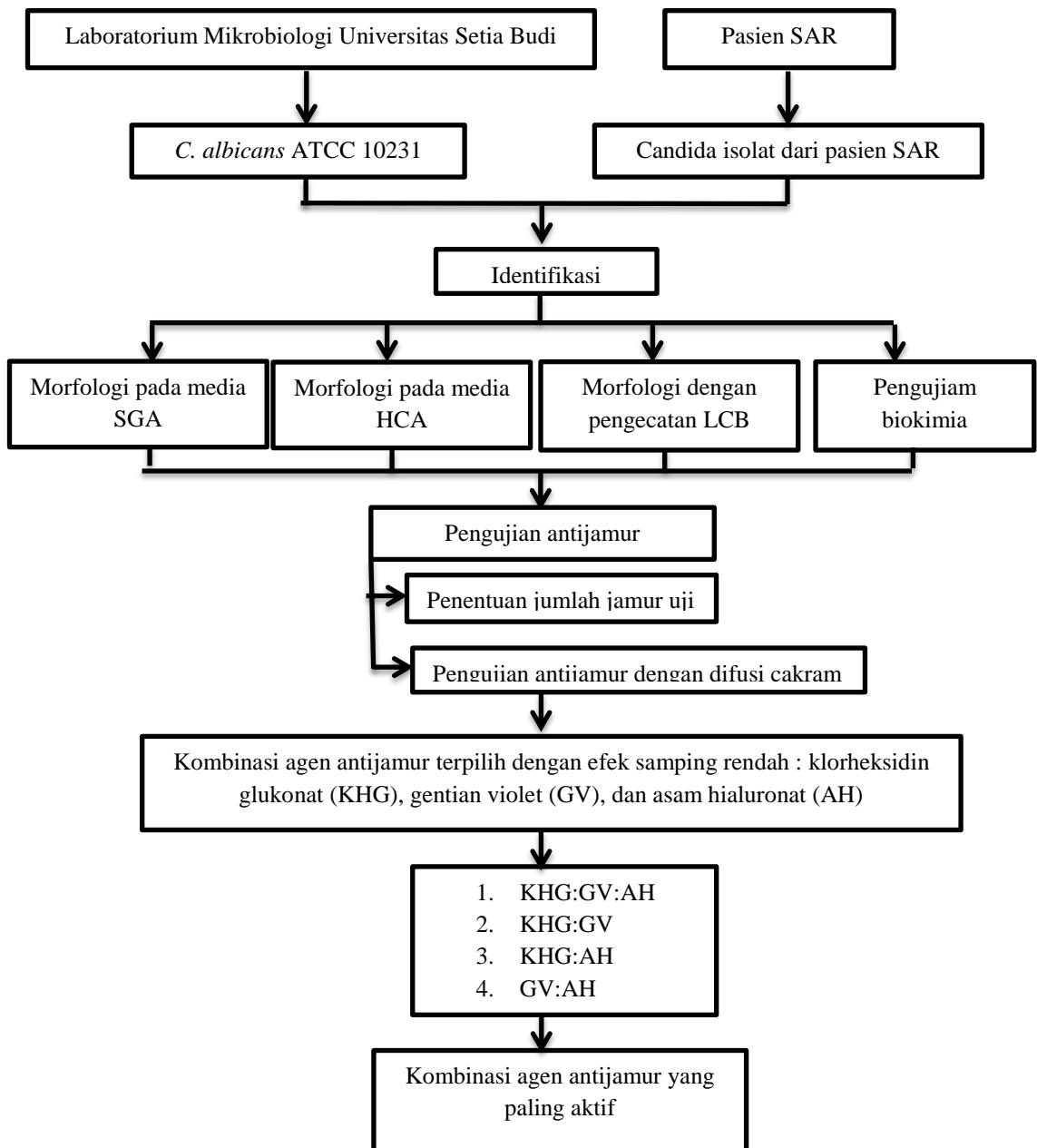
Berdasarkan landasan teori, maka hipotesa yang dapat disusun dalam penelitian ini adalah :

Pertama, terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.

Kedua, kombinasi yang paling aktif terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR adalah kombinasi dari klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet.

Ketiga, terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 jika dibandingkan dengan isolat dari pasien SAR.

H. Kerangka Pikir Penelitian



Gambar 2. Skema kerangka pikir penelitian.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

1. Populasi

Populasi adalah semua objek yang menjadi sasaran penelitian. Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *C. albicans*.

2. Sampel

Sampel adalah sebagian kecil dari populasi yang digunakan dalam melakukan penelitian. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan *C. albicans* hasil isolasi dari mukosa rongga mulut pasien SAR pada bulan Mei 2018.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama pertama dalam penelitian ini adalah agen antijamur kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH) terhadap jamur *C. albicans*.ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah konsentrasi agen antijamur yaitu kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH) dengan total konsentrasi akhir 0,1%.

Variabel utama ketiga dalam penelitian ini adalah aktivitas antijamur kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH) terhadap jamur *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama diklasifikasikan ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel tergantung, dan variabel terkendali.

Variabel bebas adalah variabel yang sengaja dapat dirubah dan direncanakan untuk diketahui pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel bebas pada penelitian ini adalah kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH).

Variabel tergantung adalah variabel yang dapat berubah karena variabel bebas. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah aktivitas antijamur yang dilihat dari besarnya diameter zona hambat.

Variabel terkendali adalah variabel yang berpengaruh terhadap variabel tergantung. Variabel terkendali pada penelitian ini adalah jamur uji *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari rongga mulut pasien SAR, media pertumbuhan *C. albicans* (nutrisi), kondisi pertumbuhan *C. albicans* (suhu, waktu inkubasi), sterilisasi, kondisi laboratorium, kondisi peneliti.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, agen antijamur adalah zat yang memiliki daya bunuh terhadap jamur, agen antijamur yang digunakan dalam penelitian adalah kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH).

Kedua, konsentrasi agen antijamur adalah konsentrasi kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH) dengan konsentrasi akhir tiap kombinasi sebesar 0,1%.

Ketiga, jamur uji dalam penelitian ini adalah jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan *C. albicans* hasil isolasi dari mukosa rongga mulut pasien SAR pada Mei 2018.

Keempat, pasien SAR adalah seseorang yang sedang terkena penyakit sariawan dimana terdapat lesi putih yang terasa nyeri pada rongga mulutnya.

Kelima, metode uji aktivitas antijamur dalam penelitian ini adalah dengan menggunakan metode difusi cakram.

Keenam, diameter zona hambat adalah ukuran yang menggambarkan besarnya daya antijamur terhadap jamur uji.

C. Alat dan Bahar

1. Bahan

1.1 Bahan sampel. Bahan sampel yang digunakan adalah hasil swab mukosa rongga mulut pasien SAR.

1.2 Bahan kimia. Bahan kimia yang digunakan adalah klorheksidin glukonat (KHG), asam hialuronat (AH), gentian violet (GV), *Sabouraud Glucose Agar* (SGA), *Saboraud Glucose Cair* (SGC), standar McFarland 0.5, ketokonazol 0,1%, aquadest steril, serum, kloramfenikol, *Lactophenol Cotton Blue* (LCB), *HiCrome Candida Differential Agar* (HCA), media gula-gula (media glukosa, laktosa, sukrosa, dan maltosa cair).

1.3 Jamur Uji. Jamur uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *C. albicans* ATCC 10231 yang diperoleh dari Laboratorium

Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta dan *C. albicans* hasil isolasi dari mukosa rongga mulut pasien SAR pada Mei 2018.

2. Alat

Alat yang digunakan yaitu peralatan gelas, mikroskop, kapas lidi steril, jarum Ose, vortex, inkubator, oven, inkas, timbangan analitik, dan kertas cakram.

D. Jalannya Penelitian

1. Penanaman biakan murni *C. albicans* ATCC 10231

Penanaman *C. albicans* ATCC 10231 dilakukan dengan menggores beberapa Ose dari biakan murni kemudian diinokulasikan ke media SGA dengan metode gores kuadran empat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Pada media tersebut, diambil 1 koloni murni dengan Ose untuk diperbanyak dalam serum pada tahap selanjutnya.

2. Isolasi *Candida* dari pasien SAR

Isolasi dilakukan dengan mengambil sampel dengan cara membasahi kapas lidi steril dengan aquadest steril kemudian ditiriskan dan diusap pada luka sariawan pada rongga mulut, kemudian diratakan pada media SGA, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam maka akan terbentuk koloni-koloni yang masih berhimpitan. Satu macam inokulum didapatkan dengan cara mengambil 1 Ose koloni yang berhimpitan dari hasil inkubasi tersebut kemudian ditanam pada media SGA dengan metode gores kuadaran empat. Proses inkubasi dilakukan pada suhu 37°C selama 48 jam maka akan terbentuk koloni yang lunak, berwarna krem dan berbau seperti ragi (Puspawati 2012). Pada media tersebut, diambil 1 koloni murni dengan Ose untuk diperbanyak dalam serum.

3. Perbanyak *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

Proses perbanyak dilakukan dengan memasukkan masing-masing 1 koloni *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR ke dalam serum, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam (Septiyana 2013).

4. Identifikasi *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

4.1 Identifikasi pada media *Sabouraud Glucose Agar* (SGA).

Hasil perbanyakan ditanam pada media SGA dengan menggunakan metode gores kuadran empat dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam sehingga terbentuk koloni halus yang berbentuk bulat, cembung, berwarna krem, dan mempunyai bau seperti ragi (Ariyani *et al* 2009).

4.2 Identifikasi pada media *HiCrome Candida Differential Agar* (HCA). Hasil perbanyakan ditanam pada media HCA dengan metode gores kuadran empat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam akan terbentuk koloni yang berbentuk bulat dan berwarna hijau kemilau (Mutiawati 2016).

4.3 Identifikasi dengan pengecatan *Lactophenol Cotton Blue* (LCB). Identifikasi dengan pewarna LCB dilakukan dengan mengambil 1 Ose dari hasil perbanyakan kemudian diletakkan di atas gelas objek yang telah dibersihkan dengan alkohol 70% dan dipijarkan di atas bunsen. Pengecatan dilakukan dengan meneteskan LCB sebanyak 1 tetes, kemudian spesimen ditutup dengan *deck glass* dan diamati dengan mikroskop.

4.4 Identifikasi dengan uji biokimia. Identifikasi biokimia dilakukan dengan mengambil 1 Ose dari hasil perbanyakan kemudian diinokulasikan dalam media glukosa, maltosa, sukrosa, dan laktosa cair dalam tabung reaksi yang di dalamnya telah diletakkan tabung durham dan ditambahkan *phenol red* 1% sebagai indikator. Tabung durham digunakan untuk mengetahui pembentukan gas diletakkan secara terbalik dalam tabung reaksi. *C. albicans* memperlihatkan hasil reaksi fermentasi berupa gas yang akan tampak sebagai ruang kosong pada tabung durham dan terbentuknya asam yang ditandai dengan berubahnya warna menjadi kekuningan pada media glukosa, maltosa, dan sukrosa cair serta tidak terjadi terjadi proses fermentasi pada media laktosa cair (Koneman *et al.* 1997).

5. Penentuan jumlah jamur uji berdasarkan standar McFarland 0,5

Tahap penentuan jumlah jamur uji didahului dengan proses peremajaan masing-masing jamur uji pada media SGA. Beberapa koloni jamur diambil dari hasil inkubasi pada proses peremajaan menggunakan Ose, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi berisi 10 mL media SGC. Suspensi kemudian dibandingkan sesuai dengan kepekatan tertentu milik standar McFarland 0,5 yaitu 1×10^8 CFU/mL.

6. Pembuatan kontrol dan preparasi larutan uji

Pengujian antijamur ini menggunakan 2 larutan kontrol dan 4 larutan uji. Larutan kontrol yang digunakan adalah kontrol positif berupa ketokonazol 0,1% dan kontrol negatif berupa aquadest steril. Larutan uji yang digunakan adalah kombinasi klorheksidin glukonat : gentian violet : asam hialuronat (KHG:GV:AH), klorheksidin glukonat : gentian violet (KHG:GV), klorheksidin glukonat : asam hialuronat (KHG:AH), dan gentian violet : asam hialuronat (GV:AH) dengan konsentrasi akhir tiap kombinasi sebesar 0,1%. Larutan uji dengan 3 zat aktif dibuat dengan mencampurkan masing-masing zat aktif dengan konsentrasi 0,033% sedangkan larutan uji dengan 2 zat aktif dibuat dengan mencampurkan masing-masing zat aktif dengan konsentrasi 0,05%. Larutan stok dari tiap zat aktif dibuat dalam konsentrasi 0,1% terlebih dahulu, kemudian diencerkan ke dalam konsentrasi masing-masing dengan menggunakan aquadest steril. Perhitungan pembuatan larutan uji dapat dilihat pada Lampiran 4.

7. Pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi cakram

Pengujian aktivitas antijamur didahului dengan penanaman jamur uji yang diambil dari suspensi jamur yang sudah sesuai standar McFarland 0,5 kemudian diulaskan secara merata pada media SGA dengan kapas lidi steril dan ditunggu hingga 5 menit agar suspensi meresap dalam media. Proses perendaman dilakukan terhadap kertas cakram dalam 4 larutan uji dan 2 larutan kontrol selama 3 menit hingga larutan meresap ke dalam kertas cakram, kemudian ditiriskan selama 1 menit. Pinset steril digunakan

untuk meletakkan kertas cakram tersebut ke media SGA yang sebelumnya ditanami dengan jamur uji. Inkubasi dilakukan selama 48 jam pada suhu 37°C. Pengujian antijamur ini dilakukan sebanyak 3 kali replikasi.

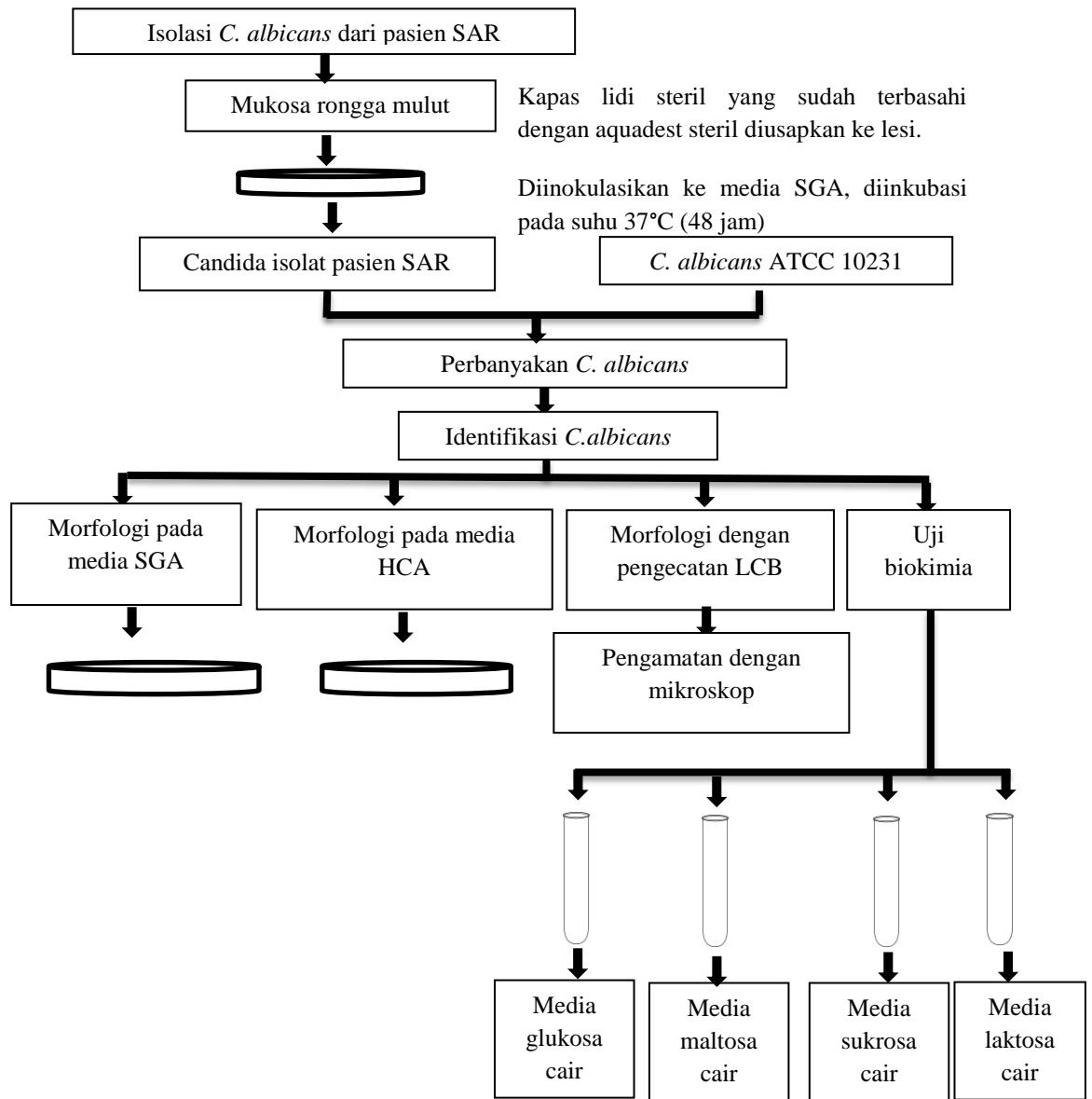
8. Pengamatan hasil pengujian aktivitas antijamur

Pengamatan dilakukan melalui pengukuran zona hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram dengan menggunakan jangka sorong berketelitian 0,05 mm. Zona hambat diukur dari tepi ke tepi melewati kertas cakram.

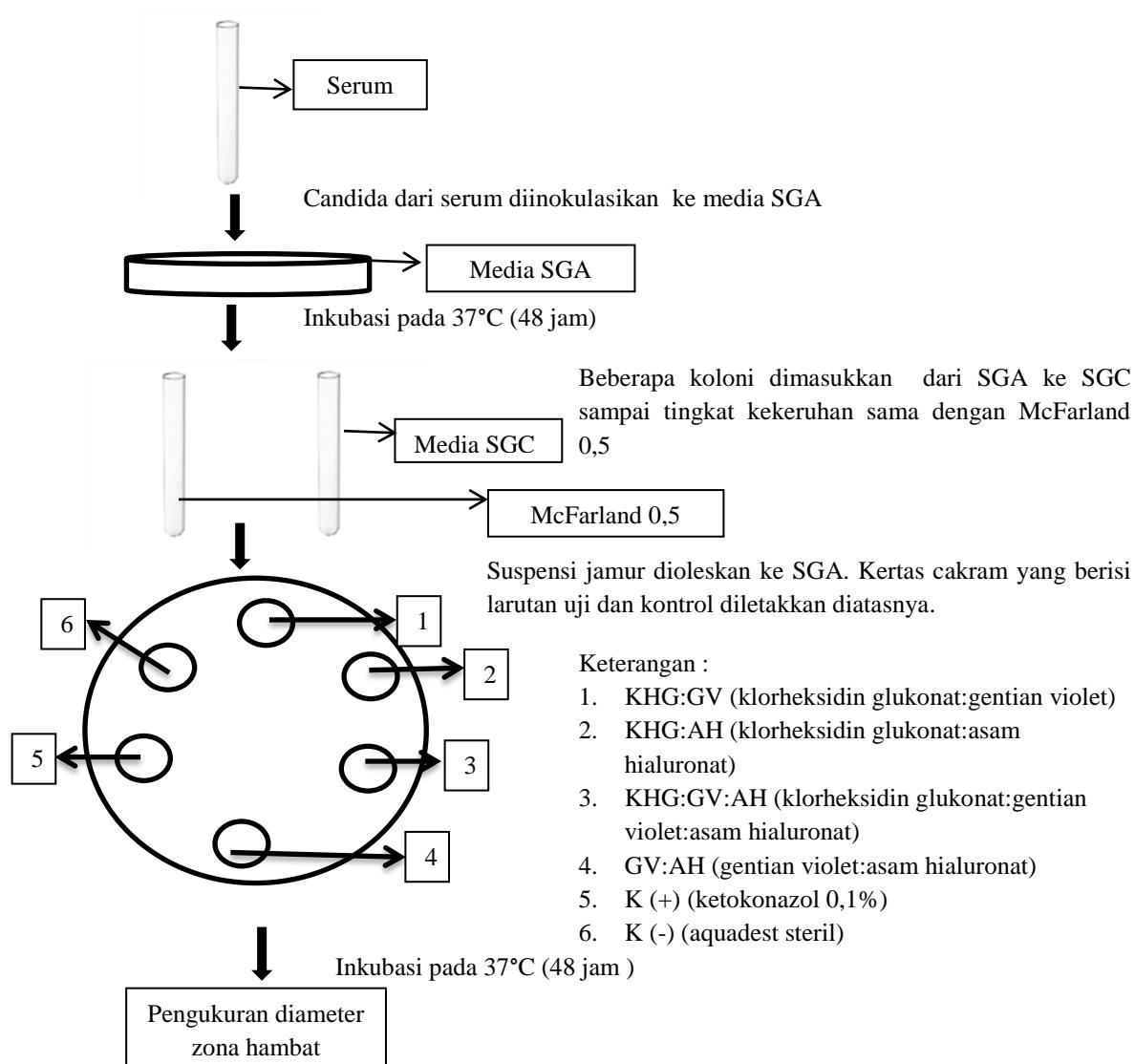
E. Analisis Hasil

Data hasil pengujian daya antijamur kombinasi klorheksidin glukonat : asam hialuronat : gentian violet, klorheksidin glukonat : asam hialuronat, klorheksidin glukonat : gentian violet, dan asam hialuronat : gentian violet terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR berupa data diameter zona hambat yang terbentuk. Tiap perlakuan agen antijamur terhadap jamur uji dilakukan replikasi sebanyak 3 kali. Keseluruhan data diameter zona hambat yang terbentuk tersebut dianalisis secara statistik menggunakan metode Kolmogorov-Smirnov. Hasil yang diperoleh jika terdistribusi normal ($p>0,05$) dilanjutkan dengan metode ANOVA satu jalan dengan taraf kepercayaan 95% diikuti dengan uji post hoc (*Student-Newman-Keuls*) untuk mengetahui perbedaan pengaruh tiap kombinasi terhadap jamur uji. Hasil analisis dengan Kolmogorov-Smirnov jika tidak terdistribusi normal ($p<0,05$) maka dilanjutkan dengan uji Kruskal-Wallis diikuti dengan uji post hoc (*Mann-Whitney*).

F. Skema Penelitian



Gambar 3. Skema identifikasi *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR



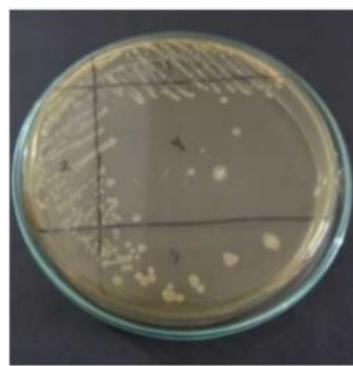
Gambar 4. Skema pengujian antijamur.

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Isolasi *Candida* dari pasien SAR

Hasil isolasi pada media SGA menunjukkan adanya koloni berbentuk bulat, berwarna krem, dan beraroma seperti ragi sesuai dengan ciri-ciri koloni *C. albicans* pada media SGA (Septiyana 2013). Hasil isolasi *C. albicans* isolat dari pasien SAR dapat dilihat pada Gambar 5.



Gambar 5. Hasil isolasi *Candida* dari pasien SAR.

Isolasi bertujuan untuk memisahkan *C. albicans* yang menjadi penyebab SAR dari mikroorganisme lain yang ada di rongga mulut pasien. Pada penelitian ini, sampel diambil dari seorang pasien berjenis kelamin laki-laki, berusia 20 tahun yang mempunyai riwayat penyakit SAR dengan frekuensi \pm 2 bulan sekali sejak bulan Juli 2017. Pasien mempunyai kebiasaan buruk yaitu tidak pernah sikat gigi sebelum tidur sejak tahun 2012. Kebiasaan buruk ini mengakibatkan pasien sering terkena SAR. Agen antijamur yang sering digunakan oleh pasien adalah policresulen dan frekuensi pemakaian agen antijamur tersebut tidak rutin, akibatnya SAR hilang lebih lama dan adanya pengurangan kepekaan terhadap policresulen.

2. Perbanyak *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

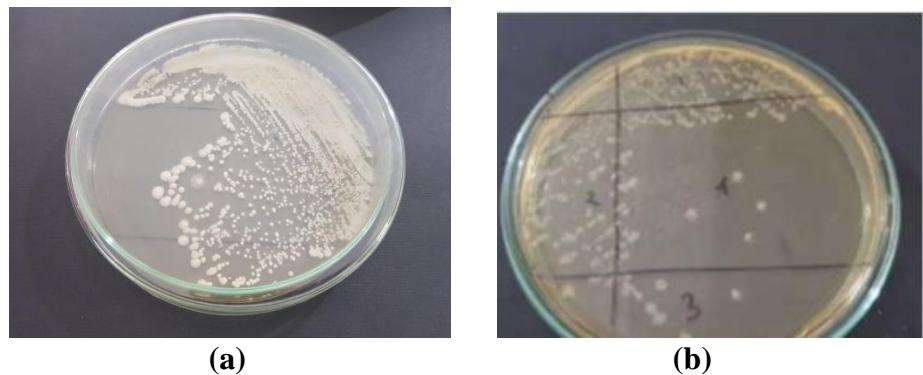
Hasil dari proses perbanyakan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR dalam serum yang berupa tabung benih dapat dilihat secara mikroskopis pada Gambar 6. Serum merupakan plasma darah yang

tidak mengandung fibrinogen. Serum di sini berperan dalam mempercepat pengembangbiakan sel *C. albicans* ke dalam bentuk pseudohifa. Sel-sel *C. albicans* mulai membentuk tabung benih dalam serum selama 90 menit pada suhu 37°C sedangkan pada media yang kekurangan nutrisi belum terbentuk komponen tersebut (Simatupang 2008). Tabung benih merupakan sel jamur dengan filamen pendek tanpa adanya penyempitan. Serum yang digunakan pada penelitian ini berasal dari darah yang diambil melalui bagian belakang telinga kelinci. Pada penelitian Hilmioğlu *et al.* (2007) menunjukkan bahwa serum hewan yang paling cepat dalam menginduksi terbentuknya tabung benih pada sel *C. albicans* adalah serum dari kelinci. Komponen aktif dalam serum yang mampu menginduksi terbentuknya tabung benih pada *C. albicans* adalah D-glukosa. Komponen ini didapatkan melalui proses destruksi oleh enzim glukosa oksidase terhadap glukosa yang terkandung dalam serum (Hudson *et al.* 2004), kemudian komponen aktif tersebut berikatan dengan *G-Protein-coupled Receptor* (GPR1) yang terletak pada membran sel *C. albicans* (Rolland *et al.* 2002) sehingga dapat menginduksi perkembangbiakan *C. albicans* secara cepat.

3. Identifikasi *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

3.1 Identifikasi pada media *Saboraud Glucose Agar* (SGA).

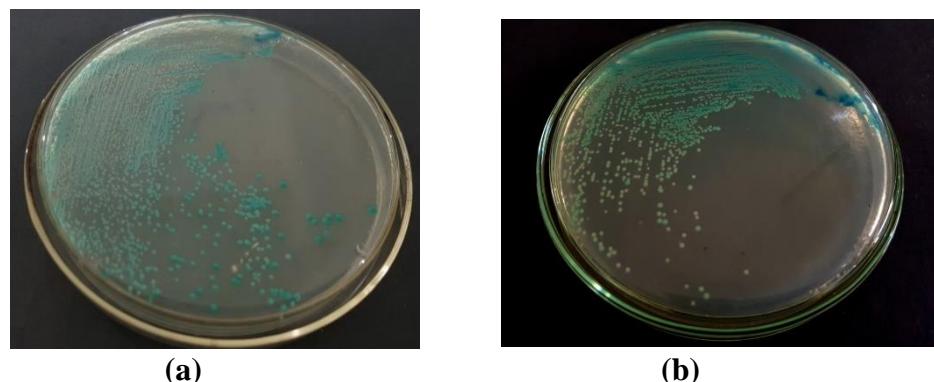
Identifikasi dengan media SGA bertujuan untuk mengetahui adanya jamur yang diduga sebagai *C. albicans*, namun media ini belum bisa mengidentifikasi secara spesifik spesies *Candida* yang tumbuh pada media. Hasil identifikasi menunjukkan koloni halus berbentuk bulat, berwarna krem, dan beraroma seperti ragi (Ariyani 2009; Puspawati 2012). Media SGA dapat menumbuhkan spesies *Candida* ini karena komponennya sesuai dengan kondisi fisiologi dari jamur tersebut. Media SGA mengandung gula dengan kadar 4%, pH media sebesar 5,6 dan terdapat pula komponen pepton yang berperan sebagai sumber nitrogen (Pelczar dan Chan 1986). Hasil identifikasi pada media SGA dapat dilihat pada Gambar 7.



Gambar 7. Hasil identifikasi dengan media *Saboraud Glucose Agar C. albicans ATCC 10231* (a), *Candida* isolat dari pasien SAR (b).

Aroma koloni yang seperti ragi berasal dari CO₂ yang merupakan produk hasil fermentasi komponen glukosa yang terdapat dalam media SGA. Morfologi koloni dari *C. albicans* yang berbentuk bulat dan berwarna krem diperoleh dari ekspresi gen *White phase specific* (WH11) dengan regulator *Enhanced filamentous growth* (Efg1) (Tao *et al.* 2014).

3.2 Identifikasi pada media *HiCrome Candida Differential Agar* (HCA). Identifikasi dengan media HCA bertujuan untuk mengetahui spesies dari *Candida* secara spesifik. Hasil identifikasi menunjukkan koloni berbentuk bulat dan berwarna hijau kemilau (Mutiawati 2016). Hasil identifikasi dengan media HCA dapat dilihat pada Gambar 8.

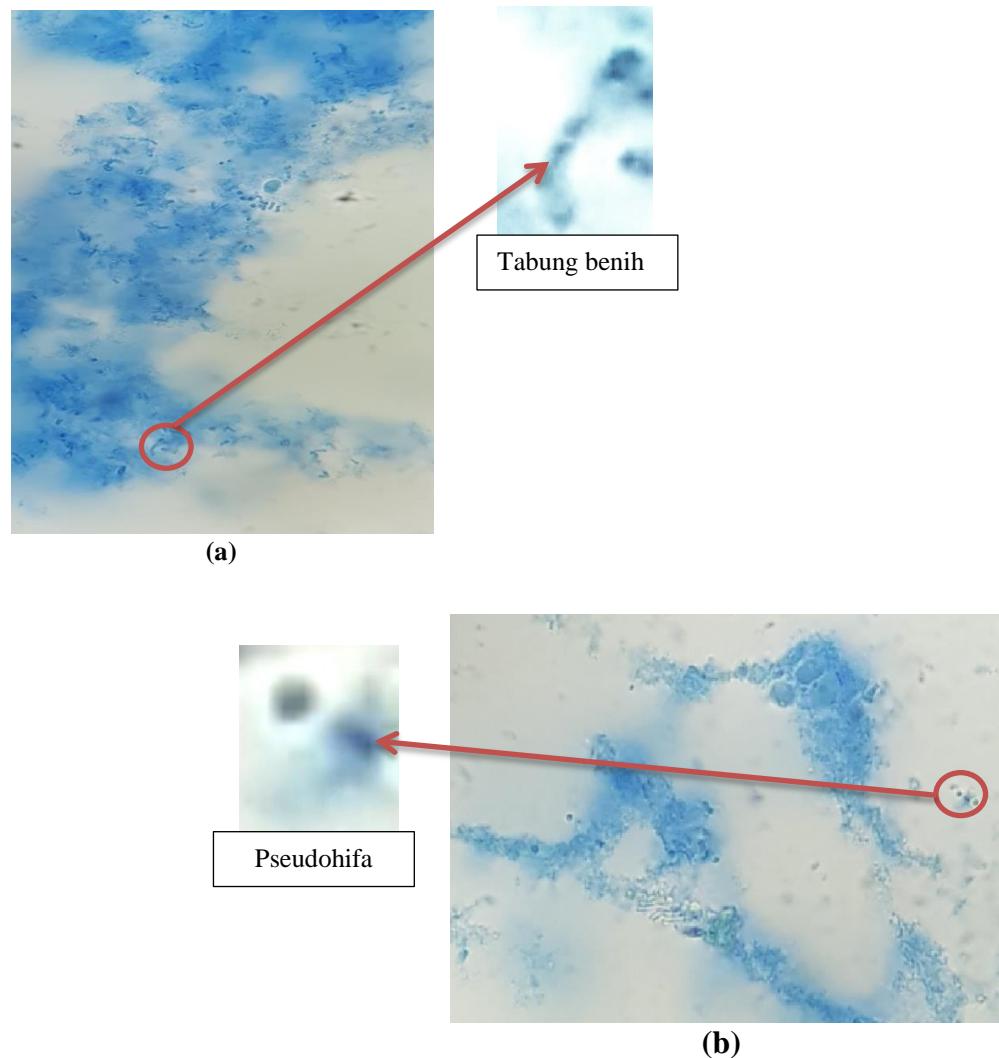


Gambar 8. Hasil identifikasi dengan media *HiCrome Candida Differential Agar C. albicans ATCC 10231* (a), *Candida* isolat dari pasien SAR (b).

Warna ini terbentuk karena adanya reaksi antara enzim β -N-acetylhexosaminidase yang diproduksi oleh *C. albicans* dengan *p-nitrophenyl-N-acetyl- β -D-glukosaminide* yang merupakan substrat dari agen kromogenik dalam media HCA. Gen β -hexosaminidase (HEX1)

dalam *C. albicans* berperan dalam mengode terbentuknya enzim β -*N*-acetylhexosaminidase ini. Enzim tersebut memecah substrat dari agen kromogenik sehingga terbentuk reaksi warna yaitu koloni *C. albicans* yang berwarna hijau kemilau pada media HCA (Niimi *et al.* 2001).

3.3 Identifikasi dengan pengecatan *Lactophenol Cotton Blue* (LCB). Identifikasi ini dilakukan untuk melihat morfologi *C. albicans* secara mikroskopis. Hasil identifikasi dengan pengecatan LCB dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Hasil pengecatan *Lactophenol Cotton Blue* *C. albicans* ATCC 10231(a), *C.albicans* isolat dari pasien SAR (b).

Pada hasil pengamatan tampak bahwa tabung benih merupakan sel *C. albicans* dengan filamen pendek tanpa adanya konstriksi. Blastospora yang saling bersambung dan bertambah panjang merupakan bentuk pseudohifa dari *C. albicans* (Mutiarawati 2016). Berdasarkan patogenitasnya, pseudohifa bersifat lebih virulen dan invasif daripada blastospora, hal ini dikarenakan pseudohifa mempunyai ukuran yang lebih besar sehingga sulit untuk difagositosis oleh makrofag (Irianto 2013). Pengecatan LCB ini membuat *C. albicans* tampak berwarna biru. Warna ini diperoleh dari komponen *cotton blue* yang terdapat dalam LCB. Komponen fenol berperan sebagai disinfektan, asam laktat untuk mempertajam struktur *C. albicans*, dan gliserol untuk menjaga sel terhadap kekeringan (Basava *et al.* 2016). *Cotton blue* dapat berpenetrasi karena dinding spora yang awalnya bersifat impermeabel, melalui bantuan pemanasan, maka ia dapat ditembus oleh zat pewarna ini. Bentuk dan warna spora ini dapat digunakan sebagai salah satu cara untuk mengidentifikasi jamur (Fardiaz 1987).

3.4 Identifikasi dengan uji biokimia. Identifikasi ini bertujuan untuk mengetahui media gula apa saja yang difermentasi oleh *C. albicans*. Hasil data identifikasi dari uji biokimia dapat dilihat pada Tabel 1 dan gambar hasil identifikasi dapat dilihat pada Lampiran 3.

Tabel 1. Hasil identifikasi dengan uji biokimia terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

Media	Hasil identifikasi			
	<i>C. albicans</i> ATCC 10231		<i>C. albicans</i> isolat	
Glukosa	G +	K +	G +	K +
Maltosa	G +	K +	G +	K +
Sukrosa	G +	K +	G +	K +
Laktosa	G -	K -	G -	K -

G + : terbentuk gas, G - : tidak terbentuk gas, K + : terbentuk warna kuning, K - : tidak terbentuk warna kuning

Hasil dari identifikasi secara biokimia dari *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR sesuai dengan ciri-ciri pada literatur (Koneman *et al.* 1997). Perubahan warna merah dari indikator *phenol red* 1% menjadi

kuning menunjukkan terbentuknya asam pada reaksi fermentasi pada suasana anaerob sedangkan terbentuknya gas dapat diketahui dengan melihat adanya gelembung udara pada tabung Durham yang diletakkan terbalik dalam tabung reaksi. Pada proses fermentasi, karbohidrat yang berada pada larutan gula digunakan untuk metabolisme sel. Pada suasana anaerob, hasil fermentasi berupa asam laktat atau etanol dan CO₂ (Tjampakasari 2006).

4. Pengujian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR dengan metode difusi cakram

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi dengan menggunakan metode difusi cakram. Metode ini bertujuan untuk mengetahui variasi kombinasi yang paling aktif dari ketiga zat aktif yang digunakan berdasarkan besarnya diameter zona hambat yang dihasilkan terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat pada pasien SAR. Zona hambat pertumbuhan jamur *C. albicans* ditandai dengan terbentuknya daerah jernih di sekeliling kertas cakram. Rata-rata diameter hambat hasil pengujian antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil data rata-rata diameter hambat uji aktivitas antijamur secara difusi cakram terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

Zat	Konsentrasi akhir (%)	Rata-rata diameter hambat (mm) ± SD	
		<i>C. albicans</i> ATCC 10231	<i>C. albicans</i> isolat
KHG:GV:AH	0,1	28,57 ± 0,31 a	23,23 ± 0,25 a
KHG:GV	0,1	24,80 ± 0,17 a b	18,37 ± 0,12 a b
KHG:AH	0,1	23,00 ± 0,26 a b	12,47 ± 0,06 a b
GV:AH	0,1	20,07 ± 0,35 a b	6,83 ± 0,15 a b
Ketokonazol	0,1	25,43 ± 0,06 a b	18,67 ± 0,12 a b
Aquadest steril	-	0 ± 0,00 b	0 ± 0,00 b

Keterangan zat : KHG/ Klorheksidin glukonat, GV/ Gentian violet, AH/ Asam hialuronat. Keterangan huruf : a/ terdapat perbedaan signifikan dibandingkan kontrol aquadest steril (Sig < 0,05), b/ terdapat perbedaan signifikan dibandingkan KHG:GV:AH (kombinasi yang paling aktif) (Sig < 0,05).

Pengujian aktivitas antijamur ini menggunakan ketokonazol 0,1% sebagai kontrol positif karena sitokrom P450 *C. albicans* tergolong sensitif terhadap agen antijamur ini dimana agen ini menyekat 14- α -demetilasi lanosterol yang merupakan prekursor ergosterol di dalam jamur (Jawetz *et al.* 2010). Ketokonazol dipilih sebagai kontrol positif karena zat aktif ini sangat aktif dan poten sebagai agen kandidiasis (Cutsem 1983). Kontrol positif berperan sebagai standar untuk membandingkan kemampuan penghambatan dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, gentian violet, dan asam hialuronat terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat pada pasien SAR. Kontrol positif juga bertujuan untuk membuktikan bahwa eksperimen yang dilakukan sudah tepat dan dapat menghasilkan perubahan yang positif pada variabel tergantung. Aquadest steril digunakan sebagai kontrol negatif karena tidak mempunyai aktivitas antijamur dan mampu melarutkan masing-masing zat aktif. Hasil dari pengujian aktivitas antijamur dengan metode difusi cakram berupa zona hambat jernih yang kemudian dilakukan pengukuran terhadap diameternya. Menurut Suriawiria (2005), berdasarkan zona hambat yang terbentuk maka aktivitas antimikroba dapat digolongkan menjadi beberapa golongan yaitu lemah (zona hambat < 5 mm), sedang (zona hambat antara 5-10 mm), kuat (zona hambat 10-20 mm), dan tergolong sangat kuat (zona hambat > 20 mm).

Pengujian aktivitas antijamur KHG:GV:AH, KHG:GV, KHG:AH, dan GV:AH terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR menunjukkan adanya daya hambat, hal tersebut dibuktikan dengan adanya daerah jernih di sekeliling kertas cakram. Menurut penggolongan aktivitas antimikroba dari Suriawiria (2005), daya hambat antijamur KHG:GV:AH , KHG:GV, KHG:AH, dan GV:AH terhadap *C. albicans* ATCC 10231 tergolong sangat kuat. Pada pengujian antijamur terhadap *C. albicans* isolat dari pasien SAR, daya hambat antijamur KHG:GV:AH tergolong sangat kuat, KHG:GV dan KHG:AH tergolong kuat, sedangkan GV:AH tergolong sedang.

Analisa data dari hasil pengujian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR dengan metode difusi cakram diuji secara statistik melalui SPSS Statistics 17.0. Berdasarkan hasil pengujian *One Way Analysis of Variance* (ANOVA) dan post hoc *Student-Newman-Keuls*, menunjukkan bahwa terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari 4 variasi kombinasi klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR. Hasil uji *Student-Newman-Keuls* juga menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan dari 4 variasi kombinasi zat aktif yang digunakan dengan ketokonazol 0,1% dan aquadest steril, dimana kombinasi KHG:GV:AH mempunyai rata-rata diameter hambat yang lebih besar dibandingkan ketokonazol 0,1% yang merupakan kontrol positif pada pengujian antijamur ini. Hasil analisa data secara statistik dari pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dapat dilihat pada Lampiran 6 sedangkan pada *C. albicans* isolat dari pasien SAR dapat dilihat pada Lampiran 8.

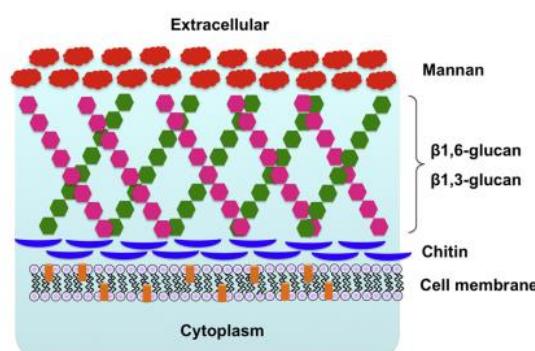
Dengan demikian, diketahui bahwa terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari KHG:GV:AH, KHG:GV, KHG:AH, dan GV:AH. Kombinasi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR adalah KHG:GV:AH. Perbedaan aktivitas antijamur tersebut diperkuat dengan hasil analisis data secara statistik. Hasil ini juga membuktikan bahwa kombinasi KHG:GV:AH yang mempunyai konsentrasi akhir 0,1% ini lebih aktif dalam menghambat *C. albicans* ATCC 10231 dibandingkan KHG 0,1% (13,10 mm) sedangkan pada penelitian Abdalrahman (2014) diameter hambat KHG 0,1% sebesar 12,5 mm, GV 0,1% (10,50 mm), dan AH 0,1% (8,80 mm) dimana peneliti melakukan pengujian antijamur sebelumnya dengan menggunakan masing-masing zat aktif secara tunggal. Gambar hasil uji antijamur KHG:GV:AH, KHG:GV, KHG:AH, dan GV:AH terhadap *C. albicans* ATCC 10231 secara difusi cakram dapat dilihat pada Lampiran 5

sedangkan pada *C. albicans* isolat dari pasien SAR dapat dilihat pada Lampiran 7.

5. Mekanisme kerja agen antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

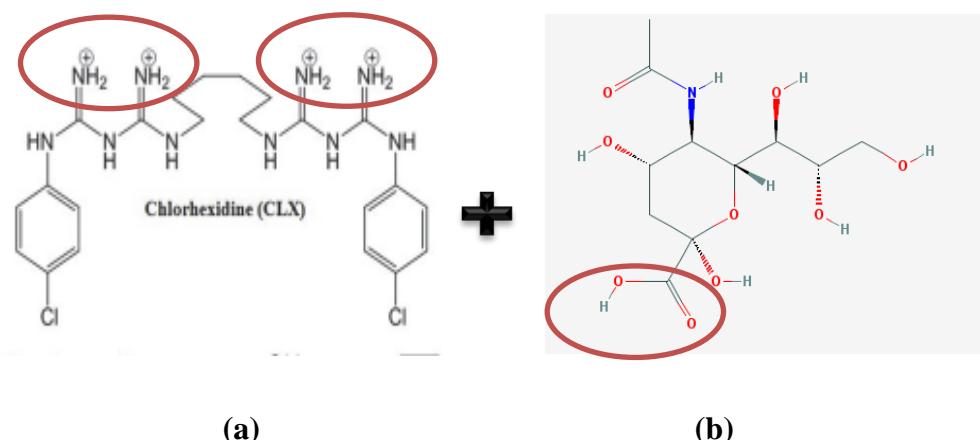
Hasil pengujian aktivitas antijamur kombinasi dari klorheksidin glukonat, gentian violet, dan asam hialuronat terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR menunjukkan bahwa kombinasi yang paling aktif dalam menghambat pertumbuhan spesies Candida tersebut adalah KHG:GV:AH. Berdasarkan besarnya zona hambat dari masing-masing kombinasi agen antijamur, maka aktivitas antijamurnya dapat diurutkan dari yang paling aktif hingga kurang aktif antara lain KHG:GV:AH, KHG:GV, KHG:AH, dan GV:AH. Aktivitas antijamur yang dimiliki oleh tiap kombinasi agen antijamur tersebut berbeda secara signifikan.

KHG:GV:AH merupakan kombinasi yang paling aktif di antara kombinasi lainnya. Hal ini terjadi karena kombinasi ini didukung dengan 3 mekanisme kerja yang berbeda untuk menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Klorheksidin glukonat bekerja dengan berikatan dengan muatan negatif *C. albicans* yang berasal dari asam silikat pada permukaan selnya. Komponen asam silikat ini terletak pada komponen dinding sel *C. albicans* yang disebut mannan (Soares *et al.* 2000), gambar struktur dinding sel *C. albicans* dapat dilihat pada Gambar 9.



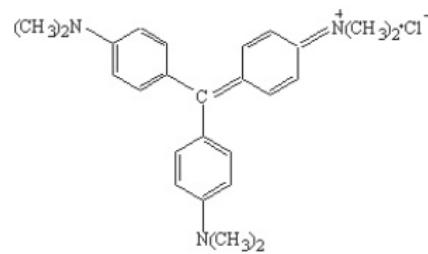
Gambar 9. Susunan dinding sel *C. albicans* (Kiyoura & Tamai 2015).

Muatan positif yang berasal dari NH^{2+} dari klorheksidin glukonat berikatan dengan gugus karboksilat dari asam silikat (Cole & Hoch 1991), sehingga menyebabkan perubahan pada permeabilitas membran sel jamur, komponen sitoplasma keluar dan diikuti dengan kematian dari sel jamur itu sendiri (Balagopal & Arjunkumar 2013). Zat aktif ini bersifat fungistatik dan fungisidal (Weijden *et al.* 2015).

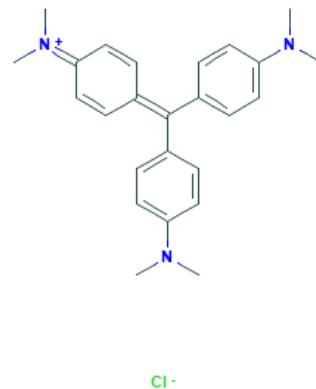


Gambar 10. Struktur kimia klorheksidin glukonat (a) (Bello *et al.* 2015), asam silikat dari sel *C. albicans* (b) (NCBI 2018).

Kerja dari klorheksidin glukonat didukung dengan adanya gentian violet yang merupakan *cationic dye*. Di dalam air, gentian violet berdisosiasi menjadi ion positif (GV^+) dan ion negatif (Cl^-) yang kemudian berpenetrasi melalui dinding sel *C. albicans* (NCBI 2018) melalui mekanisme difusi (Gunsalus 1979). Untuk mencapai target DNA dan RNA yang berada di dalam inti sel serta thioredoxin 2 yang terletak di dalam mitokondria, maka muatan positif gentian violet berikatan dengan gugus hidroksil dari komponen ergosterol yang berada di membran luar inti sel dan mitokondria, hal ini menyebabkan permeabilitas membran berubah sehingga gentian violet dapat masuk ke dalamnya (Bard *et al.* 1978). Muatan positif dari gentian violet kemudian berinteraksi dengan muatan negatif dari DNA dan RNA jamur sehingga terjadi suatu ikatan (NCBI 2018).

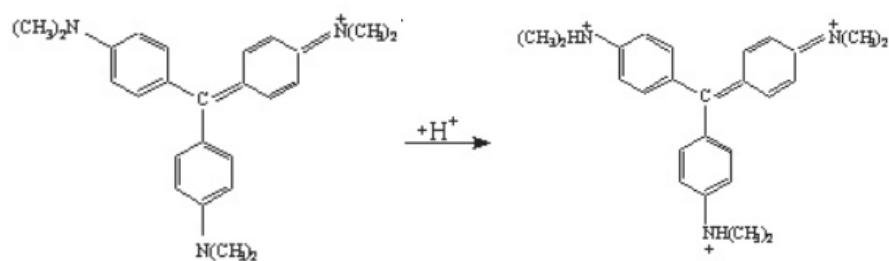


Gambar 11. Struktur kimia gentian violet (Zhao *et al.* 2008).



Gambar 12. Struktur kimia gentian violet setelah berdisosiasi (NCBI 2018).

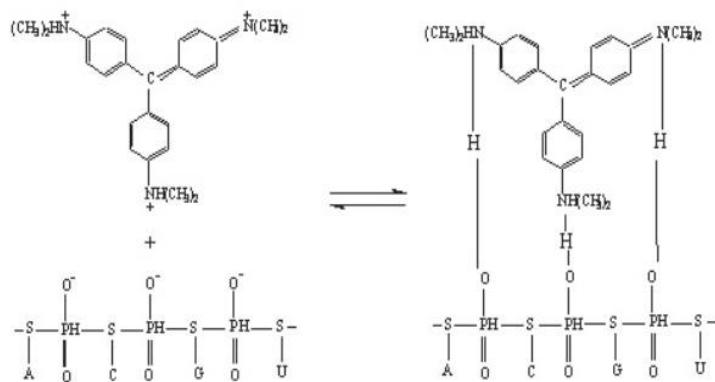
Pada penelitian Zhao *et al.* (2008), gentian violet mendapatkan muatan positif tambahan dari kondisi rongga mulut yang asam, pH yang rendah ini merupakan dampak dari aktivitas *C. albicans*, seperti terlihat pada Gambar 13. Sedangkan RNA jamur mengalami deprotonisasi terlihat pada Gambar 14. Kemudian, gugus-gusus gentian violet yang bermuatan positif membentuk ikatan dengan RNA yang bermuatan negatif seperti pada Gambar 15.



Gambar 13. Struktur kimia gentian violet pada kondisi asam (Zhao *et al.* 2008).

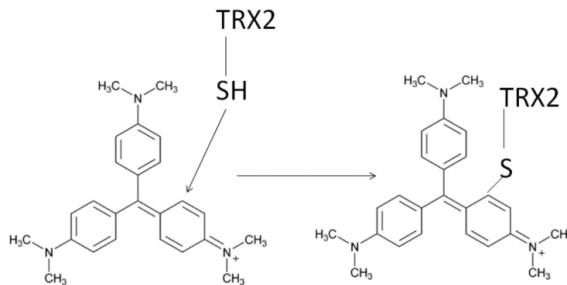


Gambar 14. Struktur kimia RNA *C. albicans* yang terdeprotonisasi
(Zhao et al. 2008).

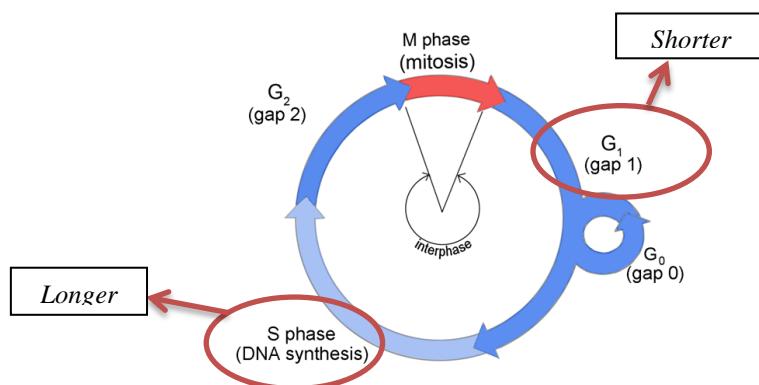


Gambar 15. Pengikatan antara gentian violet dan RNA *C. albicans*
(Zhao et al. 2008).

Selain mengikat RNA, gentian violet juga mengikat DNA. Mekanisme pengikatan antara muatan positif gentian violet terhadap DNA yaitu melalui pengikatan terhadap gugus fosfat pada rantai DNA. Selain dengan mekanisme tersebut, gentian violet mampu menghambat spesies *Candida* melalui pembentukan ikatan kovalen dengan thioredoxin 2 dari *C. albicans* (Maley & Arbiser 2013) terlihat pada Gambar 16. Penghambatan pada thioredoxin 2 yang terdapat pada mitokondria dapat menyebabkan fase S menjadi lebih panjang dan interval G1 menjadi lebih pendek pada siklus sel *C. albicans* (Grant 2001).



Gambar 16. Pengikatan gentian violet terhadap thioredoxin 2 (Maley & Arbiser 2013).



Gambar 17. Perubahan siklus sel *C. albicans* (CyberBridge)

Asam hialuronat juga ikut menghambat spesies *Candida* ini melalui kemampuannya dalam merangsang produksi air liur (Park *et al.* 2010). Produksi air liur yang meningkat ini dapat menambah sifat proteksi terhadap *C. albicans*, hal ini disebabkan karena air liur mengandung beberapa komponen antijamur yaitu lisozim, lakoferin, kalprotektin, dan Ig A (Salerno *et al.* 2011). Zat aktif tersebut menginduksi produksi air liur melalui ikatannya dengan reseptor protein G pada sel asini, dimana sel asini ini merupakan unit utama dari kelenjar saliva. Aktivasi dari protein G membuat komponen α pada reseptornya berdisosiasi dan mengaktifkan fosfolipase C, membentuk inositol trifosfat dan melepaskan kalsium. Pelepasan kalsium menginduksi pembukaan kanal klorida, klorida yang lepas diikuti dengan pelepasan sodium ke lumen. Sodium klorida ini membentuk suatu gradien osmosis yang menginduksi perpindahan air liur ke lumen (Pradhan-Bhatt *et al.* 2013). Asam hialuronat hanya memiliki

sifat fungistatik terhadap *C. albicans* dan tidak memiliki sifat fungisidal (Kang *et al.* 2011). Pada penelitian Gariboldi *et al.* (2018), asam hialuronat bekerja melawan jamur tersebut melalui pelepasan senyawa β -defensin 2. Zat aktif ini memiliki ukuran yang besar, maka dengan Hyaluronidase2 (HYAL2) yang merupakan enzim yang berada pada permukaan luar membran sel host (Lepperdinger *et al.* 2001), enzim tersebut mengenalinya, mengikatnya secara spesifik dan mengubahnya menjadi fragmen-fragmen yang memiliki ukuran yang lebih kecil (Stern *et al.* 2006). Fragmen-fargmen ini kemudian menduduki reseptor *Toll-like receptor2* (TLR2) dan *Toll-like receptor4* (TLR4), hal tersebut menginduksi keratinosit untuk memproduksi β -defensin 2 yang memiliki sifat penghambatan terhadap *C. albicans* (Gariboldi *et al.* 2018). Target kerja dari β -defensin 2 adalah pada reseptor fosfatidilinositol 4,5-bifosfat yang terdapat pada membran sel *C. albicans*, β -defensin 2 mengikat area reseptor yang bermuatan negatif tersebut dengan muatan positifnya sehingga pertumbuhan jamur tersebut terhambat (Jarva *et al.* 2018). Pada kombinasi KHG:GV:AH, dikarenakan klorheksidin glukonat dapat merusak dinding sel *C. albicans* maka zat ini sekaligus mempermudah kerja dari gentian violet untuk berpenetrasi ke dalam sel jamur, aktivitas antijamur tersebut didukung dengan sifat fungistatik dari asam hialuronat terhadap spesies *Candida* ini. Sifat dari asam hialuronat sebagai lubrikan dapat dimanfaatkan untuk menutupi efek samping yang dimiliki oleh klorheksidin glukonat yaitu berupa mulut kering.

Kombinasi yang memiliki aktivitas antijamur yang kurang aktif adalah GV:AH. Hal ini disebabkan karena asam hialuronat merupakan agen antijamur yang bersifat fungistatik, ia hanya bisa menghambat *C. albicans* saja, kurang toksik bagi sel jamur tersebut (Kang *et al.* 2011). Selain itu, kerja dari β -defensin 2 dipengaruhi oleh ion Ca^{2+} dan Mg^{2+} , keberadaan ion-ion ini pada saliva dapat menghambat aktivitas antijamur dari β -defensin 2 yang merupakan hasil serangkaian penginduksian yang dilakukan oleh asam hialuronat (Tomita *et al.* 2000). Asam hialuronat ini

didukung dengan gentian violet yang bersifat fungistatik sekaligus fungisidal. Target kerja dari gentian violet berada di dalam inti sel jamur yaitu pada bagian DNA. Maka dari itu pada *C. albicans* yang telah mengalami peningkatan komposisi dinding sel karena paparan lingkungan yang asam (Sherrington *et al.* 2017), kombinasi ini kurang aktif dalam melakukan penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* karena gentian violet perlu melakukan penetrasi yang cukup kuat untuk menjangkau bagian DNA dari sel jamur tersebut.

Kombinasi KHG:GV kurang aktif jika dibandingkan dengan KHG:GV:AH karena kombinasi KHG:GV hanya merupakan perpaduan dari mekanisme kerja klorheksidin glukonat dan gentian violet saja. Kombinasi ini sama-sama mempunyai sifat fungistatik dan fungisidal serta memanfaatkan muatan positifnya untuk menghambat *C. albicans*. Pada penelitian Camacho *et al.* (2007) membuktikan bahwa penggabungan dari klorheksidin glukonat dan gentian violet dapat menurunkan kemampuan perlekatan *C. albicans* ke permukaan sel host sehingga menurunkan terbentuknya kolonisasi dan resiko gejala infeksi yang lebih parah.

Kombinasi KHG:AH merupakan kombinasi teraktif ketiga setelah KHG:GV dan lebih aktif daripada GV:AH. Hasil pengujian ini tidak lepas dari target kerja dari klorheksidin glukonat dan gentian violet. Target kerja dari klorheksidin glukonat adalah pada bagian dinding sel jamur (Balagopal & Arjunkumar 2013) yaitu dengan cara mengubah permeabilitas membran sel dan melisiskan sitoplasma, sedangkan gentian violet pada bagian DNA sel jamur yang terletak di dalam inti sel (NCBI 2018).

6. Perbandingan zona hambat dari pengujian antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

Zona hambat yang terbentuk dari kombinasi agen antijamur terhadap *C. albicans* isolat dari pasien SAR cenderung lebih kecil dibandingkan dengan zona hambat hasil pengujian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* ATCC 10231. Perbedaan besarnya zona hambat ini

dibuktikan melalui hasil analisa secara statistik dengan metode *Independent Samples T-test*, hasil analisa dapat dilihat pada Lampiran 10. Perbedaan yang signifikan ini menunjukkan bahwa *C. albicans* ATCC 10231 lebih peka daripada *C. albicans* isolat dari pasien SAR, kepekaan ini dipengaruhi oleh beberapa faktor.

Salah satu faktor yang mempengaruhi kepekaan dari tiap jamur uji adalah kebutuhan nutrisi dari media pertumbuhan asal masing-masing jamur. Menurut Puspawati (2012), *C. albicans* ATCC 10231 memperoleh nutrisi yang optimal dari media biakan murninya, sedangkan *C. albicans* isolat dari pasien SAR harus bersaing dengan mikroba lain di dalam rongga mulut untuk mendapatkan nutrisi, sehingga nutrisi yang diperoleh cenderung terbatas. Persaingan ini membuat *C. albicans* isolat memiliki kemampuan bertahan hidup yang lebih baik daripada *C. albicans* ATCC 10231.

Faktor lain yang cukup berpengaruh terhadap kepekaan *C. albicans* adalah pH rongga mulut. *C. albicans* mudah untuk berproliferasi pada pH yang rendah. Kondisi ini dapat terjadi jika kadar gula dalam rongga mulut terlalu tinggi sehingga proses metabolisme gula ini menghasilkan produk metabolik asam yang berkontribusi dalam pertahanan pH lingkungan yang rendah (Salerno *et al.* 2011). Hal ini bisa terjadi pada pasien dikarenakan pasien mempunyai kebiasaan buruk yaitu tidak pernah menyikat gigi tiap malamnya selama 5,5 tahun terakhir sejak tahun 2012. Kondisi lingkungan yang asam dapat mengubah komposisi dari dinding sel *C. albicans*. Pada penelitian Sherrington *et al.* (2017), pemparan *C. albicans* pada kondisi lingkungan yang asam dapat meningkatkan komposisi β -glukan dan kitin. Kondisi lingkungan yang asam ini menyebabkan delesi pada gen *Chitinase2* (CHT2), gen ini berperan penting dalam pembentukan enzim pendegradasi kitin pada dinding sel, sehingga terjadinya mutasi pada gen CHT2 menyebabkan komposisi kitin meningkat. Peningkatan komposisi β -glukan bermula dari ekspresi *pH-regulated gene* (PHR2) dimana gen ini dapat terekspresi pada pH rendah

(pH optimum 3) (Kovacova *et al.* 2015). PHR2 mengode terbentuknya enzim β -1,3-glukanosiltransferase (GH72) yang berperan dalam pemanjangan rantai β -1,3-glukan, karena proses ini maka komposisi dari β -glukan meningkat (Popolo *et al.* 2017).

Penggunaan agen antijamur lain oleh pasien juga mempengaruhi tingkat kekebalan dari *C. albicans* isolat. Peneliti mengetahui jika pasien biasa menggunakan obat antisariawan yang mengandung policresulen dengan frekuensi penggunaan yang tidak teratur, dimana policresulen merupakan suatu zat aktif dengan pH 0,6 yang terlampau asam (Jung *et al.* 2013). Keterpaparan *C. albicans* terhadap policresulen yang bersifat sangat asam dengan frekuensi pemakaian yang tidak teratur didukung dengan kondisi rongga mulut pasien yang asam akibat dari kebiasaan buruk pasien selama 5,5 tahun terakhir ini membuat komposisi komponen kitin dan β -glukan dinding sel jamur menjadi meningkat (Sherrington *et al.* 2017; Kovacova *et al.* 2015; Popolo *et al.* 2017). Komposisi dinding sel yang meningkat ini membuat agen antijamur makin sulit untuk melakukan penetrasi ke dalam sel jamur, maka dari itu zona hambat hasil pengujian aktivitas antijamur terhadap *C. albicans* isolat cenderung lebih kecil.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan sebagai berikut :

Pertama, terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR yang ditunjukkan dengan hasil signifikansi $< 0,05$ dari uji *One Way Analysis of Variance* (ANOVA).

Kedua, kombinasi KHG:GV:AH merupakan kombinasi yang paling aktif terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR, ditunjukkan dengan hasil uji post hoc *Student-Newman-Keuls*.

Ketiga, terdapat perbedaan aktivitas antijamur dari variasi kombinasi antara klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 10231 jika dibandingkan dengan isolat dari pasien SAR, ditunjukkan dengan hasil signifikansi $< 0,05$ dari metode *Independent Samples T-test*.

B. Saran

Dari penelitian yang telah dilakukan, disarankan pada peneliti selanjutnya agar didapatkan hasil yang lebih maksimal sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan pengujian antijamur secara dilusi untuk mengetahui nilai *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) dari masing-masing variasi kombinasi klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet.
2. Perlu dilakukan pengujian antijamur variasi kombinasi klorheksidin glukonat, asam hialuronat, dan gentian violet menggunakan jenis jamur patogen yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- [NCBI] National Center for Biotechnology Information. 2018. “*Chlorhexidine Digluconate*”. PubChem Compound Database. [Online]. [Diunduh 5 April 2018]. Available: https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/chlorhexidine_digluconate.
- [NCBI] National Center for Biotechnology Information. 2018. “*Crystal Violet*”. PubChem Compound Database. [Online]. [Diunduh 5 April 2018]. Available : https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Crystal_violet.
- [NCBI] National Center for Biotechnology Information. 2018. “*Hyaluronic Acid*”. PubChem Compound Database. [Online]. [Diunduh 5 April 2018]. Available:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/24759#section=Top>.
- [NCBI] National Center for Biotechnology Information. 2018.“*Sialic Acid*”. PubChem Compound Database. [Online]. [Diunduh 28 Agustus 2018]. Available:<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/656387#section=Top>
- Abdalrahman BM. 2014. The antimicrobial efficacy of three chlorhexidine mouth rinses: an in-vitro analysis [Tesis]. South Africa : Faculty of Dentistry, University of the Western Cape.
- Ariyani, Dewi SS, Haribi R. 2009. Daya Hambat Sampo Anti Ketombe terhadap Pertumbuhan *C. albicans* Penyebab Ketombe. *Jurnal Kesehatan* 2 (2) : 7-10.
- Balagopal S dan Arjunkumar R. 2013. Chlorhexidine: The Gold Standard Antiplaque Agent. *Journal of Pharamceutical Sciences and Research* 5 (12) : 270-274.
- Balouiri M, Sadiki M, Ibnsouda SK. 2016. Methods for *In vitro* Evaluating Antimicrobial Activity. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 : 71-79.
- Bard M, Lees ND, Burrows S, Kleinhans FW. 1978. Differences in Crystal Violet Uptake and Cation-Induced Death Among Yeast Sterol Mutants. *Journal of Bacteriology* 135 (3) : 1146-1148.
- Basava SPR *et al.* 2016. Efficacy of Iodine-Glycerol versus Lactophenol Cotton Blue for Identification of Fungal Elements in the Clinical Laboratory. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.* 5 (11) : 536-541.

- Bello ML *et al.* 2015. Sodium Montmorillonite/Amine-Containing Drugs Complexes: New Insights on Intercalated Drugs Arrangement into Layered Carrier Material. *PLOS ONE* 10 (3) : 1-20.
- Camacho DP, Gasparetto A, Svidzinski TIE. 2007. The effect of chlorhexidine and gentian violet on the adherence of *Candida spp.* to urinary catheter. *Mycopathologia* 163 : 261-266.
- Cawson RA dan Odell EW. 2008. *Cawson's Essentials of Oral Pathology and Oral Medicine*. Ed. ke-7. Edinburgh : Curchill-Livingstone. hlm. 220-224.
- Cole GT dan Hoch HC. 1991. *The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals*. New York : Springer Science & Business Media. hlm. 159.
- Cutsem JV. 1983. The Antifungal Activity of Ketokonazole. *The American Journal of Medicine* 74 (1) : 9-15.
- CyberBridge. "Mitosis". Life Science of Harvard University. [Online]. [Diunduh 2 September 2018]. Available : http://cyberbridge.mcb.harvard.edu/mitosis_4.html.
- Dinas Kesehatan Surakarta. 2014. *Profil Kesehatan Kota Surakarta Tahun 2014*. Surakarta : Dinas Kesehatan Kota Surakarta.
- Denning DW dan Hope WW. 2010. Therapy for Fungal Diseases: Opportunities and Priorities. *Trends Microbiology* 18 (5) : 195-204.
- Fardiaz S. 1987. *Penuntun Praktikum Mikrobiologi Pangan*. Bogor : Lembaga Sumber Informasi Institut Pertanian Bogor. hlm. 142.
- Gariboldi S *et al.* 2018. Low Molecular Weight Hyaluronic Acid Increases the Self-Defense of Skin Epithelium by Induction of β -Defensin2 via TLR2 and TLR4. *The Journal of Immunology* 181 : 2103-2110.
- Grant CM. 2001. Role of The Glutathione/Glutaredoxin and Thioredoxin Systems in Yeast Growth and Response to Stress Conditions. *Molecular Microbiology* 39 (3) : 533-541.
- Gunsalus IC, editor. 1979. *Mechanism of Adaption*. Sokatch JR dan Ornston LN. editor. Vol ke-7. New York : Academic Press. hlm.279.
- Havlickova B dn Weyandt GH. 2014. Therapeutic Management of Anal Eczema : An Evidence-based Review. *The International Journal of Clinical Practice* 68 (11) : 1388-1399.

- Hilmioglu S, Ilkit M, Badak Z. 2007. Comparison of 12 Liquid Media for Germ Tube Production of *Candida albicans* and *C. tropicalis*. *Mycoses* 50 : 282-285.
- Hudson DA *et al.* 2004. Identification of The Dialysable Serum Inducer of Germ-tube Formation in *Candida albicans*. *Microbiology* 150 : 3041-3049.
- Irianto K. 2013. *Mikrobiologi Medis*. Bandung : Penerbit Alfabeta. hlm.45-47.
- Jarva *et al.* 2018. Human β -defensin 2 Kills *Candida albicans* Through Phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate-mediated Membrane Permeabilization. *Science Advances* 4 (7) : 1-9.
- Jawetz, Melnick, Adelberg. 2010. *Mikrobiologi Kedokteran*. Nugroho AW *et al.*, penerjemah; Adityaputri *et al.*, editor. Ed ke-25. Jakarta : Penerbit Buku Kedokteran EGC. hlm. 674-675, 683,685-686.
- Jung JW, Byun JS, Jung JK, Choi JK. 2013. Chemical burns of the oral mucosa caused by Policresulen: report of a case. *Journal of Oral Medicine and Pain* 38 (2) : 109-114.
- Juveric RJ. 2011. Identification of Gentian Violet Concentration that does not Stain Oral Mucosa Possesses Anti-Candidal Activity and is Well Tolerated. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases* 30 (5) : 629-633.
- Kang JH, Kim YY, Chang JY, Kho HS *et al.* 2011. Influences of hyaluronic acid on the anticandidal activities of lysozyme and the peroxidase system. *Oral Diseases* 17 : 577-583
- Kiyoura Y dan Tamai R. 2015. Innate Immunity to *Candida albicans*. *Japanese Dental Science Review* 51 (3) : 59-64.
- Komariah RS. 2012. Kolonisasi Candida dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI* 28 (1) : 39-47.
- Koneman EW, Allen SD, Janda WM, Schreckenberger PC, Winn WC. 1997. *Color Atlas and Textbook of Diagnostic Microbiology*. Ed ke-5. USA : Philadelphia.
- Kovacova K, Degani G, Stratilova E, Farkas V, Popolo L. 2015. Catalytic properties of Phr family members of cell wall glucan remodeling enzymes: implications for the adaptation of *Candida albicans* to ambient pH. *FEMS Yeast Research* 15 (2) : 1-13.

- Lepperdinger G, Mullegger J, Kreil G. 2001. Hyal2 less active, but more versatile? *Matrix Biology* 20 : 509-514.
- Mainous IAG dan Pomeroy C, editor. 2010. *Management of Antimicrobials in Infectious Diseases : Impact of Antibiotic Resistance*. Ed ke-2. New York : Humana Press. hlm.129.
- Maley AM dan Arbiser JL. 2013. Gentian Violet : A 19th Century Drug Re-Emerges in the 21st Century. *Exp Dermatol* 22(12) : 775-780.
- Mutiawati VK. 2016. Pemeriksaan Mikrobiologi pada *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala* 16 (1) : 53-63.
- Niimi K *et al.* 2001. Distinguishing Candida Species by b-N-Acetylhexosaminidase Activity. *Journal of Clinical Microbiology* 39 (6) : 2089-2097.
- Onyewu C dan Heitman J. 2007. Unique Applications of Novel Antifungal Drug Combinations. *Anti-Infective Agents in Medicinal Chemistry* 6: 3-15.
- Park MS *et al.* 2010. Rheological Properties of Hyaluronic Acid and Its Effects on Salivary Enzymes and Candida. *Oral Diseases* 16 : 382-387.
- Pelczar MJ Jr dan Chan ECS. 1986. *Dasar-Dasar Mikrobiologi*. Vol ke-1. Hadioetomo RS, Imas T, Angka SL, penerjemah; Jakarta : UI Pr. Terjemahan dari : *Elements of Microbiology*.
- Popolo L, Degani G, Camilloni C, Fonzi WA. 2017. The PHR Family: The Role of Extracellular Transglycosylases in Shaping *Candida albicans* Cells. *Journal of Fungi* 3 (4) : 1-24.
- Pradhan-Bhatt S *et al.* 2013. Implantable Three-Dimensional Salivary Spheroid Assemblies Demonstrate Fluid and Protein Secretory Responses to Neurotransmitters. *Tissue Engineering* 19 (13-14) : 1610-1620.
- Puspawati N. 2012. Uji Aktivitas Antijamur Eksrak Soxhletasi Daun Kaki Kuda (*Centella asiatica*, Urb.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dan *Candida albicans* Hasil Isolasi Pasien Sariawan. *Jurnal Biomedika*.
- Ristianti N, Kusnanta WJ, Marsono. 2015. Perbedaan Efektifitas Obat Kumur Herbal dan Non Herbal terhadap Akumulasi Plak di dalam Rongga Mulut. *Media Dental Intelektual* 2 : 31-36.
- Rolland F, Winderickx J, Thevelein JM. 2002. Glucose-sensing and -signalling mechanisms in yeast. *FEMS Yeast Research* 2 : 183-201.

- Sakai A *et al.* 2007. Potential Role of High Molecular Weight Hyaluronan in the Anti-Candida Activity of Human Oral Epithelial Cells. *Medical Mycology* 45 : 73-79.
- Salerno C *et al.* 2011. Candida-Associated Denture Stomatitis. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal* 16(2) : 139-143.
- Septiyana R. 2013. Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Eтанолik Daun Sirih (*Piper betle* L.) terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dan *Candida albicans* hasil isolasi penderita keputihan. *Jurnal Farmasetis* 2 (2) : 31-37.
- Sherrington SL *et al.* 2017. Adaptation of *Candida albicans* to environmental pH induces cell wall remodelling and enhances innate immune recognition. *PLOS Phatogens* 13 (5) : 1-28.
- Simatupang MM. 2008. *Candida albicans*. Universitas Sumatera Utara: Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran.
- Simsek M dan Duman R. 2017. Investigation of Effect of 1,8-cineole on Antimicrobial Activity of Chlorhexidine Gluconate. *Pharmacognosy Research* 9 (3) : 234-237.
- Soares RMA *et al.* 2000. Identification of Sialic Acids on the Cell Surface of *Candida albicans*. *Biochimica et Biophysica Acta* 1474 : 262-268.
- Stern R, Asari AA, Sugahara KN. 2006. Hyaluronan fragments: An information-rich system. *European Journal of Cell Biology* 85 : 699-715.
- Suling PL. 2013. Angka Kejadian Lesi yang Diduga sebagai *Stomatitis Aftosa Rekuren* pada Mahasiswa Program Studi Kedokteran Gigi Fakultas Kedokteran Universitas Sam Ratulangi. *Journal of Dental Education* 1 (2).
- Suriawiria U. 2005. *Mikrobiologi Dasar*. Jakarta : Papas Sinar Sinanti.
- Tao L *et al.* 2014. Discovery of a “White-Gray-Opaque” Tristable Phenotypic Switching System in *Candida albicans*: Roles of Non-genetic Diversity in Host Adaptation. *PLOS Biology* 12 (4) : 1-14.
- Tjampakasari CR. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. *Cermin Dunia Kedokteran* 151 : 33-36.
- Tomita T *et al.* 2000. Effect of Ions on Antibacterial Activity of Human Beta Defensin 2. *Microbiol Immunol* 44 (9) : 749-754.

Watkinson SC, Boddy L, Money NP. 2015. *The Fungi*. Ed ke-3. New York : Academic Press.

Weijden FAV der, Sluijs EV der, Ciancio SG, Slot DE. 2015. Can Chemical Mouthwash Agents Achieve Plaque/ Gingivitis Control?. *Dent Clin N Am* 59 : 799-829.

Zhao N, Wang M, Niu X, Sun W, Jiao K. 2008. Spectrophotometric Studies on the Interaction of Yeast RNA with Crystal Violet and Its Analytical Application. *Journal of The Chilean Chemical Society* 53 (3) : 1594-1598.

Lampiran 1. Alat-alat praktikum



Inkas



Autoklaf



Inkubator



Oven



Vortex



Timbangan analitik

Lampiran 2. Bahan-bahan praktikum

Asam hialuronat



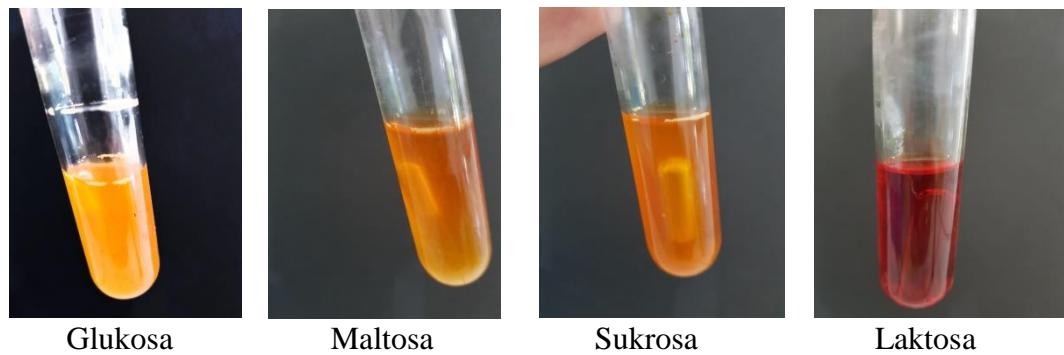
Gentian violet



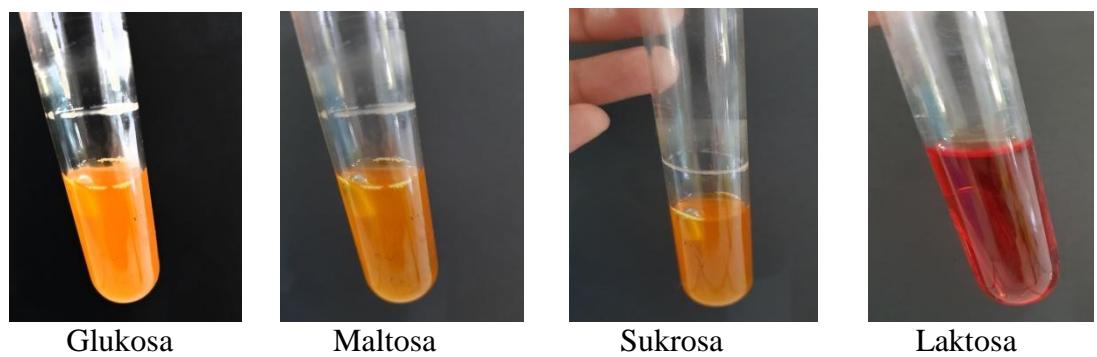
Klorheksidin glukonat

Lampiran 3. Hasil identifikasi dengan uji biokimia terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

Candida albicans ATCC 10231



Candida albicans isolat dari pasien SAR



Lampiran 4. Perhitungan konsentrasi larutan stok klorheksidin glukonat, gentian violet, dan asam hialuronat

Rumus perhitungan:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Keterangan : V_1 = Volume awal

V_2 = Volume akhir

C_1 = Konsentrasi awal

C_2 = Konsentrasi akhir

Klorheksidin glukonat

Pembuatan larutan stok 0,1% = sebanyak 0,05 mL klorheksidin glukonat 20% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

Perhitungan :

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$20\% \times V_1 = 0,1\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 0,05 \text{ mL}$$

Pembuatan larutan seri konsentrasi 0,033% dan 0,050% :

1. Konsentrasi 0,033%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,1\% \times V_1 = 0,033\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3,3 \text{ mL}$$

Sebanyak 3,3 mL klorheksidin glukonat 0,1% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

2. Konsentrasi 0,050%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,1\% \times V_1 = 0,050\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Sebanyak 5 mL klorheksidin glukonat 0,1% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

Gentian violet

Pembuatan larutan stok 0,1% = sebanyak 0,1 G serbuk gentian violet dimasukkan ke labu takar 100 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 100 mL.

Pembuatan larutan seri konsentrasi 0,033% dan 0,050% :

1. Konsentrasi 0,033%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,1\% \times V_1 = 0,033\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3,3 \text{ mL}$$

Sebanyak 3,3 mL gentian violet 0,1% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

2. Konsentrasi 0,050%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,1\% \times V_1 = 0,050\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Sebanyak 5 mL gentian violet 0,1% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

Asam hialuronat

Pembuatan larutan stok 0,1% = sebanyak 0,1 G serbuk asam hialuronat dimasukkan ke labu takar 100 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 100 mL.

Pembuatan larutan seri konsentrasi 0,033% dan 0,050% :

1. Konsentrasi 0,033%

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,1\% \times V_1 = 0,033\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 3,3 \text{ mL}$$

Sebanyak 3,3 mL asam hialuronat 0,1% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

2. Konsentrasi 0,050%

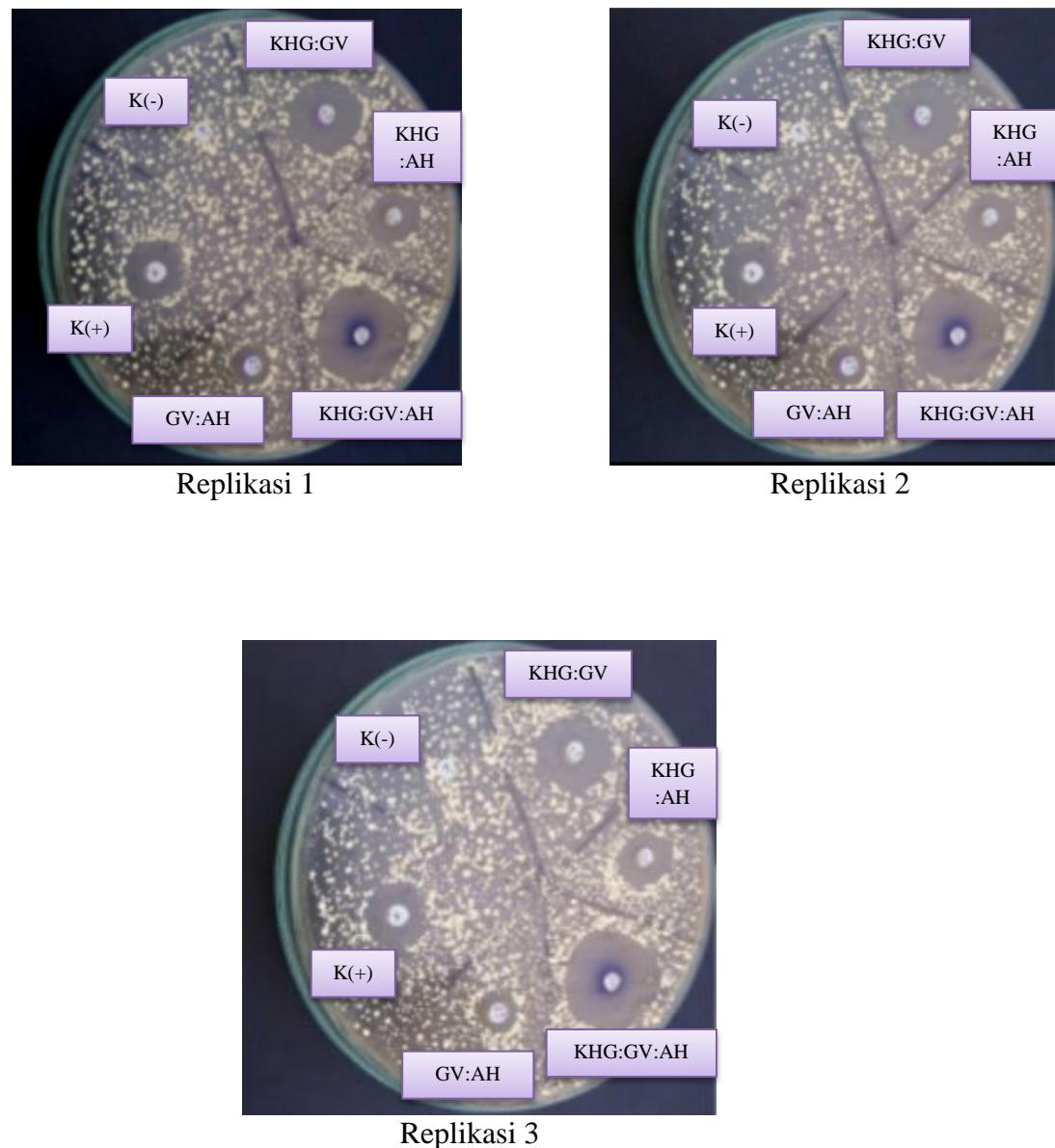
$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

$$0,1\% \times V_1 = 0,050\% \times 10 \text{ mL}$$

$$V_1 = 5 \text{ mL}$$

Sebanyak 5 mL asam hialuronat 0,1% dipipet ke labu takar 10 mL, kemudian dilarutkan dengan aquadest steril ad 10 mL.

Lampiran 5. Hasil pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap *Candida albicans* ATCC 10231



Lampiran 6. Analisa data pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap *Candida albicans* ATCC 10231

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : untuk mengetahui kenormalan dari distribusi data sebagai syarat dari uji ANOVA

Kriteria uji : Sig < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig > 0,05 berarti Ho diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter hambat
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	20.3056
	Std. Deviation	9.71297
Most Extreme Differences	Absolute	.308
	Positive	.188
	Negative	-.308
Kolmogorov-Smirnov Z		1.309
Asymp. Sig. (2-tailed)		.065

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : Sig > 0,05 (Ho diterima) maka data diameter hambat terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji : Sig < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig > 0,05 berarti Ho diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

Diameter hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.702	5	12	.073

Kesimpulan : $Sig > 0,05$ (H_0 diterima) maka data diameter hambat homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari data diameter hambat dari tiap sampel

Kriteria uji : $Sig < 0,05$ berarti H_0 ditolak

$Sig > 0,05$ berarti H_0 diterima

Hasil :

ANOVA

Diameter hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1603.169	5	320.634	6011.885	.000
Within Groups	.640	12	.053		
Total	1603.809	17			

Kesimpulan : $Sig < 0,05$ (H_0 ditolak) maka terdapat perbedaan dari data diameter hambat dari tiap sampel

Uji Post Hoc (*Student-Newman-Keuls*)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan diameter hambat yang bermakna

Hasil :

Homogeneous Subsets

Diameter hambat

Student-Newman-Keuls^a

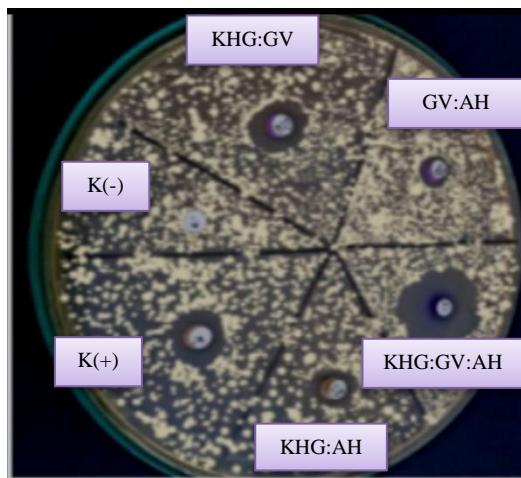
Sampel	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Aquadest steril	3	.0000					
GV:AH	3		20.0333				
KHG:AH	3			23.0000			
KHG:GV	3				24.8000		
Ketokonazole	3					25.4333	
KHG:GV:AH	3						28.5667
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

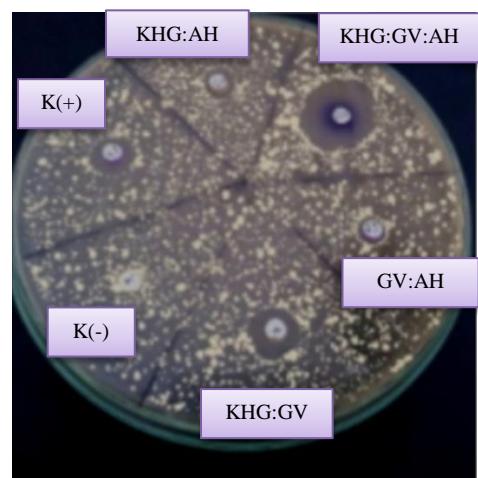
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3,000.

Kesimpulan : Subset 1 sampai 6 memiliki perbedaan rata-rata diameter hambat yang signifikan.

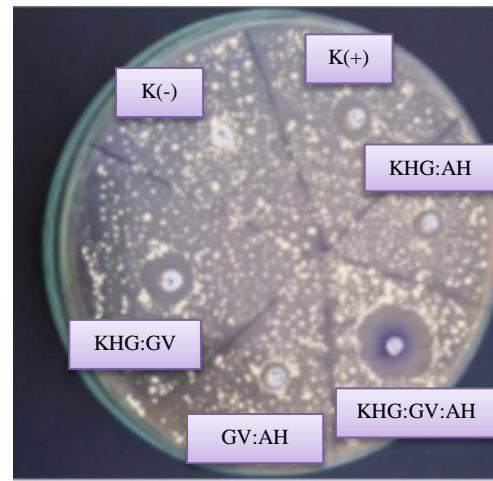
Lampiran 7. Hasil pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap *Candida albicans* isolat dari pasien SAR



Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

Lampiran 8. Analisa data pengujian antijamur secara difusi cakram terhadap *Candida albicans* isolat dari pasien SAR

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : untuk mengetahui kenormalan dari distribusi data sebagai syarat dari uji ANOVA

Kriteria uji : Sig < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig > 0,05 berarti Ho diterima

Hasil :

		Diameter hambat
N		18
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	13.2611
	Std. Deviation	8.10897
Most Extreme Differences	Absolute	.233
	Positive	.116
	Negative	-.233
Kolmogorov-Smirnov Z		.988
Asymp. Sig. (2-tailed)		.283

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : Sig > 0,05 (Ho diterima) maka data diameter hambat terdistribusi normal

Uji Levene

Tujuan : untuk mengetahui homogenitas data

Kriteria uji : Sig < 0,05 berarti Ho ditolak

Sig > 0,05 berarti Ho diterima

Hasil :

Test of Homogeneity of Variances

Diameter hambat

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
2.720	5	12	.072

Kesimpulan : $Sig > 0,05$ (H_0 diterima) maka data diameter hambat homogen

Uji One Way ANOVA

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna dari data diameter hambat dari tiap sampel

Kriteria uji : $Sig < 0,05$ berarti H_0 ditolak

$Sig > 0,05$ berarti H_0 diterima

Hasil :

ANOVA

Diameter hambat

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1117.609	5	223.522	11495.411	.000
Within Groups	.233	12	.019		
Total	1117.843	17			

Kesimpulan : $Sig < 0,05$ (H_0 ditolak) maka terdapat perbedaan dari data diameter hambat dari tiap sampel

Uji Post Hoc (*Student-Newman-Keuls*)

Tujuan : untuk mengetahui pada kelompok mana terdapat perbedaan diameter hambat yang bermakna

Hasil :

Homogeneous Subsets

Diameter hambat

Student-Newman-Keuls^a

Sampel	N	Subset for alpha = 0.05					
		1	2	3	4	5	6
Aquadest steril	3	.0000					
GV:AH	3		6.8333				
KHG:AH	3			12.4667			
KHG:GV	3				18.3667		
Ketokonazole	3					18.6667	
KHG:GV:AH	3						23.2333
Sig.		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 = 3,000.

Kesimpulan : Subset 1 sampai 6 memiliki perbedaan rata-rata diameter hambat yang signifikan.

Lampiran 9. Hasil data replikasi diameter hambat uji aktivitas antijamur secara difusi cakram terhadap *Candida albicans* ATCC dan isolat dari pasien SAR

- *Candida albicans* ATCC 10231

Zat	Konsentrasi akhir (%)	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
KHG : GV : AH	0,1	28,90	28,30	28,50	28,57 ± 0,31
KHG : GV	0,1	25,00	24,70	24,70	24,80 ± 0,17
KHG : AH	0,1	23,10	23,20	22,70	23,00 ± 0,26
GV : AH	0,1	19,70	20,10	20,40	20,07 ± 0,35
Ketokonazol	0,1	25,50	25,40	25,40	25,43 ± 0,06
Aquadest steril	-	0	0	0	0 ± 0,00

- *Candida albicans* isolat dari pasien SAR

Zat	Konsentrasi akhir (%)	Diameter hambat (mm)			Rata-rata (mm) ± SD
		I	II	III	
KHG : GV : AH	0,1	23,50	23,20	23,00	23,23 ± 0,25
KHG : GV	0,1	18,30	18,50	18,30	18,37 ± 0,12
KHG : AH	0,1	12,50	12,50	12,40	12,47 ± 0,06
GV : AH	0,1	7,00	6,70	6,80	6,83 ± 0,15
Ketokonazol	0,1	18,80	18,60	18,60	18,67 ± 0,12
Aquadest steril	-	0	0	0	0 ± 0,00

Lampiran 10. Analisa data perbandingan zona hambat dari pengujian antijamur terhadap *Candida albicans* ATCC 10231 dan isolat dari pasien SAR

Uji Kolmogorov Smirnov

Tujuan : untuk mengetahui kenormalan dari distribusi data sebagai syarat dari uji *Independent Samples T-test*.

Kriteria uji : $\text{Sig} < 0,05$ H_0 ditolak

$\text{Sig} > 0,05$ H_0 diterima

Hasil :

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Diameter
N		24
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	19.6667
	Std. Deviation	6.73787
Most Extreme Differences	Absolute	.174
	Positive	.106
	Negative	-.174
Kolmogorov-Smirnov Z		.851
Asymp. Sig. (2-tailed)		.464

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Kesimpulan : $\text{Sig} > 0,05$ (H_0 diterima) maka data diameter hambat terdistribusi normal.

Uji Independent Samples T-test

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan yang signifikan dari data diameter hambat kedua jamur uji setelah ditambahkan dengan masing-masing kombinasi.

Kriteria uji :

- Sig pada Levene's Test $> 0,05$ maka H_0 diterima berarti data homogen, jika H_0 diterima maka lihat Sig pada kolom T-test Equal variances assumed, jika $Sig < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan.
 - Sig pada Levene's Test $> 0,05$ maka H_0 diterima berarti data homogen, jika H_0 diterima maka lihat Sig pada kolom T-test Equal variances assumed, jika $Sig > 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan.
 - Sig pada Levene's Test $< 0,05$ maka H_0 ditolak berarti data tidak homogen, jika H_0 ditolak maka lihat Sig pada kolom T-test Equal variances not assumed, jika $Sig < 0,05$ maka terdapat perbedaan yang signifikan.
 - Sig pada Levene's Test $< 0,05$ maka H_0 ditolak berarti data tidak homogen, jika H_0 ditolak maka lihat Sig pada kolom T-test Equal variances not assumed, jika $Sig > 0,05$ maka tidak terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil uji Independent Samples Test (KHG:GV:AH) :

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances	t-test for Equality of Means								
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Diameter	Equal variances assumed	.168	.703	23.338	4	.000	5.33333	.22852	4.69886	5.96781
	Equal variances not assumed			23.338	3.859	.000	5.33333	.22852	4.68957	5.97709

Kesimpulan : terdapat perbedaan signifikan pada diameter hambat kedua jamur uji setelah diujikan dengan kombinasi KHG:GV:AH.

Hasil uji Independent Samples Test (KHG:GV) :

Independent Samples Test											
	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means								
			95% Confidence Interval of the Difference								
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference		Lower	Upper	
Diameter assumed	1.231	.329	53.529	4	.000	6.43333	.12019	6.09965	6.76702		
Equal variances not assumed			53.529	3.485	.000	6.43333	.12019	6.07925	6.78742		

Kesimpulan : terdapat perbedaan signifikan pada diameter hambat kedua jamur uji setelah diujikan dengan kombinasi KHG:GV.

Hasil uji Independent Samples Test (KHG:AH) :

Independent Samples Test									
	Levene's Test for Equality of Variances			t-test for Equality of Means					
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Diameter	7.000	.057	67.37	4	.000	10.53333	.15635	10.09924	10.96742
assumed			1						
Equal variances not assumed			67.37	2.190	.000	10.53333	.15635	9.91358	11.15308
			1						

Kesimpulan : terdapat perbedaan signifikan pada diameter hambat kedua jamur uji setelah diujikan dengan kombinasi KHG:AH.

Hasil uji Independent Samples Test (GV:AH) :

Independent Samples Test										
	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means							
								95% Confidence Interval of the Difference		
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper	
Diameter	Equal variances assumed	1.385	.305	59.850	4	.000	13.23333	.22111	12.61944	13.84723
	Equal variances not assumed			59.850	2.731	.000	13.23333	.22111	12.48872	13.97795

Kesimpulan : terdapat perbedaan signifikan pada diameter hambat kedua jamur uji setelah diujikan dengan kombinasi GV:AH.

Lampiran 11. Pembuatan media

1. Pembuatan media *Saboraud Glucose Agar* (SGA) sebanyak 1000 mL

SGA	65 G/L
Kloramfenikol	400 mG
Aquadest ad	1000 mL

Menimbang 65 G SGA, ditambahkan dengan aquadest hingga 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna. Medium dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 mL, tutup dengan kapas, kemudian disterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditambahkan kloramfenikol 400 mG saat suhu medium ±50°C.

2. Pembuatan media *Saboraud Glucose Cair* (SGC) sebanyak 1000 mL

SGC	30 G/L
Kloramfenikol	400 mG
Aquadest ad	1000 mL

Menimbang 30 G SGC, ditambahkan dengan aquadest hingga 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna. Medium dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 mL, tutup dengan kapas, kemudian dsterilisasikan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Ditambahkan kloramfenikol 400 mG saat suhu medium ±50°C.

3. Pembuatan media *HiCrome Candida Differential Agar* (HCA) sebanyak 1000 mL

HCA	42,72 G/L
Aquadest ad	1000 mL

Menimbang 42,72 G HCA, ditambahkan dengan aqua steril hingga 1000 mL, dipanaskan sampai larut sempurna. Medium dipindahkan ke dalam tabung reaksi masing-masing 10 mL, tutup dengan kapas.

4. Pembuatan media untuk uji biokimia

Meat extract	3 G/L
Pepton	5 G/L
Glukosa/ Maltosa/ Sukrosa / Laktosa	5 G/L

Menimbang semua bahan, larutkan dengan aquadest sampai 40 mL dalam beaker glass, tambahkan 1 tetes fenol red 1% dan pindahkan dalam 4 tabung yang berisi tabung durham (masing-masing 10 mL), tutup dengan kapas, kemudian disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

Perhitungan :

$$\text{Meat extract } 3 \text{ G/L} = 3 \text{ G}/1000 \text{ mL} \times 40 \text{ mL}$$
$$= 0,12 \text{ G}$$

$$\text{Pepton } 5 \text{ G/L} = 5 \text{ G}/1000 \text{ mL} \times 40 \text{ mL}$$
$$= 0,2 \text{ G}$$

$$\text{Glukosa/ Maltosa/ Sukrosa/ Laktosa } 5 \text{ G/L} = 5 \text{ G}/1000 \text{ mL} \times 40 \text{ mL}$$
$$= 0,2 \text{ G}$$

Lampiran 12. Komposisi media

1. Media *Saboraud Glucose Agar* (SGA) pH $5,6 \pm 0,2$
SGA 65 G/L

Komposisi (G/ L) :

Pepton dari kasein	5.00
Pepton dari ekstrak daging	5.00
D(+)Glukosa	40.00
Agar	15.00

2. Media *Saboraud Glucose Cair* (SGC) pH $5,6 \pm 0,2$
SGC 30 G/L

Komposisi (G/ L) :

Pepton dari ekstrak daging	5.00
Pepton dari kasein	5.00
D(+) Glukosa	20.00

3. Media *HiCrome Candida Differential Agar* (HCA) pH $6,3 \pm 0,2$
HCA 42,72 G/L

Komposisi (G/ L) :

Pepton spesial	15.00
Ekstrak ragi	4.00
Dipotasium hidrogen fosfat	1.00
Agen kromogenik	7.22
Kloramfenikol	0.50
Agar	15.00

4. Media gula-gula (uji biokimia) pH $7,3 \pm 0,2$

Komposisi :

Ekstrak daging	3.00 G
Pepton	5.00 G
Phenol red 1%	1 mL
Gula (glukosa/ sukrosa/ maltose/ laktosa)	5.00 G
Aquades ad	1000 mL

