



**POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG
(*Manihot esculenta C.*) TERHADAP PENURUNAN
JUMLAH JAMUR *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh:

Karunia Nur Annisa Dewi

NIM 141610101039

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**



**POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG
(*Manihot esculenta C.*) TERHADAP PENURUNAN
JUMLAH JAMUR *Candida albicans***

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Studi Pendidikan Dokter Gigi (S1)
dan mencapai gelar Sarjana Kedokteran Gigi

Oleh:

Karunia Nur Annisa Dewi

NIM 141610101039

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2018**

PERSEMBAHAN

Bismillahirraahmaannirrahiim, dengan segala kerendahan hati saya ucapkan rasa syukur kepada Allah SWT serta junjungan Rasulullah Muhammad SAW atas terselesaikannya skripsi ini. Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Kedua orang tuaku yang tercinta, Ayahanda Ahmad Junaidi dan Ibunda Sunarsih;
2. Kedua saudaraku Kakak Nanang Febryanto dan Adik Moch. Ichwan Muttaqin;
3. Guru-guruku sejak Taman Kanak-kanak hingga Perguruan Tinggi;
4. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTTO

“Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan. Maka apabila engkau telah selesai (dari suatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah kamu berharap.”
(QS. Al-Insyirah: 6-8)*



*) Departemen Agama Republik Indonesia. 2008. Al-Qur'an dan Terjemahannya. Depok: Cahaya Qur'an.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Karunia Nur Annisa Dewi

NIM : 141610101039

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Potensi Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*) terhadap Penurunan Jumlah Jamur *Candida albicans*” adalah benar benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun.

Jember, 15 Februari 2018

Yang menyatakan,

Karunia Nur Annisa Dewi

NIM 141610101039

SKRIPSI

**POTENSI EKSTRAK ETANOL DAUN SINGKONG
(*Manihot esculenta C.*) TERHADAP PENURUNAN
JUMLAH JAMUR *Candida albicans***

Oleh:

Karunia Nur Annisa Dewi

NIM 141610101039

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Ayu Mashartini P, Sp.PM

Dosen Pembimbing Pendamping : drg. Pujiana Endah L, M.Kes

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Potensi Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*) terhadap Penurunan Jumlah Jamur *Candida albicans*” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Kedokteran Gigi pada:

Hari, tanggal : Kamis, 15 Februari 2018

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Zahara Meilawaty, M.Kes

NIP 198005272008122002

drg. Leni Rokhma Dewi, Sp.PM

NIP 760009241

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,

drg. Ayu Mashartini P, Sp.PM

NIP 198412212009122006

drg. Pujiana Endah L, M.Kes

NIP 197608092005012002

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi,

Universitas Jember,

drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp.Prof
NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Potensi Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* C.) terhadap Penurunan Jumlah Jamur *Candida albicans*; Karunia Nur Annisa Dewi, 141610101039; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Candida albicans merupakan mikroorganisme endogen pada rongga mulut, traktus gastrointestinal, traktus genitalia wanita dan kadang-kadang pada kulit. *C. albicans* dapat ditemukan 40-80% pada manusia sehat, yang dapat sebagai mikroorganisme komensal atau patogen. *C. albicans* merupakan jamur penyebab kandidiasis yang merupakan infeksi jamur dengan insiden tertinggi sekitar 85-95% disebabkan oleh infeksi oportunistik. Infeksi *C. albicans* yang terjadi di rongga mulut dikenal dengan kandidiasis oral. Kandidiasis oral dapat terjadi karena faktor lokal dan umum.

Pengobatan kandidiasis oral yang paling umum digunakan adalah grup dari poliena. Poliena seperti nistatin dan amfoterisin B biasanya menjadi pilihan pertama untuk pengobatan kandidiasis oral. Meskipun nistatin ditoleransi dengan baik namun juga terdapat efek samping yakni mual, diare, sakit perut, dermatitis kontak, dan hipersensitivitas. Berkaitan dengan masalah di atas, perlu dicari agen lain yang mempunyai daya antifungi namun lebih sedikit menimbulkan efek samping. Daun singkong merupakan salah satu tanaman yang mengandung saponin, flavonoid dan tanin sehingga kemungkinan daun Singkong dapat digunakan sebagai antijamur terhadap *C. albicans* yang dapat menurunkan jumlah jamur *C. Albicans*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun singkong terhadap penurunan jumlah jamur *C. albicans*. Jenis penelitian yang digunakan adalah *eksperimental laboratoris in vitro* dengan rancangan *the post-test only control group design*. Metode penelitian yang digunakan adalah *Plate Count Method*.

Tabung reaksi berjumlah 6 diletakkan di dalam *laminar flow*. Tabung reaksi K- diberi akuades sebagai kontrol negatif sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS25 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 25% sebanyak 2 ml,

tabung reaksi EEDS50 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 50% sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS75 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 75% sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS100 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 100% sebanyak 2 ml, tabung reaksi K+ diberi nistatin sebagai kontrol positif sebanyak 2 ml. Masing-masing tabung reaksi diberi media SDB masing-masing sebanyak 1 ml dan suspensi *C. albicans* dengan standar 0,5 Mc Farland sebanyak 0,1 ml. Seluruh tabung dihomogenkan dengan alat *thermolyne* kemudian dimasukkan dalam inkubator dan diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C. Setelah 48 jam dilakukan optimasi pengenceran untuk memperoleh koloni sejumlah 30-300 pada metode *pour plate*. Setelah didapatkan pengenceran yang sesuai kemudian diambil 0,1 ml suspensi (media kultur) dari setiap pengenceran dan dicampurkan pada media *Saboraud Dextrose Agar* yang bersuhu 45-47°C dengan gerakan memutar mengikuti pola angka delapan. Seluruh cawan petri diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam inkubator. Setelah 48 jam dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi dengan menggunakan *colony counter*.

Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol daun singkong memiliki potensi dalam menurunkan jumlah jamur *C. Albicans*, sesuai uji Kruskal-Wallis yang menunjukkan terdapat perbedaan pada seluruh kelompok. Semakin besar konsentrasi ekstrak etanol daun singkong maka semakin sedikit jumlah jamur *C. albicans*. Uji Mann Whitney menunjukkan EEDS75 dan EEDS100 tidak berbeda bermakna, hal ini menunjukkan ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 75% memiliki potensi yang sama dengan ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100% dalam menurunkan pertumbuhan jumlah jamur *C. Albicans*.

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun singkong memiliki potensi dalam menurunkan jumlah jamur *C. albicans*.

PRAKATA

Puji syukur Alhamdulillah kehadiran Allah SWT karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul "Potensi Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*) terhadap Penurunan Jumlah Jamur *Candida albicans*" sebagai persyaratan menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak oleh karena itu penulis menyampaikan terima kasih kepada :

1. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM., selaku dosen pembimbing utama dan drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes., selaku dosen pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, tenaga, perhatian, serta kesabarannya dalam memberikan bimbingan, semangat, dan petunjuk sehingga terselesaikannya penulisan skripsi ini;
2. drg. Zahara Meilawaty, M.Kes., selaku dosen penguji utama dan drg. Leni Rokhma Dewi, Sp. PM, selaku dosen penguji anggota yang telah banyak memberikan saran dan bimbingan guna kesempurnaan penulisan skripsi ini;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes, Sp. Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Kedua orangtuaku Bapak Ahmad Junaidi dan Ibu Sunarsih yang selama ini telah memberikan kasih sayang, semangat, dukungan dan doa yang tidak pernah putus;
5. Teknisi Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pak Pin dan Mbak Indri, terima kasih atas bantuannya;
6. Staf Laboratorium Biologi Fakultas Farmasi Universitas Jember, Bu Widi, terimakasih atas bantuannya;
7. Staf Akademik Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
8. Rekan seperjuangan skripsi jamur *Candida albicans*, Fisca yang selama ini menemani dan membantu penelitian ini dari awal sampai selesai;

9. Teman-teman Genk Montik Becbit, Chibi, Nesya, Mbokni yang senantiasa tiada henti menghibur, menemani, dan selalu memberikan support;
10. Teman seperjuangan Bontangku, Ema Fawziyah yang selalu memberikan dukungan dan semangat;
11. Teman-teman seperantauan HMB Jember yang selalu menghibur dan menemani di kota Jember ini, semoga selalu kompak;
12. Rekan yang membantu merapikan skripsi ini, Erlita dan Najla, terimakasih bantuannya;
13. Kosmateku Dhila yang senantiasa membantu, mendukung, dan menghiburku selama masa skripsi;
14. Teman-temanku yang selalu mendukung dari jauh Pubu, Ripah, Mela, Ayunda, Gita, terimakasih doa dan supportnya;
15. Bapak pemilik kebun singkong di Ledokombo, terimakasih atas kebaikan hati dan bantuannya;
16. Teman-teman angkatan 2014 yang selalu kompak, terimakasih kerjasama dan dukungannya;
17. Semua pihak yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Penulis juga menerima segala kritik dan saran dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhirnya, penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat. Amin.

Jember, 15 Februari 2018

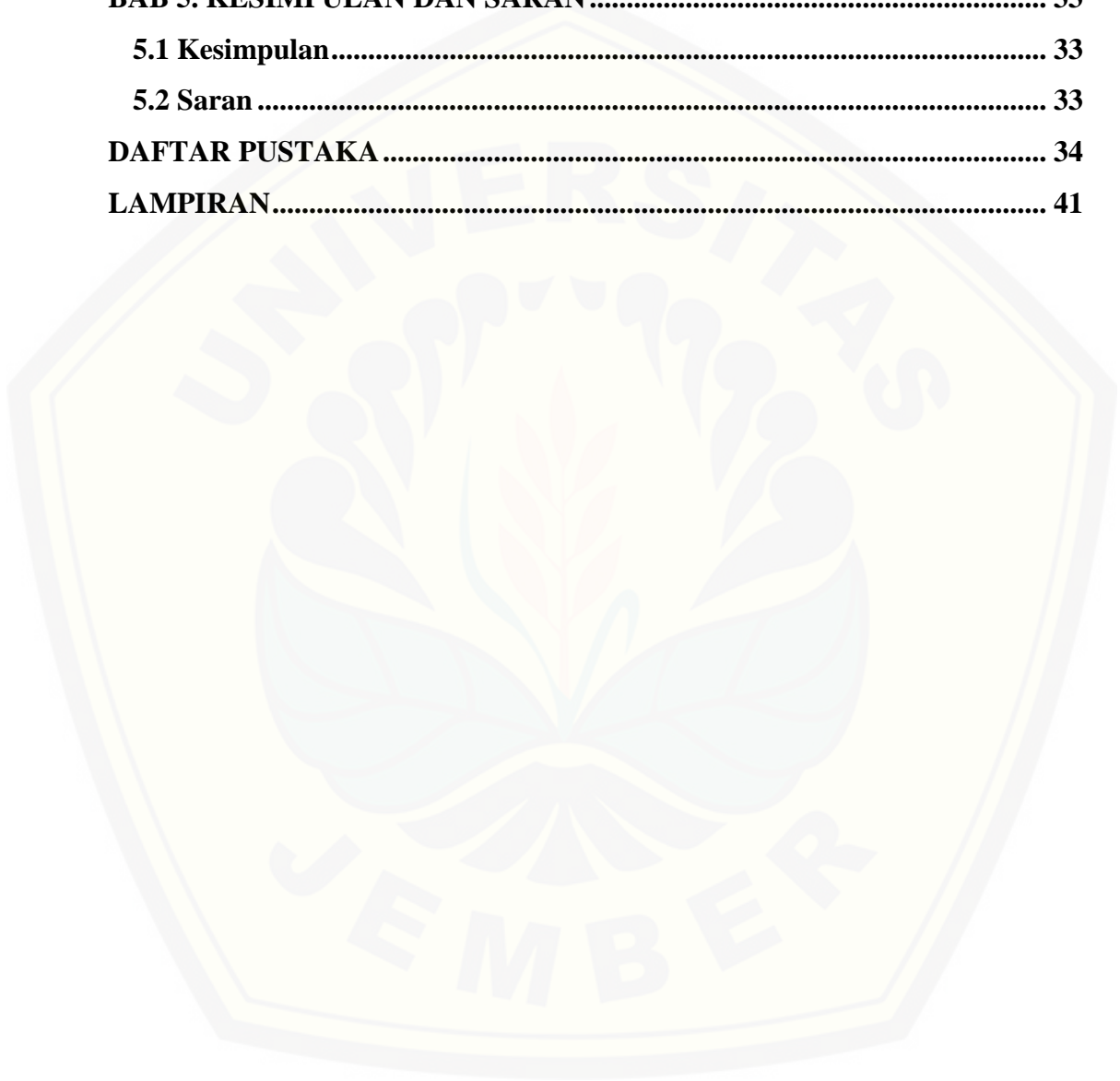
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
PERSEMBAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	ii
HALAMAN MOTO	iii
HALAMAN PERNYATAAN.....	iv
HALAMAN PEMBIMBINGAN.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
RINGKASAN	vii
PRAKATA	ix
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	4
2.1 Tanaman Singkong.....	4
2.1.1 Morfologi Tanaman Singkong	4
2.1.2 Klasifikasi Tanaman Singkong (<i>Manihot esculenta C.</i>).....	5
2.1.3 Kandungan Daun Singkong.....	6
2.1.4 Antijamur Daun Singkong.....	6
2.2 <i>Candida albicans</i>.....	7
2.2.1 Morfologi <i>Candida albicans</i>	7
2.2.2. Klasifikasi.....	8

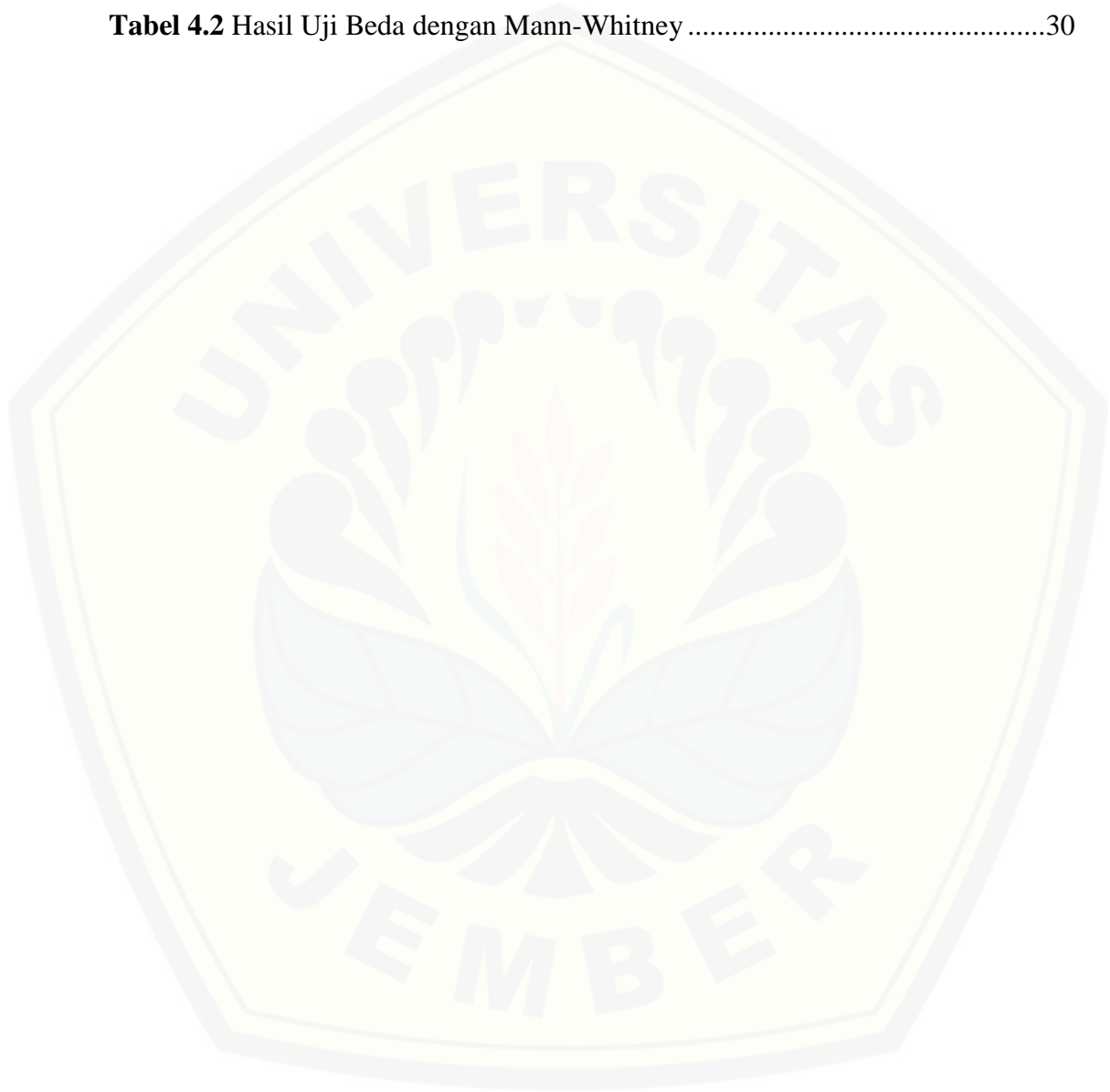
2.2.3 Patogenesis <i>Candida albicans</i>	9
2.3 Mekanisme Antijamur	9
2.4 Metode Ekstraksi	11
2.5 Plate Count Method	12
2.6 Kerangka Konsep	14
2.7 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian.....	15
2.8 Hipotesis.....	16
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	17
3.1 Jenis penelitian.....	17
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian.....	17
3.3 Variabel Penelitian	17
3.3.1 Variabel Bebas	17
3.3.2 Variabel Terikat.....	17
3.3.3 Variabel Terkendali.....	17
3.4 Definisi Operasional Penelitian	18
3.4.1 Ekstrak Etanol Daun Singkong	18
3.4.2 Jumlah Jamur <i>C. albicans</i>	18
3.4.3 Suhu Inkubasi	18
3.4.4 Waktu Inkubasi.....	18
3.5 Sampel Penelitian.....	19
3.5.1 Besar Sampel	19
3.5.2 Pengelompokkan Sampel	19
3.5.3 Kriteria Sampel Daun Singkong.....	19
3.6 Alat dan Bahan	20
3.6.1 Alat Penelitian	20
3.6.2 Bahan Penelitian	20
3.7 Prosedur Penelitian.....	20
3.7.1 Tahap Persiapan	20
3.7.2 Tahap Perlakuan	22
3.8 Alur Penelitian	25
3.9 Analisis Data.....	26

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	27
4.1 Hasil Penelitian	27
4.2 Analisis Data	29
4.3 Pembahasan	30
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Kesimpulan	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA	34
LAMPIRAN	41



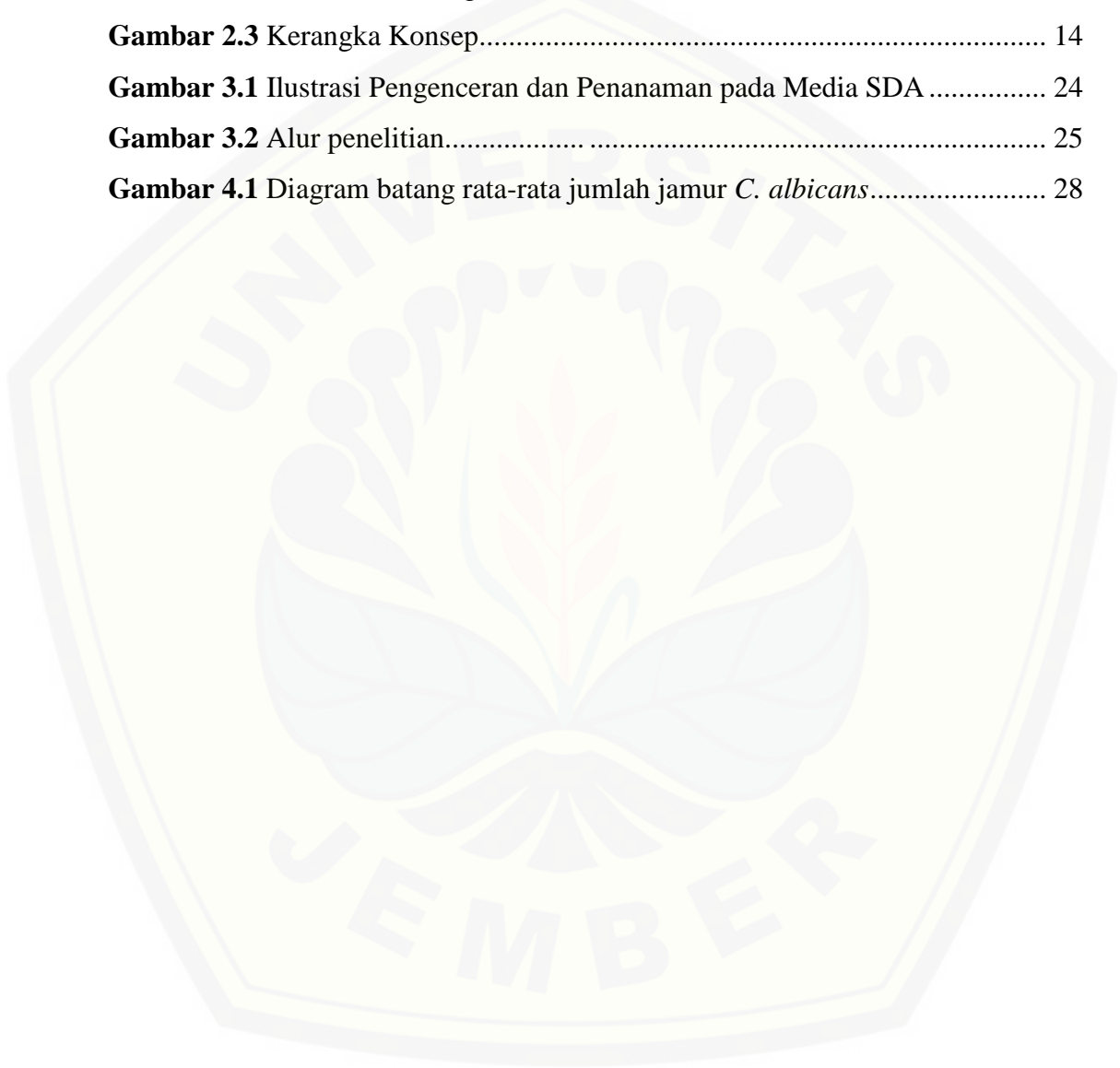
DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 4.1 Nilai rata-rata jumlah jamur <i>C. albicans</i> (CFU/ml).....	27
Tabel 4.2 Hasil Uji Beda dengan Mann-Whitney	30



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Tanaman Singkong (<i>Manihot esculenta C.</i>).....	5
Gambar 2.2 Ilustrasi morfologi <i>Candida</i>	8
Gambar 2.3 Kerangka Konsep.....	14
Gambar 3.1 Ilustrasi Pengenceran dan Penanaman pada Media SDA.....	24
Gambar 3.2 Alur penelitian.....	25
Gambar 4.1 Diagram batang rata-rata jumlah jamur <i>C. albicans</i>	28



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Surat Keterangan Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>	41
B. Surat Keterangan Identifikasi Daun Singkong.....	42
C. Surat Hasil Analisa Ekstrak Etanol Daun Singkong	43
D. Alat dan Bahan Penelitian.....	44
F. Suspensi Media Kultur Setelah 48 Jam Inkubasi	48
G. Koloni yang Tumbuh Pada Media <i>Sabourad Dextrose Agar</i>	49
H. Hasil Penghitungan Jamur <i>C. albicans</i> (CFU/ml)	50
I. Penghitungan Jumlah Jamur (CFU/ml).....	51
J. Hasil Uji Statistik	52
1. Hasil Uji Normalitas Data (<i>Shapiro-Wilk</i>)	52
2. Hasil Uji Homogenitas Data (<i>Levene Test</i>).....	52
3. Hasil Uji Beda (<i>Kruskall-Wallis Test</i>)	53
4. Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan (<i>Mann-Whitney Test</i>)	54

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Candida albicans merupakan mikroorganisme endogen pada rongga mulut, traktus gastrointestinal, traktus genitalia wanita dan kadang-kadang pada kulit. *C. albicans* dapat ditemukan 40-80% pada manusia sehat, yang dapat sebagai mikroorganisme komensal atau patogen (Samarayanake, 2002). *C. albicans* merupakan jamur penyebab kandidiasis yang merupakan infeksi jamur dengan insiden tertinggi sekitar 85-95% disebabkan oleh infeksi oportunistik (Carranza, 2012). Infeksi *C. albicans* yang terjadi di rongga mulut dikenal dengan kandidiasis oral (Greenberg *et al.*, 2008).

Prevalensi kandidiasis oral cenderung meningkat (20-75%) karena meningkatnya populasi penderita imunokompromais yang menderita kandidiasis oral (50-95%) dan kasus resistensi terhadap obat anti jamur (32 - >50%) (Prasetyo, 2014). Pada populasi umum, terjadi berkisar antara 20% sampai 75% tanpa gejala apapun. Kejadian kandidiasis di rongga mulut dengan isolat *C. albicans* yang dominan telah dilaporkan 45% pada neonatus, 45-65% pada anak-anak, 30-45% orang dewasa sehat, 50-65% pada kasus pengguna gigi tiruan jangka panjang, 65-88% pada mereka yang mengalami penyakit akut, 90% pada pasien dengan leukemia akut yang menjalani kemoterapi, dan 95% pasien dengan infeksi HIV (Rathod *et al.*, 2015).

Kandidiasis oral dapat terjadi karena faktor lokal dan umum. Faktor lokal meliputi pemakaian *denture*, merokok, inhalasi steroids, topikal steroids, ketidakseimbangan mikroflora oral, kualitas dan kuantitas saliva. Faktor umum meliputi penyakit immunosupresif, penurunan status kesehatan, obat immunosupresif, kemoterapi, endokrin disorder dan defisiensi hematinik (Greenberg *et al.*, 2008).

Pengobatan kandidiasis oral yang paling umum digunakan adalah grup dari poliena. Poliena seperti nistatin dan amfoterisin B biasanya menjadi pilihan pertama untuk pengobatan kandidiasis oral. Nistatin dipilih karena obat tersebut merupakan golongan poliena yang efektif mengobati kandidiasis oral dan mampu memberikan efek optimal menghambat pertumbuhan *C. albicans* (Ermayanti, 2014). Meskipun

nistatin ditoleransi dengan baik namun juga terdapat efek samping yakni mual, diare, sakit perut, dermatitis kontak, dan hipersensitivitas (Greenberg *et al.*, 2008). Berkaitan dengan masalah di atas, perlu dicari agen antijamur lain yang mempunyai daya antifungi namun lebih sedikit menimbulkan efek samping (Saifudin, 2011).

Saat ini masyarakat di dunia termasuk Indonesia mulai mengutamakan penggunaan obat secara alami. Obat-obatan yang berasal dari alam selain harganya lebih terjangkau juga memiliki efek samping yang minimal (Murti dan Poerba, 2010). Salah satu bahan alami obat yang digunakan adalah daun singkong. Selama ini masyarakat Indonesia sudah mengenal daun singkong sebagai tanaman obat yang bertahun-tahun digunakan untuk mengobati berbagai gangguan kesehatan seperti diare, hipertensi dan sakit kepala (Pratiwi, 2016). Daun Singkong mengandung banyak protein, beberapa mineral, vitamin B1, vitamin B2, vitamin C dan karoten. Daun Singkong juga mengandung banyak karbohidrat, lemak, zat besi, fosfor, kalsium, air, flavonoid, saponin, tanin, dan kuinon. Flavonoid, tanin, dan saponin diketahui memiliki aktivitas sebagai antijamur (Miladiyah, *et al.*, 2011; Nailul, 2013; Septiadi *et al.*, 2013; Mutia *et al.*, 2017).

Pada penelitian sebelumnya ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* C.) terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, dan *Shigella sp* karena mengandung flavonoid, saponin dan tanin (Pratiwi, 2016; Mutia, 2017). Kandungan flavonoid pada daun singkong juga terbukti memiliki aktivitas sebagai antihiperqlikemia pada hewan uji mencit (Warditiani *et al.*, 2016). Daun singkong juga memiliki kemampuan membersihkan *smear layer* pasca preparasi gigi karena terdapatnya zat aktif saponin (Juliantary, 2016).

Kabupaten Jember memiliki berbagai komoditas potensial di sektor pertanian, salah satunya adalah singkong. Hal tersebut tampak dari produktivitas dan jumlah produksi singkong di Kabupaten Jember yang cukup tinggi. Berdasarkan data Badan Pusat Statistik Kabupaten Jember diketahui bahwa produktivitas dan jumlah produksi singkong pada tahun 2012 berturut-turut sebesar 174,40 kw/ha dan 478.030 kw dengan total luas panen sebesar 2.471 ha (BPS, 2013). Sentra produksi

singkong berada di Kecamatan Sumberbaru, Sukowono, dan Ledokombo (Jember Information Centre, 2017).

Pada beberapa penelitian yang telah dilakukan, senyawa aktif alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin dan tanin yang terdapat pada berbagai tumbuhan terbukti memiliki efek antijamur terhadap *C. albicans* (Ningsih, 2017; Fauzia, 2017). Daun singkong merupakan salah satu tanaman yang mengandung saponin, flavonoid dan tanin sehingga kemungkinan daun singkong dapat digunakan sebagai antijamur terhadap *C. albicans* yang dapat menurunkan jumlah jamur *C. albicans*. Belum ada penelitian mengenai kandungan ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) sebagai antijamur. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian untuk mengetahui potensi ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) pada penurunan jumlah jamur, khususnya jamur *C. albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) berpotensi menurunkan jumlah jamur *C. albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui potensi ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) terhadap penurunan jumlah jamur *C. albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Dengan dilakukannya penelitian ini, diharapkan :

1. Memberikan informasi kepada tenaga kesehatan khususnya bidang kedokteran gigi, mengenai potensi ekstrak etanol daun singkong terhadap penurunan jumlah jamur *C. albicans*.
2. Dapat digunakan sebagai dasar atau pertimbangan pada penelitian selanjutnya.
3. Menjadikan ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) sebagai alternatif lain dalam penyembuhan kandidiasis oral secara herbal.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tanaman Singkong

2.1.1 Morfologi Tanaman Singkong

Singkong (*Manihot esculenta* C.) merupakan tanaman yang tergolong ke dalam famili *Euphorbiaceae* dan umum dijumpai di daerah Asia, termasuk Indonesia (Sastroamidjojo, 2001). Tanaman singkong berasal dari kawasan benua Amerika beriklim tropis, tepatnya di Brasil, Amerika Selatan. Dalam perkembangan selanjutnya, tanaman singkong menyebar ke berbagai negara di dunia yang terletak di antara 30° LU dan 30° LS. Tanaman singkong masuk ke Indonesia pada sekitar tahun 1852 dan penyebarannya terjadi pada tahun 1914-1918, hingga akhirnya Indonesia menjadi negara penghasil singkong nomor lima di dunia pada tahun 1968 (Rukmana, 2002).

Bagian singkong yang umum dimanfaatkan oleh masyarakat adalah bagian umbi sementara pemanfaatan bagian daun masih terbatas sebagai bahan tambahan pakan ternak. Daun singkong telah banyak digunakan masyarakat untuk mengobati diare dan sakit kepala (Sastroamidjojo, 2001).

Tanaman singkong memiliki banyak nama daerah. Di tanah Jawa, tanaman ini dikenal dengan nama ketela pohon, singkong, ubi jenderal, ubi inggris, telo puhung, kesape, bodin dan telo jenderal. Dalam budaya Sunda, tanaman ini disebut sampeu, huwi dangdeur dan huwi jenderal. Di Ambon, Singkong dikenal dengan nama kasbek dan di Padang dikenal dengan nama ubi perancis (Rukmana, 2002).

Tanaman singkong adalah tanaman dikotil berumah satu dan proses penyerbukannya bersifat silang. Sebagai tanaman semak belukar tahunan, singkong tumbuh setinggi 1-4m dengan daun besar yang menjadi (*palmate*) dengan 5 hingga 9 belahan lembar daun. Daunnya yang bertangkai panjang bersifat cepat luruh (*deciduous*) yang berumur paling lama hanya beberapa bulan (Gambar 2.1) (Rukmana, 2002).

Batang tanaman singkong mempunyai pola percabangan yang khas yang keragamannya bergantung pada kultivar. Bagian batang tua memiliki bekas daun yang jelas (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998). Warna batangnya bervariasi,

tergantungan kulit luarnya. Warna batang yang masih muda umumnya hijau, sedangkan warna batang yang sudah tua akan berubah menjadi keputih-putihan, kelabu, hijau kelabu atau coklat kelabu (Rukmana, 2002).

Bentuk ubi bermacam-macam dan walaupun kebanyakan berbentuk silinder dan meruncing, beberapa diantaranya bercabang. Bagian ubi yang mengecil dan berkayu menghubungkan ubi dan batang. Panjang ubi berkisar dari 12-100cm dan diameter 3 hingga 15 cm. Bergantung pada umur tanaman, bobot ubi berkisar beberapa ratus gram hingga 15 kg. Pembesaran ubi dipengaruhi oleh panjang hari dan dapat dimulai segera setelah tanaman berumur 8 minggu. Tanaman umumnya menghasilkan sekitar 5-10 ubi (Rubatzky dan Yamaguchi, 1998).



Gambar 2.1 Tanaman Singkong (*Manihot esculenta C.*)

2.1.2 Klasifikasi Tanaman Singkong (*Manihot esculenta C.*)

Dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan, kedudukan tanaman singkong diklasifikasikan sebagai berikut:

- Kingdom* : *Plantae*
Phylum : *Spermatophyta*
Subphylum : *Angiospermae*
Class : *Dicotyledonae*
Ordo : *Euphorbiales*
Family : *Euphorbiaceae*
Genus : *Manihot*
Spesies : *Manihot esculenta Crantz*

(Rukmana, 2002)

2.1.3 Kandungan Daun Singkong

Daun singkong memiliki kandungan senyawa organik berupa flavonoid, saponin, tanin, vitamin C, vitamin A, vitamin B1, zat besi, hidrat arang, kalsium, fosfor, lemak, protein asam amino metionin, mineral, seperti Fe, Zn, Mn, Cu, Mg, Ca, P, K, S dan β -karoten (Okeke dan Iweala, 2007; Departemen Kesehatan RI, 2000; Wobeto *et al.*, 2006). Daun singkong juga mengandung sianida, phytin dan tanin (Fasuyi dan Aletor, 2005).

2.1.4 Antijamur Daun Singkong

Potensi ekstrak etanol daun singkong dalam menurunkan jumlah jamur *C. albicans* tidak terlepas dengan adanya kandungan senyawa kimia aktif pada daun singkong yang bersifat sebagai antijamur. Senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak daun singkong antara lain: flavonoid, tanin, dan saponin (Miladiyah *et al.*, 2011). Senyawa tersebut diduga memiliki mekanisme antijamur dalam menurunkan jumlah jamur *C. albicans*. Semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antimikroba maka aktivitas antimikrobanya semakin besar pula (Yusran, 2009).

a. Flavonoid

Flavonoid adalah senyawa polifenol yang secara umum mempunyai struktur *phenylbenzopyrone* (C6-C3-C6) (Suryo, 2010). Mekanisme flavonoid sama seperti tanin yang merupakan senyawa golongan fenol sehingga senyawa tersebut mampu bereaksi dengan dinding sel. Selanjutnya masuk ke dalam inti sel dan membuat seluruh protein pada jamur mengalami denaturasi sehingga sel jamur menjadi rusak dan mati (Septianoor *et al.*, 2013). Sifat lipofilik pada flavonoid juga akan mengikat fosfolipid-fosfolipid pada membran sel jamur dan mengganggu permeabilitas membran sel (Abad *et al.*, 2007).

b. Tanin

Tanin adalah senyawa polifenol dari kelompok flavonoid yang berfungsi sebagai antioksidan kuat, antiperadangan, antijamur dan anti kanker (Yuliarti, 2009). Mekanisme tanin sama seperti flavonoid yang merupakan senyawa golongan fenol sehingga senyawa tersebut mampu bereaksi dengan dinding sel. Selanjutnya

masuk ke dalam inti sel dan membuat seluruh protein pada jamur mengalami denaturasi sehingga sel jamur menjadi rusak dan mati (Septianoor *et al.*, 2013).

c. Saponin

Saponin adalah glikosida yang mengandung gula (glukosa, galaktosa, pentosa atau metil pentosa) dan sterol atau triterpenoid sapogenin, terdapat pada berbagai tanaman. Pada tanaman saponin banyak ditemukan pada akar dan daun. Kehadiran saponin memberi banyak manfaat karena memiliki sifat antibakteri, antijamur dan antivirus (Mardiana dan Tim Ketik Buku, 2012).

Saponin dapat mengakibatkan sel mikroba lisis dengan mengganggu stabilitas membran selnya. Saponin bersifat sebagai surfaktan yang berbentuk polar akan menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari dinding sel *C. albicans*, sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran yang berakibat pemasukan bahan atau zat-zat yang diperlukan dapat terganggu akhirnya sel membengkak dan pecah (Sugianitri, 2011).

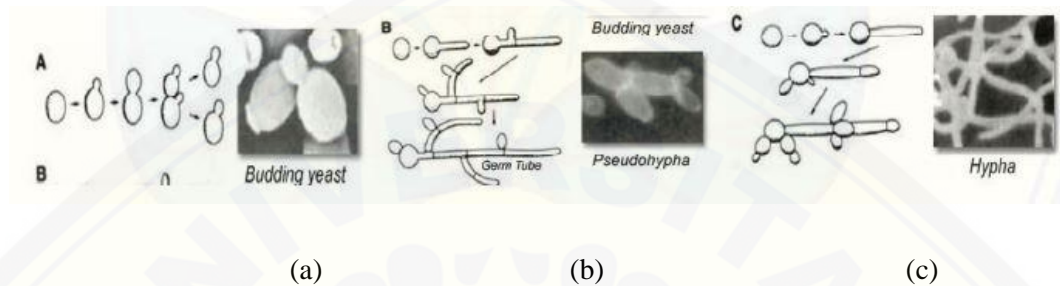
2.2 *Candida albicans*

2.2.1 Morfologi *Candida albicans*

C. albicans merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora dan menghasilkan *germ tube* yang akan membentuk *pseudohifa*. Perbedaan bentuk ini tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya yaitu suhu, pH dan sumber energi (Minasari, 2011). *Candida albicans* merupakan suatu ragi uniseluler lonjong, bertunas yang menghasilkan *pseudomiselium* dalam biakan maupun dalam jaringan eksudat. Ragi ini merupakan anggota normal selaput mukosa, saluran pernapasan dan genitalia wanita serta lebih sering menimbulkan penyakit dibandingkan dengan spesies *Candida* lain. Ditempat-tempat ini, ragi dapat menjadi dominan patologik. Peningkatan jumlah dari *C. albicans* dapat mengubah sifat komensal menjadi parasit, yaitu bentuk ragi menjadi hifa (Gambar 2.2) (Wijayanti, 2012).

C. albicans memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Pertumbuhan optimum terjadi pada pH antara

2,5– 7,5 dan temperatur berkisar 20°C – 38°C. Kemampuan *C. albicans* tumbuh pada suhu 37°C merupakan karakteristik penting untuk identifikasi. Spesies yang patogen akan tumbuh secara mudah pada suhu 25°C– 37°C, sedangkan spesies yang cenderung saprofit kemampuan tumbuhnya menurun pada temperatur yang semakin tinggi (Tjampakasari, 2006).



Gambar 2.2 Ilustrasi morfologi *Candida* (a) bentuk spora, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa (sumber : Hendriques, 2007)

Dinding selnya berfungsi sebagai pelindung dan juga sebagai target dari beberapa antimikotik, juga berperan dalam proses penempelan dan kolonisasi serta bersifat antigenik. Fungsi utamanya adalah memberi bentuk pada sel dan melindungi sel ragi dari lingkungannya. Tebal dinding selnya adalah 100 sampai 400 nm. Dinding sel *C. albicans* terdiri dari lima lapisan yaitu *fibrillar layer*, *mannoprotein*, β -glucan, β -glucan-khitin, dan membran plasma (Utomo, 2015).

2.2.2. Klasifikasi

Kedudukan *C. albicans* dalam nomenklatur adalah sebagai berikut:

- Kingdom* : Fungi
Phylum : Ascomycota
Subphylum : Saccharomycotina
Class : Deuteromycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Species : *Candida albicans*

(Komariah, 2012)

2.2.3 Patogenesis *Candida albicans*

Perkembangan infeksi merupakan dampak dari menempelnya mikroorganisme dalam jaringan. Secara umum diketahui bahwa interaksi antara mikroorganisme dan jaringan diperantarai oleh komponen spesifik dari dinding sel mikroorganisme, adhesin dan reseptor. Setelah terjadi proses penempelan *C. albicans* berpenetrasi ke dalam sel epitel mukosa. Enzim yang berperan dalam hal ini adalah aminopeptidase dan asam fosfatase. Respon yang terjadi setelah proses penetrasi tergantung dari keadaan imunitas (Tjampakasari, 2006).

C. albicans dapat menimbulkan infeksi superfisial di kulit dan membran mukosa. Infeksi dalam mulut yang paling sering terjadi adalah kandidiasis oral. Hampir semua orang pernah terpapar *C. albicans* dalam bentuk akut atau kronik. *C. albicans* disebut agen infeksi oportunistik dengan jumlah faktor predisposisi yaitu obat-obatan (antibiotik dan steroid), inisiasi lokal gigi tiruan, alat ortodonsia, perokok berat, radiasi, usia, penyakit sistemik dan sebagainya (Wijayanti, 2012).

Faktor predisposisi berperan dalam meningkatkan pertumbuhan *C. albicans* serta memudahkan invasi jamur ke dalam jaringan tubuh manusia karena adanya perubahan dalam sistem pertahanan tubuh. *Blastospora* berkembang menjadi hifa semu dan tekanan dari hifa semu tersebut merusak jaringan. Enzim-enzim yang berperan dalam virulensi adalah enzim-enzim hidrolitik seperti proteinase, lipase dan fosfolipase (Tjampakasari, 2006).

2.3 Mekanisme Antijamur

Menurut Siswandono dan Soekardjo (2000), mekanisme kerja antikandida adalah sebagai berikut:

a. Gangguan pada membran sel

Gangguan ini terjadi karena adanya ergosterol dalam sel jamur. Ergosterol merupakan komponen sterol yang sangat penting dan sangat mudah diserang oleh antibiotik turunan polien. Kompleks polien-ergosterol yang terjadi dapat membentuk suatu pori dan melalui pori tersebut konstituen esensial sel jamur seperti ion K, fosfat anorganik, asam karboksilat, asam amino dan ester fosfat

bocor keluar hingga menyebabkan kematian sel jamur. Contoh: nistatin, amfoterisin B dan kandisidin.

b. Penghambatan biosintesis ergosterol dalam sel jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan imidazol yang mampu menimbulkan ketidakteraturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan ketidakseimbangan metabolik sehingga menghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur. Contoh: ketokonazol, klortimazol, mikonazol, bifonazol.

c. Penghambatan sintesis protein jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa turunan pirimidin mampu mengalami metabolisme dalam sel jamur menjadi suatu metabolit.

d. Penghambatan mitosis jamur

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

Pengobatan farmakologis kandidiasis oral dikelompokkan dalam tiga kelas agen antifungal yaitu: polyenes, azoles, dan echinocandins. Antifungal Polyenes mencakup Amfoterisin B dan Nistatin. Amfoterisin B dihasilkan oleh *Streptomyces nodosus* dan memiliki aktivitas antijamur yang luas. Di samping keuntungannya, antifungal ini dapat menimbulkan efek nefrotoksik. Obat antifungal lain yang sekarang banyak digunakan adalah Nistatin. Azoles dibagi dalam dua kelompok yaitu imidazoles dan triazoles. Azoles akan menghambat ergosterol yang merupakan unsur utama sel membran jamur. Sedangkan, Caspofungin termasuk golongan antifungal echinocandins yang digunakan untuk pengobatan terhadap infeksi jamur *Kandida* dan spesies *aspergillus* (Muzyka, 2005).

Nistatin merupakan antijamur pertama yang spesifik dan dapat digunakan pada manusia. Ditemukan pertama kali oleh Hazen dan Brown di *New York State Laboratory* pada tahun 1949 yang merupakan suatu antibiotik polien yang dihasilkan oleh *Streptomyces noursei* yang mempunyai rumus molekul yaitu

$C_{47}H_{75}NO_{17}$ dan berat molekul 926,13 (Fauziah, 2015). Struktur dan aksi nistatin hampir sama dengan amphotericin B, tetapi toksisitas sistemik dari nistatin menyebabkan keterbatasan obat tersebut untuk digunakan secara sistemik (Fauziah, 2015).

Mekanisme kerja nistatin adalah dengan mengadakan ikatan yang kompleks dengan ergosterol di membran sitoplasma jamur yang sensitif. Hal tersebut akan menyebabkan perubahan permeabilitas membran dengan membentuk pori-pori intra-membran dan dengan demikian kehilangan intra-sel penting senyawa, seperti ion dan molekul kecil, dan kemudian sel akan mengalami kematian (Brescansin *et al.*, 2013).

Nistatin efektif terhadap berbagai jenis ragi dan semua jenis *Candida* yang menyerang manusia. Penggunaannya terbatas pada kandidiasis kulit, mukosa, saluran cerna, dan vagina. Di dalam lumen usus orang-orang yang memiliki gangguan pertahanan *hostpes*, nistatin telah diberikan secara peroral untuk menekan sebagian *Candida*. Nistatin tersedia dalam bentuk krim, salep, suspensi oral, tablet dan bubuk. Dosis nistatin dinyatakan dalam unit, setiap 1 mg nistatin mengandung tidak kurang dari 200 unit. Suspensi obat tetes oral mengandung 100.000 unit/ml sedangkan tablet oral mengandung 500.000 unit nistatin (Nuringati, 2002). Efek samping dari nistatin yakni mual, diare, sakit perut, dermatitis kontak, dan hipersensitivitas (Greenberg *et al.*, 2008).

2.4 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah memisahkan bahan yang tidak larut pada pelarut cair dan yang dapat larut dengan kegiatan penarikan kandungan kimia. Tujuan ekstraksi adalah menarik komponen-komponen kimia dalam simplisia (Utomo, 2015). Proses ekstraksi menghasilkan ekstrak yang merupakan sediaan kental yang didapatkan melalui mengekstraksi senyawa aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani dengan pelarut yang sesuai, kemudian pelarut diuapkan dan serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian sehingga memenuhi baku yang ditetapkan (Sulistyaningrum, 2014).

Pemilihan pelarut harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut yang baik memiliki kriteria stabil secara fisika dan kimia, bereaksi netral, selektif dan tidak mempengaruhi zat yang berkhasiat (Soraya, 2015). Cairan pelarut yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol 95%. Etanol dipertimbangkan sebagai cairan penyari karena:

1. Lebih selektif
2. Kapang sulit tumbuh dalam etanol 20% ke atas
3. Tidak beracun
4. Netral
5. Absorbsinya baik
6. Etanol dapat bercampur dengan air dalam segala perbandingan
7. Memerlukan panas yang lebih sedikit untuk proses pemekatan
8. Zat pengganggu yang larut terbatas

Dalam penelitian ini, peneliti menggunakan metode ekstraksi maserasi. Maserasi adalah cara penyaringan sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam sel yang mengandung zat aktif yang akan larut. Perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan luar sel, menyebabkan larutan yang terpekat terdesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel (Sulistyaningrum, 2014).

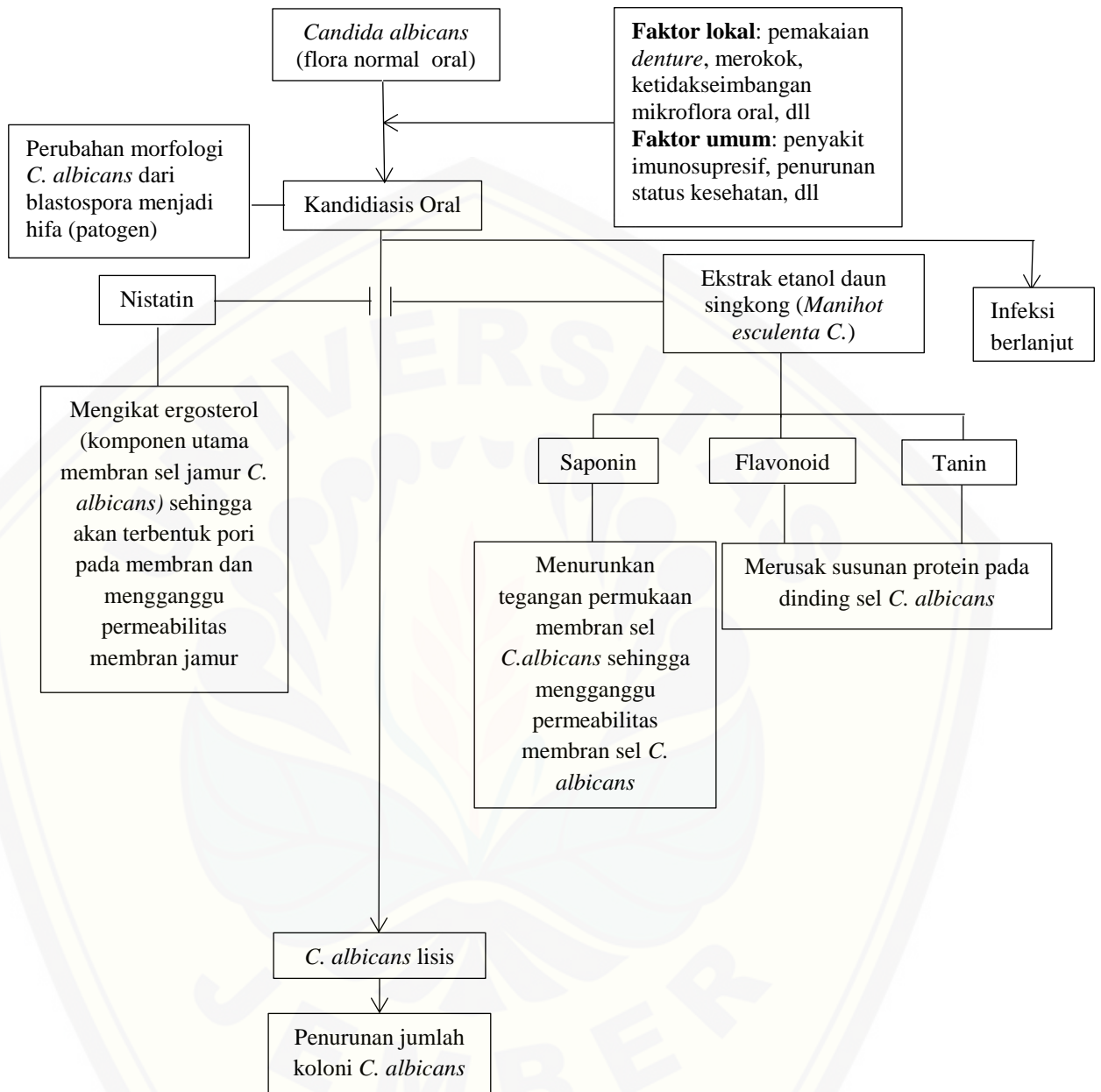
2.5 Plate Count Method

Pengujian aktivitas antijamur dapat dilakukan dengan *Plate Count Method* yaitu metode yang paling umum digunakan untuk menentukan jumlah mikroba yang masih hidup berdasarkan jumlah koloni yang tumbuh. Teknik ini diawali dengan pengenceran sampel dengan kelipatan 1 : 10. (Berazandeh, 2008). Pengenceran dilakukan untuk mendapatkan 30-300 koloni untuk metode *pour plate* agar memudahkan penghitungan (ASTM, 1998). Masing-masing suspensi pengenceran ditanam dengan metode cawan tuang (*pour plate*) Mikroba akan bereproduksi pada medium agar dan membentuk koloni setelah diinkubasi selama

48 jam. Metode ini dibantu dengan menggunakan alat, yaitu *colony counter* (Berazandeh, 2008).



2.6 Kerangka Konsep



Gambar 2.3 Kerangka Konsep

Keterangan:

—|: Mengobati

—>: Menyebabkan

2.7 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Candida albicans merupakan flora normal pada rongga mulut, namun dapat menyebabkan kandidiasis oral bila didukung oleh faktor lokal dan umum. Faktor lokal meliputi pemakaian *denture*, merokok, inhalasi steroids, topikal steroids, ketidakseimbangan mikroflora oral, kualitas dan kuantitas saliva. Faktor umum meliputi penyakit immunosupresif, penurunan status kesehatan, obat immunosupresif, kemoterapi, endokrin disorder dan defisiensi hematinik. Faktor-faktor tersebut dapat menyebabkan peningkatan jumlah dari *C. albicans* dan dapat mengubah sifat komensal menjadi parasit (perubahan bentuk ragi menjadi hifa) sehingga akan mengakibatkan terjadinya kandidiasis oral.

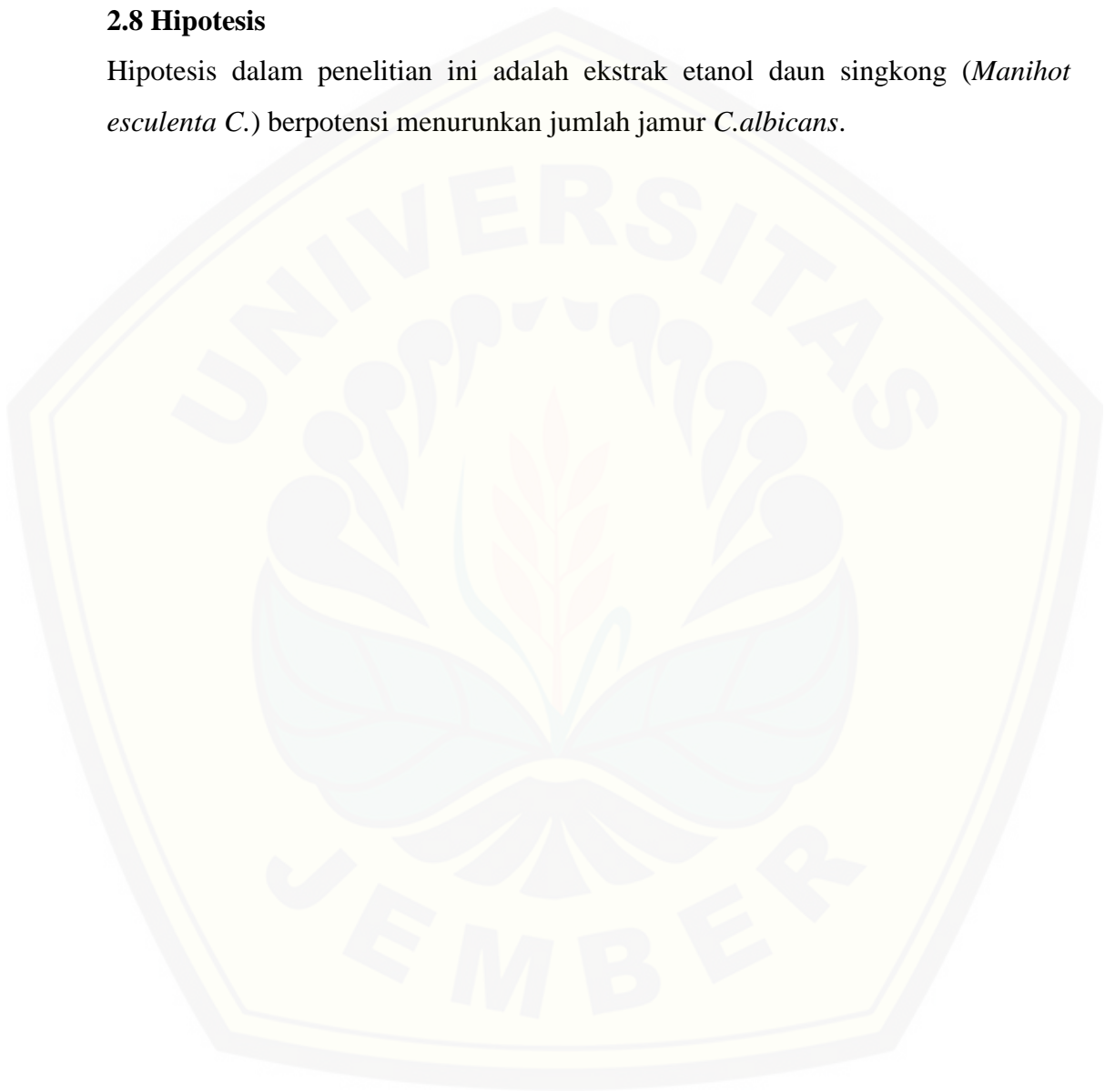
Pengobatan kandidiasis oral dapat menggunakan obat antifungi seperti nistatin. Nistatin dipilih karena obat tersebut merupakan golongan poliena yang efektif mengobati kandidiasis oral dan mampu memberikan efek optimal menghambat pertumbuhan *C. albicans* (Ermayanti, 2014). Mekanisme kerja nistatin adalah dengan mengadakan ikatan yang kompleks dengan ergosterol di membran sitoplasma jamur yang sensitif. Hal tersebut akan menyebabkan perubahan permeabilitas membran dengan membentuk pori-pori intra-membran dan dengan demikian kehilangan intra-sel penting senyawa, seperti ion dan molekul kecil, dan kemudian sel akan mengalami kematian (Brescansin *et al.*, 2013). Meskipun nistatin ditoleransi dengan baik namun juga terdapat efek samping yakni mual, diare, sakit perut, dermatitis kontak, dan hipersensitivitas. Karena itu perlu dicari agen lain yang mempunyai daya antifungi lebih efektif dan lebih sedikit menimbulkan efek samping.

Salah satu tanaman yang diduga memiliki daya antijamur adalah daun singkong karena mengandung senyawa aktif seperti saponin, flavonoid, dan tanin. Saponin bersifat sebagai surfaktan yang berbentuk polar akan menurunkan tegangan permukaan membran sterol dari membran sel *C. albicans*, sehingga menyebabkan gangguan permeabilitas membran yang berakibat pemasukan bahan atau zat-zat yang diperlukan dapat terganggu akhirnya sel membengkak dan pecah. Flavonoid dan tanin merupakan senyawa golongan fenol sehingga senyawa tersebut mampu bereaksi dengan dinding sel. Selanjutnya masuk ke dalam inti sel dan membuat

seluruh protein pada jamur mengalami denaturasi sehingga sel jamur menjadi rusak dan mati. Penghambatan pertumbuhan *C. albicans* dari senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat dari menurunnya jumlah jamur *C. albicans*.

2.8 Hipotesis

Hipotesis dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) berpotensi menurunkan jumlah jamur *C. albicans*.



BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis penelitian

Dalam penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris. Rancangan penelitian ini adalah *the post-test only control group design* yaitu pengamatan pada kelompok perlakuan dan membandingkannya dengan kelompok kontrol dalam waktu tertentu (Notoatmodjo, 2012).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi – LIPI dan Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember. Penelitian dilaksanakan pada bulan Desember 2017 sampai Januari 2018.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah jumlah jamur *C. albicans*

3.3.3 Variabel Terkendali

- a. Suhu inkubasi
- b. Waktu inkubasi
- c. Suspensi *C. albicans*
- d. Media pembiakan *Sabouraud Dextrose Broth*
- e. Media pembiakan *Sabouraud Dextrose Agar*

3.4 Definisi Operasional Penelitian

3.4.1 Ekstrak Etanol Daun Singkong Konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100%

Ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) adalah ekstrak yang diperoleh dari proses ekstraksi dengan cara menyari zat aktif dari simplisia menggunakan pelarut etanol 95% dengan perbandingan simplisia dan etanol 1 : 7,5. Setelah dimaserasi selama 2 hari dan disaring kemudian diuapkan dengan rotary evaporator. Didapatkan hasil ekstrak etanol dengan rendemen 11,07% (b/b). Hasil tersebut pada penelitian ini dipakai sebagai ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100% dan kemudian dilakukan pengenceran sehingga didapatkan konsentrasi 25%, 50% dan 75%.

3.4.2 Jumlah Jamur *C. albicans*

Jumlah jamur *C. albicans* adalah jamur *C. albicans* dalam *Colony Forming Unit* per mililiter sampel (*CFU/ml*), yang dapat diperoleh dengan cara membagi jumlah koloni dengan faktor pengenceran.

$$\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Faktor Pengencer}}$$

(Khanna dan Tarun, 2004).

3.4.3 Suhu Inkubasi

Suhu inkubasi merupakan suhu yang digunakan untuk menumbuhkan *C. albicans*. Suhu inkubasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 37°C yang merupakan suhu optimum untuk pertumbuhan dari jamur *C. albicans* (Saigal, 2011).

3.4.4 Waktu Inkubasi

Waktu inkubasi merupakan waktu yang digunakan untuk menumbuhkan *C. albicans*. Waktu inkubasi yang digunakan pada penelitian ini adalah 48 jam yang merupakan waktu optimum untuk pertumbuhan dari jamur *C. albicans* (Saigal, 2011).

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Besar Sampel

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan akan dihitung dengan menggunakan rumus Federer. Penelitian ini dilakukan sekaligus pada 6 kelompok perlakuan.

Rumus Federer:

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

Keterangan:

t = number of treatment

n = number of sample

maka perhitungan sampelnya adalah:

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

$$5(n-1) \geq 15$$

$$n \geq 4$$

(Federer, 1967)

Jadi, besar sampel minimal berdasarkan perhitungan tersebut adalah 4 sampel pada masing-masing kelompok perlakuan. Kelompok perlakuan berjumlah 6 kelompok. Sehingga jumlah keseluruhan sampel penelitian yang digunakan sebanyak 24 sampel.

3.5.2 Pengelompokan Sampel

Sampel penelitian terbagi menjadi 8 kelompok perlakuan yaitu :

- a. Kelompok K+ : nistatin (kontrol positif)
- b. Kelompok K- : aquadest steril (kontrol negatif)
- c. Kelompok EEDS25 : ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 25%
- d. Kelompok EEDS50 : ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 50%
- e. Kelompok EEDS75 : ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 75%
- f. Kelompok EEDS 100: ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100%

3.5.3 Kriteria Sampel Daun Singkong

Kriteria sampel daun singkong yang akan digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Dipetik dari kebun singkong di daerah Kecamatan Ledokombo, Jember.
- b. Daun singkong yang digunakan merupakan spesies *Manihot esculenta C.* yang telah dilakukan identifikasi.
- c. Daun singkong yang diambil adalah daun yang masih hijau, utuh dan berada di bagian tengah pohon untuk menghindari kandungan sianida yang berlebihan pada daun yang terlalu muda.

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: *petridish* (Pyrex, Japan), oven (Mettler GmbH + Co. KG, tipe 300, Germany), blender (Panasonic, Japan), tabung reaksi (Pyrex, Japan), kertas saring, ayakan 80 mesh, spatula kaca, wadah toples kaca bertutup, timbangan digital (Electronic Balance, BS 600 H, USA), aluminium foil (Klin Pak, Indonesia), *rotary evaporator* (Heidolph, Laborota 4000, Germany), bunsen (Pyrex, Japan), inkubator (WTC Binder, Germany), *autoclave* (Hanshin Medical Co., Ltd., HS-85E, Korea), *laminar flow* (Super clean Bench, HF-100, Korea), *thermolyne*, spektrofotometer, batang L, ose, pinset, label, *handscoon*, masker, *disposable Syringe* 3ml (OneMed), *hotplate* dan *colony counter* (Funke Gerber, Germany).

3.6.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah: daun singkong (*Manihot esculenta C.*), ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*), media *Sabouraud Dextrose Agar* (Merck KGaA, Germany), media *Sabouraud Dextrose Broth* (Merck KGaA, Germany), isolat *Candida albicans* (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember), nistatin (Kandistatin, Indonesia), aquadest steril (Otsu-WI, Indonesia), alkohol 70%, dan etanol 95%.

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Identifikasi Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*)

Daun singkong yang akan digunakan untuk penelitian dilakukan diidentifikasi terlebih dahulu. Proses identifikasi dilakukan di Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI.

b. Sterilisasi Alat

Alat yang terbuat dari kaca dan *stainless steel* dibersihkan kemudian disterilkan dalam *autoclave* selama 15 menit dengan suhu 121°C. Alat yang terbuat dari plastik dapat dicuci dan disterilkan menggunakan alkohol 70%.

c. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Singkong

Pembuatan ekstrak dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Universitas Jember. Daun singkong sebanyak 500 gram dipisahkan dari batangnya kemudian dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir. Daun singkong kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan selama 48 jam ditempat yang teduh dan tidak terkena sinar matahari secara langsung, kemudian ditimbang didapatkan 319 gram daun singkong kering. Selanjutnya daun singkong dipotong kecil dan dihaluskan dengan menggunakan *blender* dan diayak dengan menggunakan ayakan berukuran 80 mesh sehingga menjadi simplisia 300 gram. Simplisia sebanyak 150 gram direndam dalam larutan etanol 95% dengan perbandingan 1:7,5 sebanyak 1,125 liter selama ± 2 hari dan dilakukan pengadukan sekali setiap harinya. Kemudian disaring dengan menggunakan kertas saring. Setelah itu dipekatkan menggunakan *Rotary evaporator* dengan suhu 50°C dan putaran 90 rpm menjadi ekstrak daun singkong dengan konsentrasi 100%.

Pengenceran ekstrak etanol daun singkong dilakukan untuk memperoleh konsentrasi 25%, 50%, dan 75% dari ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100%. Pengenceran konsentrasi ekstrak etanol daun singkong menggunakan menggunakan aquades steril dan dilakukan di dalam *laminar flow*. Hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung reaksi. Pengenceran ekstrak etanol daun singkong menggunakan rumus pengenceran volume $M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$ (Lampiran C).

d. Persiapan Media Cair *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB)

Media SDB terbuat dari 3,7 gram SDB dan aquadest steril 100 ml yang diaduk hingga homogen diatas *hotplate*. Campuran yang terbentuk disterilkan

dengan *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian media diinkubasi selama 24 jam.

e. Persiapan Suspensi *Candida albicans*

Pembuatan suspensi *Candida albicans* dengan mencampur dari 2 ml larutan SDB steril ke tabung reaksi dan ditambahkan 1 ose *Candida albicans*. Tabung reaksi kemudian ditutup lalu dimasukkan dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Setelah itu, suspensi divibrasi dengan *thermolyne* dan diukur absorbansi dengan standard 0,5 Mc Farland.

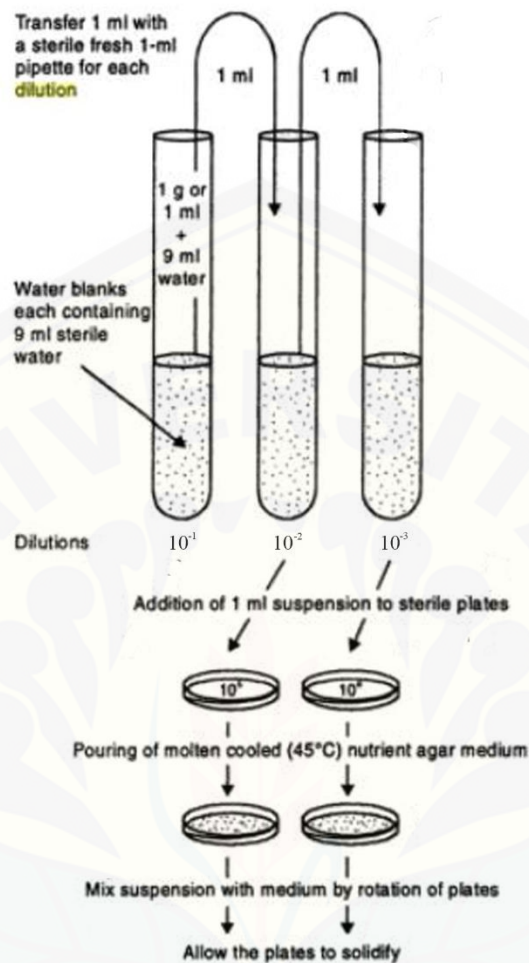
f. Persiapan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Ukuran standar 39 gram bubuk SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) membutuhkan *aquadest* steril sebanyak 600 ml, kemudian dicampur dan diaduk pada *hotplate* hingga homogen. Media kemudian disterilkan dalam *autoclave* suhu 121°C selama 15 menit. Selanjutnya, dilakukan uji sterilisasi media dengan menginkubasi media pada suhu 37°C selama 24 jam.

3.7.2 Tahap Perlakuan

- a. Tabung reaksi berjumlah 6 diletakkan di dalam *laminar flow* untuk mencegah adanya kontaminasi dengan lingkungan luar.
- b. Tabung reaksi tersebut masing-masing diberi label keterangan. Tabung reaksi K- diberi *aquadest* steril sebagai kontrol negatif sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS25 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 25% sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS50 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 50% sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS75 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 75% sebanyak 2 ml, tabung reaksi EEDS100 diberi bahan uji ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 100% sebanyak 2 ml, tabung reaksi K+ diberi nistatin sebagai kontrol positif sebanyak 2 ml.
- c. Masing-masing tabung reaksi diberi media SDB masing-masing sebanyak 1 ml dan suspensi *C. albicans* sebanyak 0,1 ml.
- d. Seluruh tabung dihomogenkan dengan alat *thermolyne* kemudian dimasukkan dalam inkubator dan diinkubasi dalam inkubator selama 48 jam dengan suhu 37°C.

- e. Setelah 48 jam dilakukan optimasi pengenceran (Gambar 3.1) untuk memperoleh koloni sejumlah 30-300 pada metode *pour plate* (ASTM, 1998).
- f. Setelah didapatkan pengenceran yang sesuai kemudian diambil 0,1 ml suspensi (media kultur) dari setiap pengenceran.
- g. Tuangkan media agar cair yang bersuhu 45-47°C. Campurkan media dengan suspensi (media kultur) dengan gerakan memutar mengikuti pola angka delapan.
- h. Seluruh cawan petri diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C dalam inkubator.
- i. Setelah 48 jam dilakukan penghitungan jumlah koloni yang tumbuh pada masing-masing konsentrasi dengan menggunakan *colony counter*. Petridish dengan media agar yang sudah ada pertumbuhan jamur diletakkan di dalam alat tersebut dengan transmisi cahaya dan digunakan kaca pembesar supaya koloni dapat dihitung dengan cepat (Sumono dan Dharmayanti, 2009). Pada alat tersebut terdapat kotak-kotak kuadran yang terdiri dari 64 kotak, tetapi diambil hanya 30 kotak secara acak, tiap kuadran diambil sebanyak 7-8 kotak secara random (Setyorini dan Probosari, 2012). Pada kotak yang bernomor dilakukan penghitungan jumlah jamur secara valid dengan batasan 30-300 jamur setiap petridish (Sumono dan Dharmayanti, 2009). Jumlah koloni ditunjukkan dengan hitungan tombol untuk pengukuran operator sehingga operator dapat secara tepat meneliti sejumlah besar pertumbuhan koloni dalam waktu pendek dan kesalahan dapat ditekan sangat kecil (Setyorini dan Probosari, 2012). Penghitungan dilakukan oleh 3 orang pengamat yang berbeda, yang sebelumnya telah dijelaskan cara pengukurannya, lalu diambil rata-rata (Joshi *et al.*, 2009).



Gambar 3.1 Ilustrasi pengenceran 10^{-2} dan 10^{-3} (Sumber: Aneja, 2003)

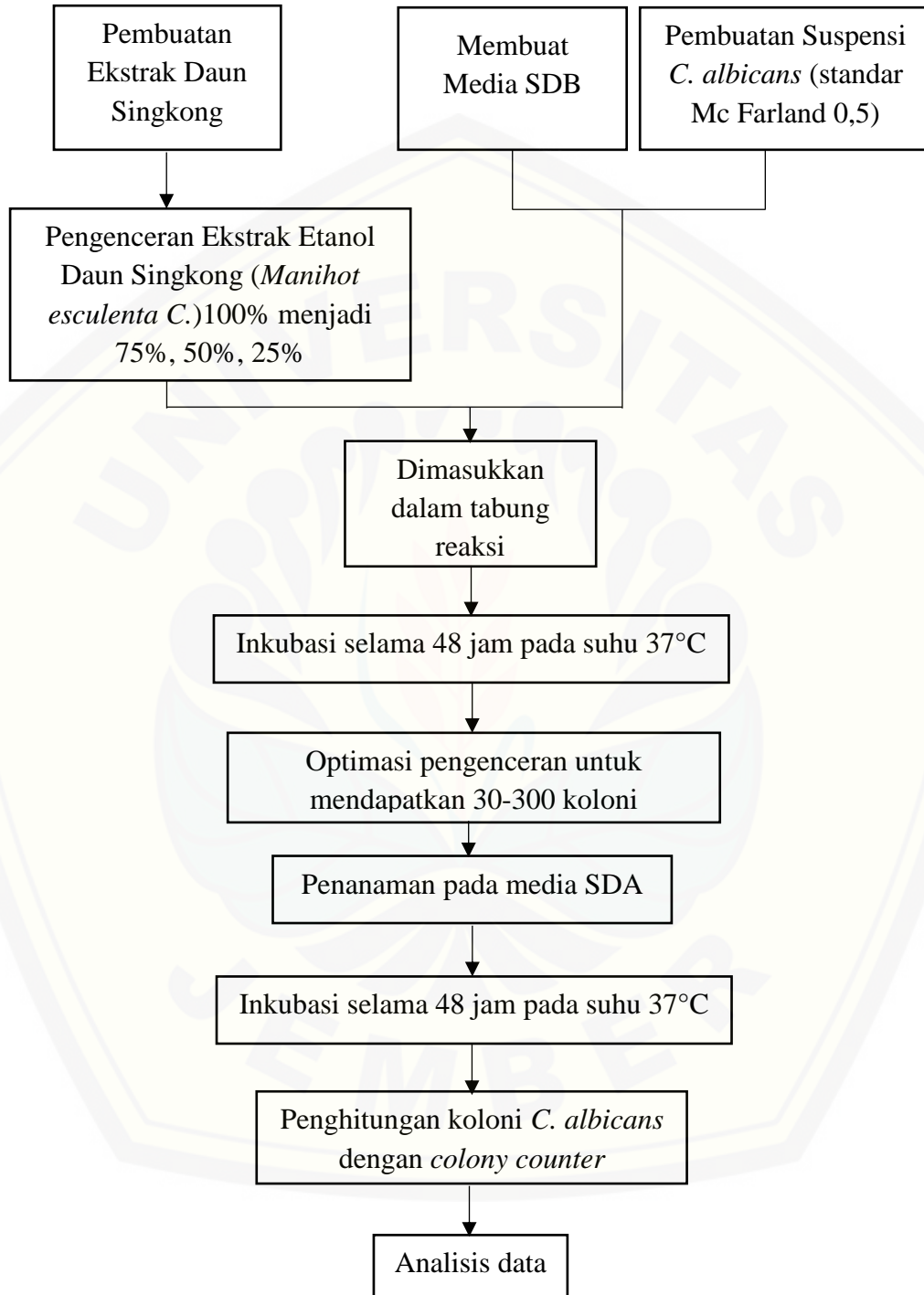
- j. Setelah menghitung jumlah koloni, dilanjutkan dengan mengkonversikan jumlah koloni ke satuan CFU/ml.

Rumus perhitungan jumlah jamur:

$$\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Faktor Pengencer}}$$

(Khanna dan Tarun, 2004).

3.8 Alur Penelitian



Gambar 3.2 Alur penelitian efektivitas ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta C.*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

3.9 Analisis Data

Setelah data terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisa data menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Pada kedua uji tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dan dan tidak homogen, maka dilanjutkan dengan uji nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun singkong (*Manihot esculenta* C.) berpotensi menurunkan jumlah jamur *C. albicans*.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan ekstraksi cara lain untuk membandingkan keefektifannya dalam menurunkan jumlah jamur *C. albicans*.
2. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji potensi ekstrak etanol daun singkong secara *in vivo*.

DAFTAR PUSTAKA

- Abad, M. J., Ansuategui, M. dan Bermejo, P. 2007. Active antifungal substances from natural sources. *Arkivoc*. 2: 116-145.
- Aneja, K. R. 2003. *Experiments in Microbiology Plant Pathology and Biotechnology Fourth Edition*. New Delhi: New Age International.
- Arifianti, L., Rice D. O., dan Idha K. 2014. Pengaruh Jenis Pelarut Pengekstraksi terhadap Kadar Sinensetin dalam Ekstrak Daun *Orthosiphon stamineus* Benth. *E-Journal Planta Husada*. 2(1):1-4.
- ASTM, D5465-93. 1998. *Standard Practice for Determining Microbial Colony Counts from Waters Analyzed by Plating Methods*.
- BPS - Badan Pusat Statistik Indonesia. 2013. Produktivitas dan jumlah produksi singkong pada tahun 2012. <http://www.bps.go.id>. [Diakses pada 11Desember 2017].
- Berazandeh, N. 2008. *Microbiologi Titles*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg Media: Jerman.
- Brescansin, E. G., Portilho M., dan Pessine F. B. T. 2013. Physical and Chemical Analysis of Commercial Nystatin. *Acta Scientiarum Health Sciences*. 35 (2): 215-221.
- Carranza, F. A., Newman, M. G., Takei, H. H., Klokkevold, P. R. 2012. *Carranza's Clinical Periodontology 11th ed*. Saunders Elsevier: China.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*. Jilid I. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

- Ermayanti, A. 2014. Pengaruh Pemberian Profilaksis Nistatin terhadap Kandidiasis Oral pada Neonatus di HCU Neonatus. *Tesis*. Surakarta: Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret.
- Fauzia, I. S. 2017. Uji Kadar Hambat Minimal (KHM) Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Fauziah, G. P. 2014. Perbedaan Potensi Antijamur Ekstrak Etanolik Kulit Manggis (*Garcinia mangostana L.*) Dengan Nistatin Terhadap *Candida albicans* In Vitro. *Skripsi*. Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.
- Fasuyi, A. O. dan Aletor V. A. 2005a. Protein replacement value of Cassava (*Manihot esculenta Crantz*) Leaf Protein Concentrate (CLPC) in Broiler Starter: Effect on Performance, Muscle Growth, Haematology and Serum Metabolites. *International Journal of Poultry Science*. 4 (5): 339-349.
- Fasuyi, A. O. dan Aletor V. A. 2005b. Varietal Composition and Functional Properties of Cassava (*Manihot esculenta Crantz*) Leaf meal Protein Concentrates. *Pakistan Journal of Nutrition*. 4 (1): 43-49.
- Federer, W. T. 1967. *Experimental design, theory and application*. New Delhi: Mac Millan.
- Greenberg, M. S., Glick M., dan Ship J.A. 2008. *Burket's Oral Medicine*. Edisi 11. BC Decker Inc Hamilton: Canada.
- Hakim, L., dan Ramadhian R., 2015. Kandidiasis Oral. *Majority*. 4(8):53-57.
- Hendriques, M. C. R. 2007. *Candida dubliniensis* versus *Candida albicans* adhesion and biofilm formation. *Dissertation*. University of Minho Departement of Biological engirecrly.

- Hutapea, J. R. dan Syamsuhidat S. S. 1992. *Inventaris tanaman Obat Indonesia*. Jilid 1. Jakarta : Departemen Kesehatan RI Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan.
- Juliantary, S. R. 2016. Pengaruh Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) sebagai Pembersih *Smear Layer* Pasca Preparasi Gigi. *Skripsi*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Jember Information Center. 2017. Potensi Daerah: Pertanian. <http://www.jemberjic.com/about/9/32/pertanian.html>. [Diakses pada 18 Oktober 2017].
- Joshi, R. K., Pande C., Mujawar M. H. K., dan Kholkute S.D. 2009. Chemical Composition and Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Anaphalis nubigena var monocephala*. *Natural Product Communications*. 4: 993-996.
- Khanna, D. R., dan Tarun C. 2004. *Microbial Ecology*. New Delhi: Discovery Publishing House. 39.
- Komariah, R. S. 2012. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*. 28(1):39-47.
- Mardiana, L., dan Tim Ketik Buku. 2012. *Daun Ajaib Tumpas Penyakit*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Miladiyah, I., Dayi F., dan Desrini S. 2011. Analgesic Activity of Ethanolic Extract of *Manihot esculenta Crantz* Leaves in Mice. *Universa Medicina*. 30(1): 3-10.
- Minasari. 2011. Daya hambat infusum daun sirih terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yang diisolasi dari denture stomatitis. *Regional Dental Meeting Exhibition*.
- Murti, T. K., dan Poerba, A. P. 2010. *101 Ramuan Tradisional untuk Mengatasi Berbagai Penyakit*. Insani Madani: Yogyakarta.

- Mutia, C., Fitriyaningsih S. P., dan Choesrina R. 2017. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta Crantz*) terhadap Bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* Secara In Vitro. *Posiding Farmasi*. 3(1):1-6.
- Muzyka, B. C. 2005. Oral fungal infections. *Dent Clin N Am*. 49:49-65.
- Nailul, F. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica charantia Linn*). *Skripsi*. Jember: Universitas Jember.
- Ningsih, D. R. N. 2017. Ekstrak Daun Mangga (*Mangifera indica L.*) sebagai Antijamur *Candida albicans* dan Identifikasi Golongan Senyawanya. *Jurnal Kimia Riset*. 2(1): 61-68.
- Nuringati, L. 2002. Uji Sensitifitas Antara Etik Para Metaksi Sinomat dan Nistatin terhadap *Candida albicans* secara In Vitro. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Okeke, C. U., dan Iweala E. 2007. Antioxidant Profile of *Dioscorea rotundata*, *Manihot esculenta*, *Ipoemea batatas*, *Vernonia amygdalina* and *Aloe vera*. *J Med Res Technol*. 4: 4-10.
- Prasetyo, R. A. 2014. Mekanisme (-)-Epigallocatechin-3-Gallate (EGCG) Teh Hijau (*Camellia sinensis*) dalam Menghambat Kandidiasis Oral pada Kondisi Imunikompromais. *Disertasi*. Surabaya: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.
- Pratiwi, A. P. 2016. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Singkong (*Manihot esculenta Crantz*.) terhadap *Shigella sp.* *Jurnal Kesehatan*. 7(1): 161-164.
- Rathod, P., Pungar., Dalal V., dan Rathod D. 2015. Oral Candidiasis- Widely Prevalent, Frequently Missed. *International Journal of Scientific Study*. 3(6): 193-198.

- Rubatzky, V. E., dan Yamaguchi M. 1995. *Sayuran Dunia I: Prinsip, Produksi, dan Gizi*. Edisi II. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Rukmana, R. 2002. *Ubi Kayu, Budi Daya dan Pascapanen*. Cetakan 6. Yogyakarta: Kanisius.
- Saifudin, A. 2011. *Standardisasi Bahan Obat Alam*. Yogyakarta: Graha Ilmu.
- Saigal, S., Bhargava A., dan Mehra S.K.. 2011. Identification of *Candida albicans* by using different culture medias and its association in potentially malignant and malignant lesions. *Contemporary Clinical Dentistry*. 2(3):188-193.
- Samarayanake, L.P. 2002. *Essential Microbiology for Dentistry, Second Edition*. Edinburgh Et Al: Churchill Livingstone. 142-147.
- Sastroamidjojo, S. 2001. *Obat Asli Indonesia*. Jakarta: Dian Rakyat.
- Septiadi, T., Pringgenies D., dan Radjasa O. K. 2013. Uji Fitokimia dan Aktivitas Antijamur Ekstrak Teripang Keling (*Holoturia atra*) dari Pantai Bandengan Jepara terhadap Jamur *Candida albicans*. *Journal of Marine Research*. 2(2):76-84.
- Septianoor, M. H., Carabelly A. N., dan Apriasari M. L. 2013. Uji Efektivitas Antifungi Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (*Musa sp*) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal PDGI*. 62(1): 7-10.
- Setyorini, D., dan N. Probosari. 2012. Efektivitas Mengkonsumsi Jus Stroberi dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri Rongga Mulut. *Stomatognatic-Jurnal Kedokteran Gigi*. 9(3):117-121.
- Siswandono, dan Soekardjo B. 2000. *Kimia Medicinal*. Surabaya: UNAIR Press.
- Sugianitri, N.K., 2011, Ekstrak Biji Buah Pinang (*Areca catechu L.*) Dapat Menghambat Pertumbuhan Koloni *Candida albicans* secara in vitro pada

Resin Akrilik Heat Cured. *Disertasi*. Denpasar: Program Pasca Sarjana Universitas Udayana

Sulistyaningrum, M. 2014. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) Terhadap Bakteri *Klebsiella pneumonia*. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Sumono, A., dan Dharmayanti W. S. A. 2009. Kemampuan Air Rebusan Daun Salam (*Eugenia polyantha* W) dalam Menurunkan Jumlah Koloni Bakteri *Streptococcus* sp. *Majalah Farmasi Indonesia* 20 (3): 112-117.

Suryo, J. 2010. *Herbal Penyembuh Wasir dan Kanker Prostat*. Yogyakarta: B First.

Soraya, R. K. 2015. Identifikasi Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura* L.) sebagai Antifungi *Candida albicans*. *Skripsi*. Purwokerto: Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Jendral Soedirman.

Tjampakasari, C. R. 2006. Karakteristik *Candida albicans*. *Cermin Dunia Kedokteran*. (151):33-36.

Utomo, O. S. 2015. Pengaruh Ekstrak Serai Wangi (*Cymbopogon nardus* L. *rendle*.) sebagai Antifungi terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* in vitro. *Skripsi*. Surakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret Surakarta.

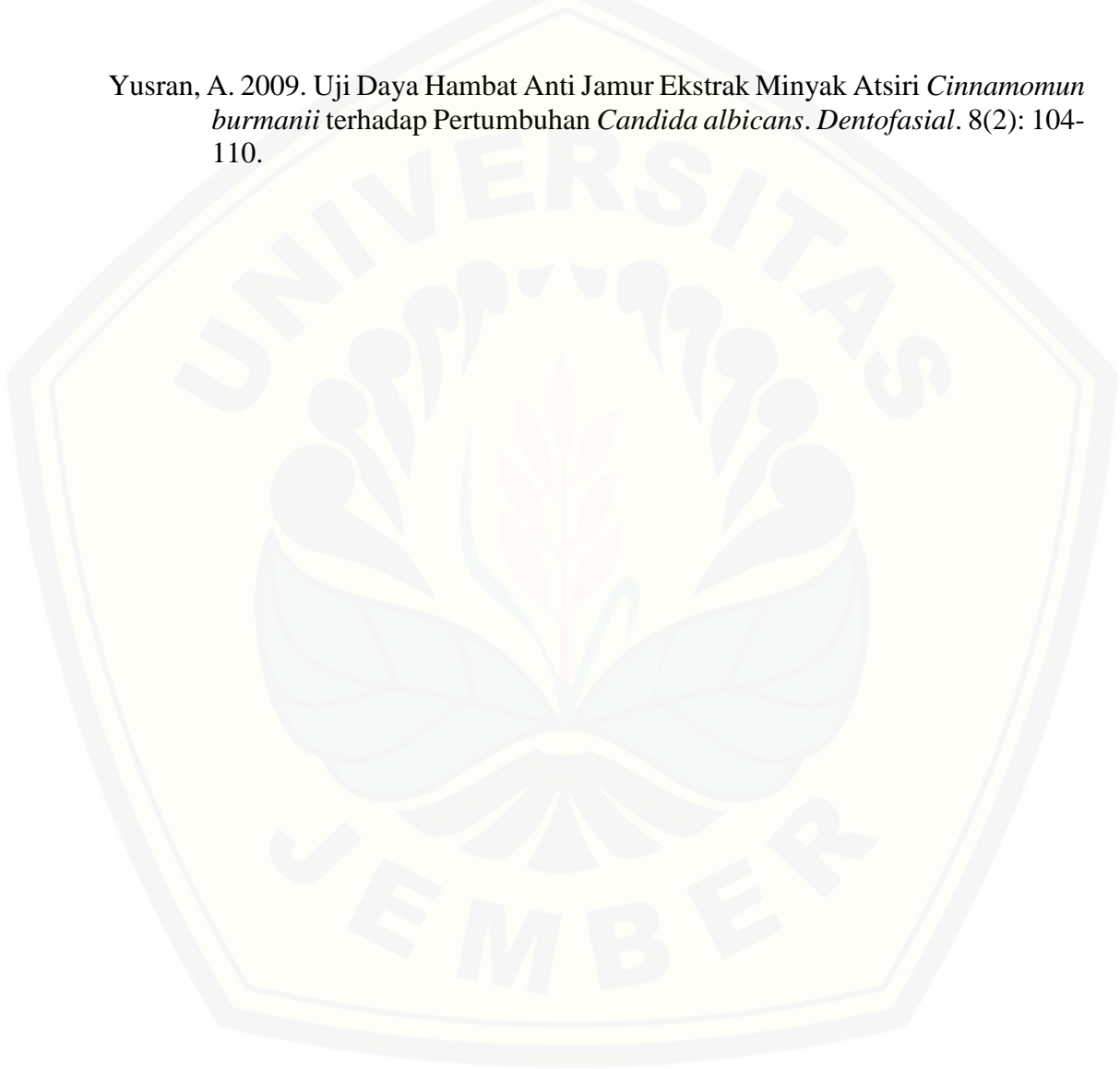
Warditiani, N. K., Larasanty, L. P. F., dan Damanik, I. 2015. Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol 70% Daun Singkong (*Manihot utilissima* Pohl) terhadap Kadar Gula Darah Mencit Jantan Galur Balb/C yang Diinduksi Aloksan. *Skripsi*. Bali: Universitas Udayana.

Wijayanti, I. Y. 2012. Pengaruh Berbagai Konsentrasi Ekstrak Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*, L.) sebagai Bahan Pembersih Gigi Tiruan Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* pada Resin Akrilik Heat Cured dengan Lama Perendaman 45 Menit. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Wobeto C, Correa A. D., Abreu C. M. P., Santos C. D., dan Abreu J. R. 2006. Nutrients in the cassava (*Manihot esculenta* Crantz) leaf meal at three ages of the plant. *Cienc. Tecnol. Aliment. Campinas*. 26 (4): 865-869.

Yousef, A. E., dan Carlstrom C. 2003. *Food Microbiology: A Laboratory Manual*. New Jersey: John Wiley & Sons Inc.

Yusran, A. 2009. Uji Daya Hambat Anti Jamur Ekstrak Minyak Atsiri *Cinnamomum burmannii* terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Dentofasial*. 8(2): 104-110.



LAMPIRAN

A. Surat Keterangan Identifikasi Jamur *Candida albicans*

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

SURAT KETERANGAN

No. 0128/ MIKRO/ S.KET/2017

Sehubungan dengan keperluan identifikasi mikroorganisme, maka kami menerangkan bahwa mahasiswa berikut :

Nama : Karunia Nur Annisa Dewi
NIM : 141610101039
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Penelitian Skripsi


Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Candida albicans* dengan menggunakan uji Germ Tube dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil presumtif *Candida albicans*.

Jember, 8 November 2017


Mengetahui,

Kepala Bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi



Drg. Amandia Dewi Permana S, M. Biomed
NIP. 198006032006042002



drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes
NIP. 197608092005012002

B. Surat Keterangan Identifikasi Daun Singkong



**LEMBAGA ILMU PENGETAHUAN INDONESIA
(INDONESIAN INSTITUTE OF SCIENCES)
BALAI KONSERVASI TUMBUHAN
KEBUN RAYA PURWODADI**
Jl. Raya Surabaya - Malang Km. 65 Purwodadi - Pasuruan 67163
Telp. (+62 343) 615033, Faks. (+62 341) 426046
website : <http://www.krpurwodadi.lipl.go.id>



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: 1488 /IPH.06/HM/X/2017

Kepala Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi LIPI dengan ini menerangkan bahwa material tumbuhan yang dibawa oleh:

Nama : Karunia Nur Annisa Dewi
NIM : 141610101039
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
Tanggal material diterima : 26 Oktober 2017

Telah diidentifikasi/determinasi berdasarkan koleksi herbarium dan koleksi kebun serta referensi ilmiah, dengan hasil sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Euphorbiales
Family : Euphorbiaceae
Genus : Manihot
Species : *Manihot esculenta* Crantz

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1963. Flora of Java Vol.I. NVP No ordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 496
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XIV
3. Flach M and F. Rumawas, tahun 1996 PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 9; Yielding non-seed carbohydrates, Hal.107

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 3 Nopember 2017

An. Kepala

Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Rachmawan Adi Laksono, S.Kom

C. Surat Hasil Analisa Ekstrak Etanol Daun Singkong



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS FARMASI
Jl. Kalimantan 1/2 Kampus Tegal Boto. Telp./ Fax. (0331) 324736 Jember 68121.

SURAT KETERANGAN PEMBUATAN EKSTRAK

Data pemohon :

Nama : Karunia Nur Annisa Dewi
NIM : 141610101039
Fakultas : Kedokteran Gigi Universitas Jember

Bahan : Daun singkong (*Manihot esculenta C.*)

Pelarut Pengekstraksi : Etanol 95%

Metode ekstraksi : Maserasi

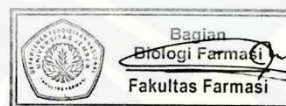
Prosedur : Serbuk simplisia daun singkong sebanyak 150 gram dimaserasi dengan etanol 95% sebanyak 7,5 kali berat serbuk selama 3 hari. Maserat dipekatkan dengan rotary evaporator.

Hasil : Ekstrak etanol daun singkong dengan rendemen 11,07% (b/b)

Tanggal pembuatan : 13 Oktober 2017

Jember, 19 Oktober 2017

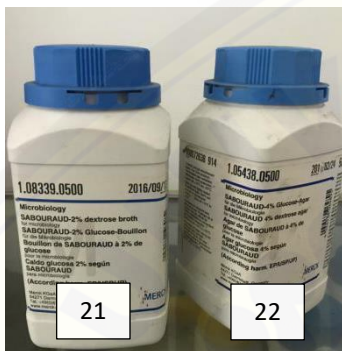
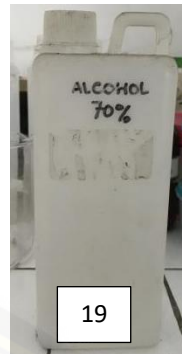
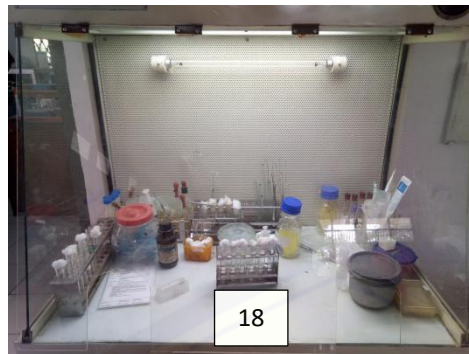
Ketua Bagian Biologi Farmasi,



Indah Yulia Ningsih, S.Farm., M.Sc., Apt.
NIP. 198407122008122002

D. Alat dan Bahan Penelitian





- | | |
|-----------------------|----------------------------------|
| 1. Batang L | 13. Rotary evaporator |
| 2. Disposable syringe | 14. Handscoon |
| 3. Petridish | 15. Masker |
| 4. Ose | 16. Label |
| 5. Pinset | 17. Alumunium foil |
| 6. Tabung Reaksi | 18. Laminar Flow |
| 7. Thermolyne | 19. Alkohol 70% |
| 8. Spektofotometer | 20. Aquadest steril |
| 9. Bunsen | 21. Sabouraud Dextrose Broth |
| 10. Colony counter | 22. Sabouraud Dextrose Agar |
| 11. Inkubator | 23. Nistatin |
| 12. Autoclave | 24. Ekstrak Etanol Daun Singkong |

E. Penghitungan Pengenceran Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta C.*)

$$M1 \times V1 = M2 \times V2$$

Keterangan:

V1 : Volume awal ekstrak etanol daun singkong

M1 : Konsentrasi awal ekstrak etanol daun singkong

V2 : Volume akhir ekstrak etanol daun singkong

M2 : Konsentrasi akhir ekstrak etanol daun singkong

Cara pengencerannya yaitu:

1. Untuk memperoleh ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 75% sebanyak 2 ml:

$$100\% \times V1 = 75\% \times 2 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{75\% \times 2 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 1,5 \text{ ml}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V2 - V1 = 2 \text{ ml} - 1,5 \text{ ml}$$

$$= 0,5 \text{ ml aquadest}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 75% diperoleh dengan cara menambahkan larutan aquadest sebanyak 0,5 ml ke dalam 1,5 ml ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100%.

2. Untuk memperoleh ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 50% sebanyak 2 ml:

$$100\% \times V1 = 50\% \times 2 \text{ ml}$$

$$V1 = \frac{50\% \times 2 \text{ ml}}{100\%}$$

$$V1 = 1 \text{ ml}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$\begin{aligned}V_2 - V_1 &= 2 \text{ ml} - 1 \text{ ml} \\ &= 1 \text{ ml aquadest}\end{aligned}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 50% diperoleh dengan cara menambahkan larutan aquadest sebanyak 1 ml ke dalam 1 ml ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100%.

3. Untuk memperoleh ekstrak etanol daun singkong dengan konsentrasi 25% sebanyak 2 ml:

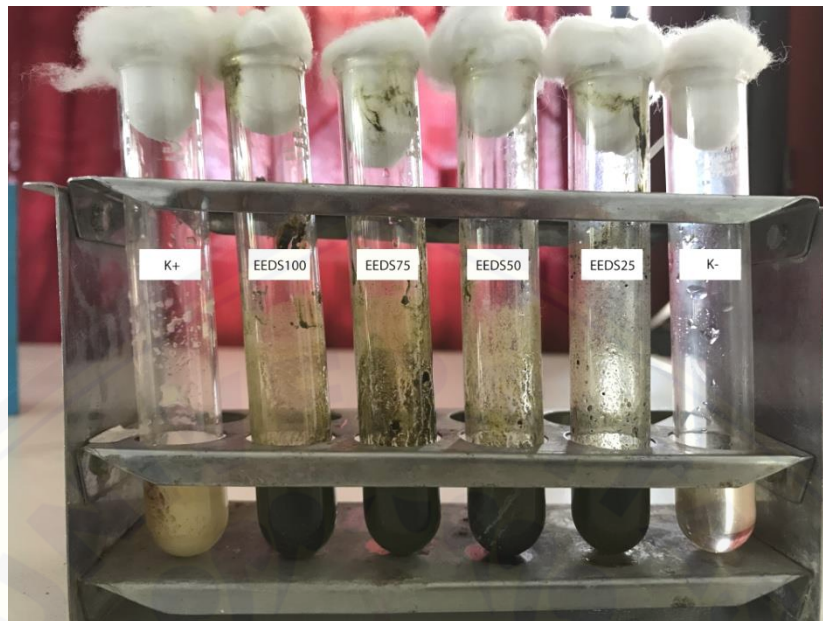
$$\begin{aligned}100\% \times V_1 &= 25\% \times 2 \text{ ml} \\ V_1 &= \frac{25\% \times 2 \text{ ml}}{100\%} \\ V_1 &= 0,5 \text{ ml}\end{aligned}$$

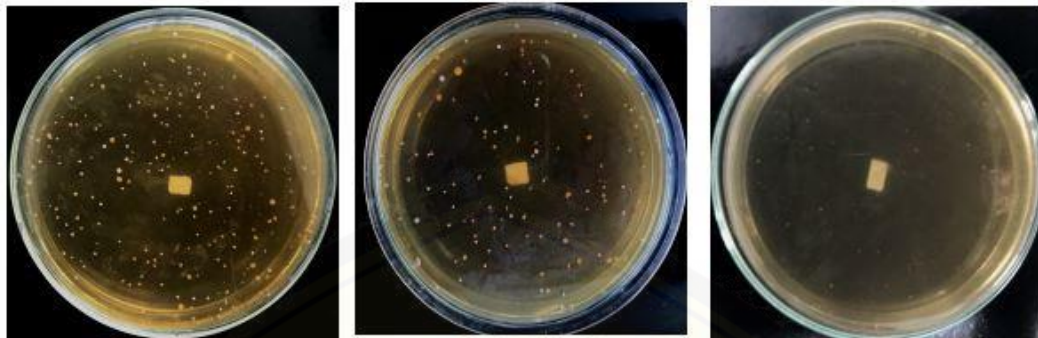
Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$\begin{aligned}V_2 - V_1 &= 2 \text{ ml} - 0,5 \text{ ml} \\ &= 1,5 \text{ ml aquadest}\end{aligned}$$

Maka, untuk mendapatkan ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 25% diperoleh dengan cara menambahkan larutan aquadest sebanyak 1,5 ml ke dalam 0,5 ml ekstrak etanol daun singkong konsentrasi 100%.

F. Suspensi Media Kultur Setelah 48 Jam Inkubasi

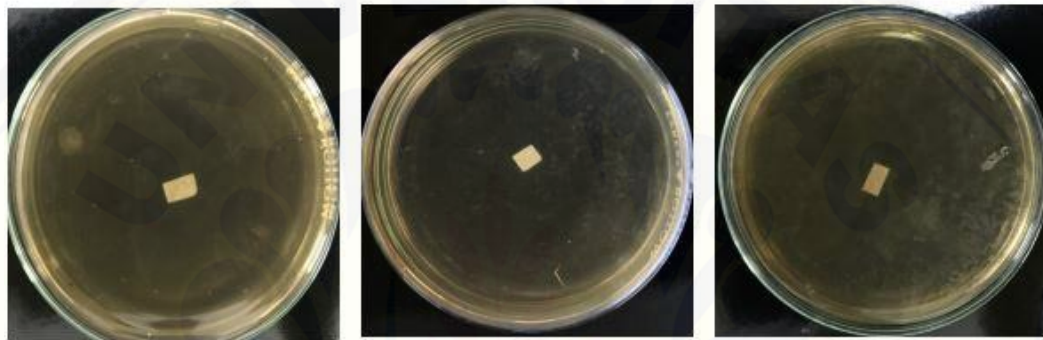


G. Koloni yang Tumbuh Pada Media *Sabourad Dextrose Agar*

K-

EEDS25

EEDS50



EEDS 75

EEDS100

K+

H. Hasil Penghitungan Jamur *C. albicans* (CFU/ml) dari Ekstrak Etanol Daun Singkong (*Manihot esculenta* C.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Konsentrasi Plate CFU/ml	100	75%	50	25	K+	K-
1	2×10^3	7×10^3	$2,9 \times 10^4$	$5,1 \times 10^4$	0	$8,1 \times 10^5$
2	2×10^3	4×10^3	$2,5 \times 10^4$	$4,4 \times 10^4$	0	$7,9 \times 10^5$
3	3×10^3	1×10^3	$2,7 \times 10^4$	$4,7 \times 10^4$	0	$8,3 \times 10^5$
4	5×10^3	6×10^3	3×10^5	$5,2 \times 10^4$	0	8×10^5
Rata-rata	3×10^3	$4,5 \times 10^3$	$2,775 \times 10^4$	$4,825 \times 10^4$	0	$8,075 \times 10^5$

I. Penghitungan Jumlah Jamur (CFU/ml)

Rumus perhitungan jumlah jamur:

$$\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} = \frac{\text{Jumlah Koloni}}{\text{Faktor Pengencer}}$$

(Khanna dan Tarun, 2004).

1. EEDS 100

$$\begin{aligned}\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} &= \frac{3}{10^{-3}} \\ &= 3 \times 10^3 \text{ CFU/ml}\end{aligned}$$

2. EEDS 75

$$\begin{aligned}\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} &= \frac{4,5}{10^{-3}} \\ &= 4,5 \times 10^3 \text{ CFU/ml}\end{aligned}$$

3. EEDS 50

$$\begin{aligned}\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} &= \frac{27,75}{10^{-3}} \\ &= 27,75 \times 10^3 \\ &= 2,775 \times 10^4 \text{ CFU/ml}\end{aligned}$$

4. EEDS 25

$$\begin{aligned}\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} &= \frac{48,25}{10^{-3}} \\ &= 48,25 \times 10^3 \\ &= 4,825 \times 10^4 \text{ CFU/ml}\end{aligned}$$

5. K-

$$\begin{aligned}\text{Jumlah jamur (CFU/ml)} &= \frac{80,75}{10^{-4}} \\ &= 80,75 \times 10^4 \\ &= 80,75 \times 10^5 \text{ CFU/ml}\end{aligned}$$

J. Hasil Uji Statistik

1. Hasil Uji Normalitas Data (*Shapiro-Wilk*)

Kelompok	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Jumlah Jamur EEDS100	,260	4	.	,827	4	,161
EEDS75	,215	4	.	,946	4	,689
EEDS50	,214	4	.	,963	4	,798
EEDS25	,251	4	.	,927	4	,574
KN	,192	4	.	,971	4	,850

a. Lilliefors Significance Correction

b. JumlahJamur is constant when Kelompok = 5. It has been omitted.

2. Hasil Uji Homogenitas Data (*Levene Test*)

Test of Homogeneity of Variances

Jumlah Jamur

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5,715	5	18	,003

3. Hasil Uji Beda (Kruskall-Wallis Test)

	Kelompok	N	Mean Rank
Jumlah Jamur	EEDS100	4	7,75
	EEDS75	4	9,25
	EEDS50	4	14,50
	EEDS25	4	18,50
	KP	4	2,50
	KN	4	22,50
	Total		24

	Jumlah Jamur
Chi-Square	21,955
df	5
Asymp. Sig.	,001

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kelompok

4. Hasil Uji Beda Antar Kelompok Perlakuan (*Mann-Whitney Test*)

1) EEDS100-EEDS75

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS100	4	3,75	15,00
	EEDS75	4	5,25	21,00
	Total	8		

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	5,000
Wilcoxon W	15,000
Z	-,871
Asymp. Sig. (2-tailed)	,384
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,486 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

2) EEDS100-EEDS50

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS100	4	2,50	10,00
	EEDS50	4	6,50	26,00
	Total	8		

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

3) EEDS100-EEDS25

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS100	4	2,50	10,00
	EEDS25	4	6,50	26,00
Total		8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

4.) EEDS100-KP

Ranks

Kelompok		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS100	4	6,50	26,00
	KP	4	2,50	10,00
Total		8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,477
Asymp. Sig. (2-tailed)	,013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

5.) EEDS100-KN

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS100	4	2,50	10,00
	KN	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,323
Asymp. Sig. (2-tailed)	,020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

6.) EEDS75-EEDS50

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS75	4	2,50	10,00
	EEDS50	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

7.) EEDS75-EEDS25

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS75	4	2,50	10,00
	EEDS25	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

8.) EEDS75-KP

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS75	4	6,50	26,00
	KP	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

9.) EEDS75-KN

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS75	4	2,50	10,00
	KN	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

10.) EEDS50-EEDS25

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS50	4	2,50	10,00
	EEDS25	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

11.) EEDS50-KP

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS50	4	6,50	26,00
	KP	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

12.) EEDS50-KN

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS50	4	2,50	10,00
	KN	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

13.) EEDS25-KP

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS25	4	6,50	26,00
	KP	4	2,50	10,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

14.) EEDS25-KN

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	EEDS25	4	2,50	10,00
	KN	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,309
Asymp. Sig. (2-tailed)	,021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

a. Grouping Variable: Kelompok

b. Not corrected for ties.

15.) KP-KN

Ranks

	Kelompok	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Jumlah Jamur	KP	4	2,50	10,00
	KN	4	6,50	26,00
	Total	8		

Test Statistics^a

	Jumlah Jamur
Mann-Whitney U	,000
Wilcoxon W	10,000
Z	-2,460
Asymp. Sig. (2-tailed)	,014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	,029 ^b

- a. Grouping Variable: Kelompok
b. Not corrected for ties.