



**PENGARUH ALKALOID YANG TERKANDUNG DALAM
KULIT BUAH DELIMA PUTIH (*Granati fructus cortex*)
TERHADAP *Candida albicans***

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

Dilajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran Gigi
Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Asal : *Ria Femilianna* Nama : *16 NOV 2005*
Fakultas Kedokteran Gigi Pembelian
No Induk : Pengkatalog : *QM*

Klass
615.882
FEM
P

Oleh :

Ria Femilianna
NIM. 011610101035

Pembimbing :

1. drg. Sukanto, M.Kes (DPU)
2. drg. Amiyatun Naini, M.Kes (DPA)

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

**PENGARUH ALKALOID YANG TERKANDUNG DALAM
KULIT BUAH DELIMA PUTIH (*Granati fructus cortex*)
TERHADAP *Candida albicans***

**KARYA TULIS ILMIAH
(SKRIPSI)**

**Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Memperoleh Gelar
Sarjana Kedokteran Gigi Pada Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember**

Oleh :

**RIA FEMILIANA
NIM : 011610101035**

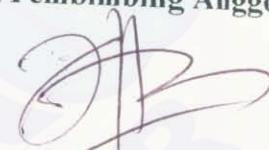
Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama



**drg. Sukanto, M.Kes
NIP 132 148 543**

Dosen Pembimbing Anggota



**drg. Amiyatun Naini, M. Kes
NIP 132 232 443**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2005**

Digital Repository Universitas Jember

Diterima Oleh :

Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Sebagai Karya Tulis Ilmiah (SKRIPSI)

Dipertahankan Pada

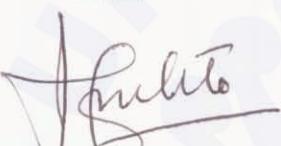
Hari : Senin

Tanggal : 29 Agustus 2005

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi
Universitas Jember

Tim Penguji

Ketua



drg. Sukanto, M.Kes
NIP. 132 148 543

Sekretaris



drg. Depi Praharani, M.Kes
NIP. 132 162 518

Anggota



drg. Amiyatun Naini, M.Kes
NIP. 132 232 443

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi



MOTTO

“Allah akan meninggikan orang-orang yang beriman dan orang-orang yang diberi ilmu pengetahuan beberapa derajat.”

(QS. Al Mujadillah : 11)

“Dan janganlah kamu mengikuti apa yang kamu tidak mempunyai pengetahuan tentangnya. Sesungguhnya pendengaran, penglihatan dan hati, semuanya itu akan diminta pertanggungjawaban.”

(QS. Al Israa : 36)

“Hai orang-orang yang beriman jadikanlah sabar dan sholat sebagai penolongmu, sesungguhnya Allah beserta orang-orang yang sabar.”

(QS. Al Baqarah : 153)

PERSEMBAHAN

Karya Tulis Ilmiah ini kupersembahkan kepada:

1. Allah SWT, Sang Khalik, hidup matiku dalam kuasa-Mu
2. Hj. Soetiani, BA. Bunda yang selalu hadir bagai mentari, kasih,doa, dan peluh keringatmu selalu mengalir dalam bahagiaku. Pengabdianku takkan pernah cukup membalas semua pengorbananmu
3. Alm H. Sukron Rasijo, Bapak ini hanyalah awal dari semua impian dan doa terakhirmu. Semoga nanda mampu menjadi anak soleha yang membawamu menuju Jannah-Nya
4. Suamiku Defi Ismet, InsyaAllah imam dan qawwam bagiku menuju Jannah-Nya
5. Aris SW, ST, Lesi W, Amd, dan Adri Pertiwi, ST kakak-kakakku, kalian selalu ada di setiap langkahku
6. Tri Noer, SH, Achmad S, SE, dan Dedi, ST kakak-kakak iparku yang selalu menyayangiku
7. Mak Utu yang tersayang
8. Naufal, Fahri dan Rama, para keponakanku yang selalu membawa inspirasi bagi hidupku
9. JIFRAZ (Ria, Ela, Ima, Feni, Weni, Siska, Jaja) dimana kalian berada selalu membawa keceriaan bagiku
10. Teman-teman FKG angkatan 2001
11. Almamater Universitas Jember, tempatku menimba ilmu.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadirat Allah SWT atas segala limpahan karunia, rahmat, taufik dan hidayah-Nya sehingga penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini yang berjudul **“PENGARUH ALKALOID YANG TERKANDUNG DALAM KULIT BUAH DELIMA PUTIH (*Granati fructus cortex*) TERHADAP *Candida albicans*”** dapat terselesaikan dengan baik. Karya Tulis Ilmiah ini merupakan hasil eksperimen laboratoris di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini diselesaikan guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program pendidikan Sarjana Kedokteran Gigi di FKG Universitas Jember. Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih kepada:

1. drg. Zahreni Hamzah, MS. Sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
2. drg. Sukanto, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama (DPU) yang telah banyak memberikan arahan dan petunjuk serta bimbingannya sehingga terselesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
3. drg. Amiyatun Naini, M. Kes selaku Dosen Pembimbing Anggota (DPA) yang telah banyak memberikan bimbingan, arahan, dan petunjuk dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
4. drg. Depi Praharani, M.Kes selaku sekretaris ujian skripsi yang juga telah banyak memberikan arahan dan petunjuk serta bimbingannya sehingga terselesaikan penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini
5. Staf karyawan Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember yang banyak memberikan bantuan selama proses penelitian berlangsung
6. Staf Karyawan Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA-Kimia Universitas Jember yang selalu sabar mendampingi
7. Teman-temanku angkatan 2001 yang telah memberikan banyak hikmah bagiku, aku ucapkan *Jazakumullahu khairan katsira*

8. Semua pihak yang telah membantu terselesaikannya Karya Tulis Ilmiah ini.

Pada kesempatan ini pula penulis menyadari “Tiada gading yang tak retak”. Oleh karena itu kritik dan saran penulis harapkan demi sempurnanya penulisan karya ilmiah selanjutnya.

Akhir kata, semoga Karya Tulis Ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Jember, September 2005

Penulis

DAFTAR ISI

	HALAMAN
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGAJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
RINGKASAN	xiv
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang Masalah	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Delima Putih (<i>Punica granatum L.</i>)	

2.1.1	Taksonomi Tanaman Delima Putih.....	4
2.1.2	Nama Daerah	4
2.1.3	Morfologi Tanaman Delima Putih.....	4
2.1.3.1	Morfologi Kulit Buah Delima Putih.....	6
2.1.4	Sifat Kimia, Efek Farmakologis dan Manfaat Kulit Buah Delima Putih	7
2.2	Alkaloid	
2.2.1	Struktur Kimia Alkaloid	8
2.2.2	Manfaat Alkaloid	9
2.3	<i>Candida albicans</i>	
2.3.1	Morfologi dan Identifikasi <i>Candida albicans</i>	10
2.3.2	Patogenesis <i>Candida albicans</i>	10
2.3.3	Media Biakan <i>Candida albicans</i>	11
2.4	Hipotesis Penelitian.....	12
III. METODE PENELITIAN		
3.1	Jenis penelitian	13
3.2	Tempat dan Waktu Penelitian	13
3.3	Definisi Operasional	13
3.4	Identifikasi Variabel	
3.4.1	Variabel Bebas	13
3.4.2	Variabel Terikat	13
3.4.3	Variabel Kendali	14
3.5	Sampel Penelitian	

Digital Repository Universitas Jember

3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian.....	14
3.5.2 Besar Sampel Penelitian	14
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	
3.6.1 Alat Penelitian	14
3.6.2 Bahan Penelitian	15
3.7 Prosedur Penelitian	
3.7.1 Tahap Persiapan.....	16
3.7.2 Tahap Perlakuan	17
3.7.3 Tahap Pengamatan.....	18
3.8 Analisis Data	18
3.9 Kerangka Penelitian	19
 IV. HASIL DAN ANALISIS DATA	
4.1 Hasil Penelitian	20
4.2 Analisis Data Hasil Penelitian.....	21
 V. PEMBAHASAN	25
 VI. KESIMPULAN DAN SARAN	
6.1 Kesimpulan	29
6.2 Saran.....	29
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN-LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

NOMOR	HALAMAN
1. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i> pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 255, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif.....	20
2. Hasil Uji Normalitas pada Penghitungan Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i> pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 255, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif.....	21
3. Hasil Uji Homogenitas Penghitungan Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i> pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 255, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif.....	22
4. Hasil Uji Kruskal Wallis Penghitungan Jumlah Koloni <i>C. albicans</i> pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 255, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif.....	22
5. Hasil Uji Mann Whitney Penghitungan Jumlah Koloni <i>Candida albicans</i> pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 255, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif.....	23

DAFTAR GAMBAR

NOMOR		HALAMAN
1	Tanaman Delima Putih (<i>Punica granatum L.</i>)	5
2	Buah Delima Putih (<i>Punica granatum L.</i>)	6
3	Jenis Pelletierine yang Terkandung dalam <i>Granati fructus cortex</i>	8
4	Morfologi <i>Candida albicans</i>	10
5	Hasil Penelitian Alkaloid Konsentrasi 100%, 50%, dan Kontrol Negatif	48
6	Hasil Penelitian Alkaloid Konsentrasi 25%, 12,5%, dan 6,25%.....	48
7	Hasil Penelitian Alkaloid Konsentrasi 3,13%, 1,56% dan Kontrol Positif	48

DAFTAR LAMPIRAN

NOMOR	HALAMAN
1 Analisis Hasil dengan Uji Kruskal Wallis	33
2 Analisis Hasil dengan Uji Mann Whitney	34
3 Langkah Kerja Isolasi Alkaloid	43
4 Metode Pengenceran Seri.....	45
5 Penghitungan Besar Sampel Penelitian	47
6 Gambar Hasil Penelitian	48

RINGKASAN

Ria Femiliana, NIM. 011610101035, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, Pengaruh Alkaloid yang Terkandung dalam Kulit Buah Delima Putih (*Granati fructus cortex*) terhadap *Candida albicans* di bawah bimbingan drg. Sukanto, M. Kes (DPU) dan drg. Amiyatun Naini, M.Kes (DPA).

Sebagian besar penyakit karena infeksi jamur disebabkan oleh *Candida albicans*. Jamur ini bersifat komensal yang dapat berubah menjadi potensial patogen. Saat ini pemanfaatan tanaman obat dari bahan alam secara empiris cenderung meningkat tetapi belum ditunjang dengan penelitian secara ilmiah. Alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih sudah sering digunakan sebagai bahan dasar obat-obatan, hal inilah yang mendorong peneliti untuk melakukan penelitian tentang pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) terhadap *C.albicans*.

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih terhadap *C.albicans*, dan konsentrasi minimum alkaloid yang mampu membunuh *C. albicans*. Sedangkan manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah memberikan informasi tentang pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) terhadap *C.albicans* serta konsentrasi minimum alkaloid dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) yang mampu membunuh *C.albicans*.

Penelitian dilakukan secara eksperimental laboratoris dengan metode *the post test control group design*. Penelitian ini menggunakan 36 sampel dengan 9 kelompok perlakuan yang terdiri dari alkaloid konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% serta kontrol positif dan negatif, dimana setiap kelompok perlakuan jumlah sampelnya 4. *C.albicans* ditanam pada media cair *Sabouraud's broth* untuk diamati kekeruhan atau endapannya. Selanjutnya ditanam pada media padat untuk dihitung jumlah koloni *C.albicans* yang terbentuk. Hasil penghitungan jumlah koloni *C.albicans* dianalisis dengan uji *Kruskal Wallis* untuk menghitung rangking variabel yang dilanjutkan uji *Mann Whitney* untuk mengetahui perbedaan kemaknaan antara 2 variabel.

Hasil uji *Kruskal Wallis* terdapat perbedaan signifikan pada tiap-tiap perlakuan dengan nilai probabilitas 0,000 ($p<0,05$) yang berarti alkaloid mampu mempengaruhi *C.albicans*. Hasil uji *Mann Whitney* menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kelompok perlakuan kecuali antara alkaloid konsentrasi 100%, 50% dan kontrol negatif tidak ada perbedaan yang signifikan.

Kesimpulan yang diperoleh pada penelitian ini yaitu alkaloid dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) konsentrasi 100% dan 50% mempunyai kemampuan membunuh *C.albicans*. Alkaloid konsentrasi 50% juga merupakan konsentrasi minimum yang dapat membunuh *C.albicans*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi suatu bahan informasi bagi masyarakat tentang pemanfaatan alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih sebagai bahan antifungi.

I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Rongga mulut manusia dihuni oleh berbagai macam mikroorganisme dengan aktivitas, lokasi dan penyebarannya yang berbeda-beda. Mikroorganisme tertentu dapat menyebabkan keadaan patologis baik pada jaringan keras maupun jaringan lunak. Kira-kira 40% dari populasi mikroorganisme di rongga mulut merupakan spesies *candida* sebagai bagian yang normal dari mikroflora (Lewis dan Lamey, 1993).

Sekitar 85% penyakit oleh karenanya infeksi jamur disebabkan oleh *Candida sp* dan sebagian besar disebabkan oleh spesies *Candida albicans*. Jamur ini merupakan flora normal selaput mukosa saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita (Jennie, 2000). Menurut Soenartyo dalam Sukanto dkk (2002) *C.albicans* akan meningkat populasinya dalam rongga mulut apabila lingkungan menguntungkannya. Sifat komensal dapat berubah menjadi potensial patogen dengan adanya pengaruh gabungan tiga faktor, yaitu kebersihan mulut jelek, hipoproteinemia dan meningkatnya γ globulin.

C.albicans dapat menimbulkan suatu keadaan yang disebut kandidiasis, yaitu penyakit pada selaput lendir mulut, vagina, dan saluran pencernaan (Volk dan Wheeler, 1993). Jamur ini dianggap spesies yang paling patogen yang biasanya terjadi pada anak kurang gizi dan pada dewasa yang telah menderita sakit yang melemahkan sehingga peningkatan aktivitas *C.albicans* harus dihambat pertumbuhannya (Hare, 1993).

Pemanfaatan tanaman obat dari bahan alam pada umumnya bukan merupakan hal baru, tetapi sudah dicoba sejak dahulu untuk memenuhi keperluan obat dalam rangka mengatasi masalah kesehatan yang dihadapi, dan pengalaman diwariskan secara turun temurun (Sutrisno dalam Sukanto, 2003). Pemakaian tanaman obat dalam dekade terakhir ini juga cenderung meningkat sejalan dengan berkembangnya industri jamu atau obat tradisional, farmasi, kosmetik, makanan, dan minuman (Syukur dan Hernani, 2002). Hal ini sesuai dengan program

pemerintah yang sedang giat-giatnya melakukan upaya menggalakkan pemanfaatan obat asli Indonesia, bahkan secara selektif ramuan tanaman obat tertentu diharapkan dapat masuk ke dalam jaringan pelayanan pengobatan formal. Upaya itu dilakukan dengan melibatkan berbagai lembaga penelitian guna menghimpun data-data ilmiah yang diperlukan agar tanaman obat itu dapat diterima oleh kalangan yang lebih luas, terutama masyarakat kedokteran (Mursito, 2000).

Obat tradisional adalah bahan atau ramuan bahan yang berasal dari tumbuh-tumbuhan, hewan, mineral, sediaan sarian (galenik) atau campuran dari bahan tersebut yang secara turun-temurun telah digunakan untuk pengobatan (Direktorat Jenderal Pengawasan Obat & Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, 2000). Menurut Sudarman, Metzger dan Depkes RI dalam Sundari dkk (1999) setiap bagian tanaman delima putih mempunyai khasiat tertentu, misalnya buahnya untuk disentri, diare (mencret), radang amandel, cacingan, dan sebagai astrigen ; kulit akar untuk obat cacing pita, cacing pita, cacing tambang, sedangkan kulit buahnya untuk keputihan, disentri, diare yang disebabkan oleh mikroorganisme salah satunya yaitu *C.albicans*.

Tumbuh-tumbuhan dikenal mengandung senyawa organik, salah satu senyawa organik yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan sering dipergunakan sebagai bahan dasar obat-obatan adalah alkaloid. Sekitar 29 spesies tumbuhan ditemukan mengandung alkaloid yang kemudian dievaluasi aktivitas antimikrobanya seperti pada *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* serta *C.albicans* dan *Aspergillus flavus* (www.kerinci.org, 1999). Menurut Robinson dalam Sukanto dkk (2002) kulit buah delima putih mengandung flavanoid dan alkaloid yang berfungsi sebagai antimikroba. Diperkuat dengan pernyataan Vimalasari dalam Sukanto dkk (2002) bahwa dari beberapa penelitian menunjukkan infusa kulit buah delima putih mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C.albicans*.

Mengingat sedikitnya pengetahuan tentang peranan alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih, maka perlu diteliti lebih lanjut fungsi alkaloid sebagai antimikroba untuk kesehatan gigi dan mulut khususnya untuk

mengetahui pengaruh alkaloid terhadap jamur rongga mulut sebagai penyebab utama kandidiasis, yaitu *C.albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut .

- a. Apakah pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ?
- b. Berapa konsentrasi minimum alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) yang mampu membunuh *C.albicans* ?

1.3 Tujuan Penelitian

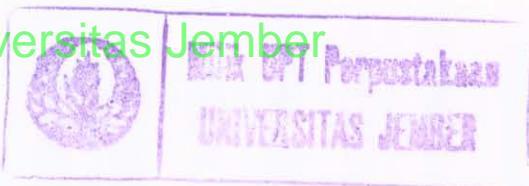
Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut .

- a. Untuk mengetahui pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.
- b. Untuk mengetahui konsentrasi minimum alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) yang mampu membunuh *C.albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut .

- a. Memberikan informasi tentang pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.
- b. Memberikan informasi tentang konsentrasi minimum alkaloid dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) yang mampu membunuh *C.albicans*.
- c. Sebagai dasar penelitian selanjutnya.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Delima putih merupakan tanaman yang berasal dari Iran dan salah satu jenis tanaman buah-buahan (Ashari, 1995).

2.1.1 Taksonomi Tanaman Delima Putih

Nama Botani (latin)	:	<i>Punica granatum L</i>
Klasifikasi	:	Kingdom : <i>Plantae</i>
		Divisi : <i>Spermatophyta</i>
		Sub divisi : <i>Angiospermae</i>
		Kelas : <i>Dicotyledonae</i>
		Bangsa : <i>Myrales</i>
		Suku : <i>Puniceae</i>
		Marga : <i>Punica</i>
		Jenis : <i>Punica granatum L</i>

(www.iptek.or.id, 2002)

2.1.2 Nama Daerah

Tanaman delima putih bagi wilayah Indonesia dikenal dengan nama-nama yang berbeda-beda untuk setiap daerah sebagai berikut.

- a. Sumatra yaitu glima (Aceh), glima mekah (Gayo), dalima (Batak)
- b. Jawa yaitu dalima (Sunda), gangsalan (Jawa), dhalima (Madura)
- c. Nusa Tenggara yaitu talima (Bima), dila dae lok (Roti), leko kase, ruma (Timor)
- d. Maluku yaitu delimen (Kisar) (Santoso, 1998)

2.1.3 Morfologi Tanaman Delima Putih

Tanaman delima putih sudah lama dikenal pada masa kerajaan Mesir, kemudian menyebar ke daerah Mediteran, dan ke arah timur hingga India dan Cina. Sekarang delima putih sudah ditanam di daerah tropik maupun subtropik. Tanaman ini dapat tumbuh pada beberapa jenis tanah asalkan subur, gembur

dengan drainase yang baik (Asnari, 1995). Di Indonesia tanaman ini menyebar dari dataran rendah sampai pegunungan. Tanaman ini masih dapat dijumpai pada ketinggian 1000 m di atas permukaan laut (Direktorat Pengawasan Obat Tradisional / Direktorat Jenderal Pengawasan Obat & Makanan ,1983).



Gambar 1: Tanaman Delima Putih (*Punica granatum L.*)
Sumber: www.iptek.or.id, 2002

Delima putih merupakan tanaman perdu berbatang kayu dengan ketinggian mencapai 5 m dan mempunyai banyak cabang serta berduri pada ketiak daunnya. Daun berwarna hijau dengan permukaan mengkilat dan berbentuk lonjong. Buah merupakan buah buni berbentuk bulat yang mempunyai diameter antara 5 –12 cm dan berwarna hijau kekuningan (Mursito, 2000). Tanaman delima putih baru berbuah sesudah berumur 4 tahun, dan buah dapat dipanen sesudah 6 bulan terhitung dari mulai mekarinya bunga / anthesis (Ashari ,1995).



Gambar 2: Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*)

Sumber : www.motherherbs.com, 2002

Tanaman delima merupakan salah satu tanaman buah-buahan. Rasa buah lebih manis dan enak bila ditanam di daerah yang beriklim sejuk. Buah yang berbentuk bulat ini dapat dimakan dalam keadaan segar, sebagai salad atau untuk minuman segar dalam kaleng. Satu buah delima diperkirakan mengandung 667 biji (Ashari, 1995). Kulit akar dan kulit batang tanaman ini mempunyai bau lemah, rasanya sepet agak pahit. Uraian mikroskopnya sebagai berikut potongan-potongan kulit berbentuk agak menggulung, kadang-kadang bagaikan pipa, dengan tebal antara 1 mm–3 mm, warna kulit akar coklat agak abu-abu muda, warna kulit batang coklat agak abu-abu tua, sedangkan warna bekas patahan kuning pucat (Kartasapoetra, 1996).

2.1.3.1 Morfologi Kulit Buah Delima Putih

Kulit buah delima putih adalah kulit buah *Punica granatum L.* yang masak. Kulit buah ini umumnya dipotong memanjang, bentuk setengah bola agak

pipih, bergaris tengah sampai lebih kurang 5 cm, atau berbentuk potongan lebih kecil; tebal sampai lebih kurang 5 mm; keras agak rapuh. Pada bagian pangkal umumnya terdapat sisa tangkai buah. Di ujung terdapat sisa dasar bunga berbentuk tabung, tinggi sampai lebih kurang 1 cm, lebar sampai lebih kurang 1,5 cm; tepi tabung tidak rata, patah tidak beraturan dan permukaan dalam tabung penuh dengan parut atau sisa tangkai sari. Di dasar tabung terdapat sisa tangkai putik berbentuk silindris. Permukaan luar kulit buah agak kasar, warna coklat tua kekuningan; permukaan dalam berwarna kuning sampai kecoklatan; terutama pada bagian atas terdapat sisa sekat buah dan sisa plasenta dan di antara sisa sekat buah, permukaan dalam berbentuk persegi 4 sampai persegi 6 dengan batas yang jelas. Di dalam persegi kadang-kadang terdapat biji. Bekas patahan tidak rata, berbutir-butir, warna kuning sampai kecoklatan (Departemen Kesehatan RI, 1990).

Secara mikroskopik kulit buah delima putih memiliki epidermis luar dan epidermis dalam yang terdiri dari sel pipih terentang tangensial, kutikula jelas. Sel berbentuk poligonal tidak beraturan, berisi butir pati dan zat penyamak, sklereida banyak, tersebar,tunggal, umumnya berkelompok, dinding sel berlapis-lapis sangat tebal (Sutardjadi, 1993).

2.1.4 Sifat Kimiawi, Efek Farmakologis dan Manfaat Kulit Buah Delima Putih

Akar dan kulit digunakan sebagai ramuan dalam pengobatan penyakit cacing tambang dan cacing pita (antelmintek), obat batuk, dan diare. Kandungan tanin pada kulit buah berfungsi untuk mengerutkan pori-pori (*adstringentia*), daging buahnya banyak dimanfaatkan sebagai bahan pelangsing badan (Mursito, 2000). Kegunaan lainnya yaitu untuk mengobati sariawan, keputihan, muntaber pada anak, gangguan pencernaan, perut kembung, mencegah masuk angin, terlalu gemuk (bijinya), disentri, radang amandel (buahnya), keputihan (kulit buahnya) (Pankaj, 2002).

Kulit buah mengandung *tanin* antara 22-35%, *alkaloid peletierin*, *metil peletierin*, *pseudo peletierin*, dan *iso peletierin*. Akar, bunga, dan kulit batang mengandung *saponin*, *flavanoid*, dan *tanin* (Mursito, 2000).

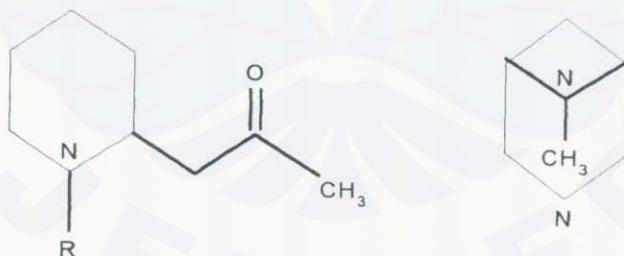
2.2 Alkaloid

Banyak obat manjur diketahui berasal dari tumbuhan, beberapa diantaranya telah dikenal ribuan tahun, salah satunya yaitu alkaloid. Nama alkaloid berarti seperti alkali yang mencerminkan sifat basa lemah dari senyawa ini (Wilbraham dan Matta, 1992).

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung nitrogen. Senyawa ini dibedakan dari sebagian besar komponen tumbuhan lain berdasarkan sifat basanya (kation). Senyawa ini biasanya terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai asam organik dan sering ditangani di laboratorium sebagai garam dengan asam hidroksida dan asam sulfat (Robinson ,1995).

2.2.1 Struktur Kimia Alkaloid

Garam ini, dan tersering alkaloid bebas, berupa senyawa padat berbentuk kristal tanpa warna. Beberapa alkaloid berupa cairan, dan alkaloid yang berwarna paling langka.



Gambar 3. Jenis pelletierine yang terkandung dalam *Granati fructus cortex* (Evans dalam Sukanto, 2003)

Sebagai basa, alkaloid biasanya diekstraksi dari tumbuhan dengan pelarut alkohol yang bersifat lemah (HCl 1M atau asam asetat 10%), kemudian diendapkan dengan amonia pekat (Harborne, 1987).

2.2.2 Manfaat Alkaloid

Pada beberapa kasus, alkaloid dapat melindungi serangan parasit atau pemangsa tumbuhan (Robinson, 1995). Tumbuh-tumbuhan dikenal mengandung senyawa organik, salah satu senyawa organik yang terdapat pada tumbuh-tumbuhan dan sering dipergunakan sebagai bahan dasar obat-obatan adalah alkaloid (www.kerinci.org, 1999).

2.3 *Candida albicans*

Candida albicans adalah suatu ragi lonjong, bertunas yang menghasilkan pseudomilium baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat (Jawetz dkk, 1996). Menurut Gayford dan Haskel (1990) *C.albicans* merupakan jamur bersel tunggal dari keluarga *Cryptoceae*.

C.albicans kurang patogen dan untuk terjadinya infeksi diperlukan faktor predisposisi baik sistemis atau lokal (Gayford dan Haskel, 1990). Menurut Soenartyo dalam Sukanto dkk (2002) Sifat komensal yang dimiliki *C.albicans* dapat berubah menjadi potensial patogen dengan adanya pengaruh gabungan tiga faktor, yaitu kebersihan mulut jelek, hipoproteinemia dan meningkatnya γ globulin. Ragi ini adalah anggota flora normal selaput mukosa saluran pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita. Di tempat-tempat ini, ragi dapat mendominasi dan menyebabkan keadaan-keadaan patologik (Jawetz dkk, 1996).

2.3.1 Morfologi dan Identifikasi *Candida albicans*



Gambar 4. Morfologi *Candida albicans*

Sumber : Jawetz dkk, 1996 (foto kopi sesuai dengan aslinya)

- Keterangan
- A. *Blastokonidia* (*blastospora*) dan *pseudohifa* dalam eksudat
 - B. *Blastokonidia*, *pseudohifa*, dan *klamikonidia* (*klamidospora*) dalam biakan pada suhu 20°C.
 - C. Biakan muda membentuk tabung-tabung benih bila diletakkan dalam serum selama 3 jam pada suhu 37°C.

Menurut Jawetz dkk (1996) pada sediaan apus eksudat. *Candida* tampak sebagai ragi lonjong, bertunas, gram positif, berukuran 2-3 x 4-6 µm, dan sel-sel bertunas, gram positif, memanjang menyerupai hifa (*pseudohifa*). Pada agar *Sabouraud* yang dieramkan pada suhu kamar, berbentuk koloni-koloni lunak berwarna coklat yang mempunyai bau seperti ragi. *C.albicans* meragikan glukosa dan maltosa, menghasilkan asam dan gas, dan tidak bereaksi dengan laktosa. *C.albicans* dibiakkan selama 24 jam dan pada suhu 37°C sel-selnya sudah bertunas.

Spektrum spesies candida yang dapat terbentuk di rongga mulut meliputi *Candida albicans*, *Candida glabarta*, *Candida tropicalis*, *Candida guilliermondii* serta *Candida krusei*. Dari enam spesies yang sering ditemukan dalam mulut yaitu spesies *C. albicans* (Lewis dan Lamey, 1998).

2.3.2 Patogenesis *Candida albicans*

Setiap spesies candida dapat menimbulkan infeksi mulut, sebagian besar harus disebabkan oleh *Candida albicans* (Lewis dan Lamey, 1998). Tetapi *C.albicans* merupakan jamur yang biasanya tidak menimbulkan penyakit dapat

menyebabkan penyakit pada orang yang mekanisme pertahanannya terganggu. Organisme oportunistis seperti ini dapat menginfeksi salah satu atau semua organ tubuh. Kadang-kadang candida ini menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau sistem imunnya tertekan, terutama jika imunitas berperantara sel terganggu. Organisme ini terutama bertanggung jawab atas terjadinya kandidiasis, yaitu suatu infeksi mulut dan rongga kerongkongan yang biasanya terjadi pada anak kurang gizi atau pada dewasa yang telah menderita sakit yang melelahkan. Organisme ini yang menyebabkan infeksi pada vulva dan vagina yang kadang-kadang terjadi bersamaan dengan kehamilan (Hare, 1993).

Menurut Gayford dan Haskel (1990) *C.albicans* dapat menyebabkan infeksi jika didukung oleh faktor-faktor predisposisi berupa keadaan-keadaan sebagai berikut melahirkan, malnutrisi dan malabsorpsi, kelainan darah yang parah, tahap akhir tumor ganas, lemah setelah operasi, perawatan antibiotik, dan gangguan endokrin semisal diabetes melitus, hipoparatiroidism, hipoadrenalin, terapi steroid, dan kehamilan.

Candida dapat dibawa oleh aliran darah ke banyak organ, searah salaput otak, tetapi biasanya tidak dapat menetap di situ dan menyebabkan abses-abses milier kecuali bila inang lemah. Sedangkan menurut Jennie (2000) infeksi candida ini juga dapat menyebabkan *septicemia*, endokarditis dan pembentukan abses. Penderita dan sepsis dapat terjadi pada penderita dengan imunitas seluler yang lemah, misalnya mereka yang menerima kemoterapi kanker atau penderita limfoma, AIDS, atau keadaan-keadaan lain. *C.albicans* juga dapat menimbulkan invasi dalam darah, tromboflebitis, endokarditis, atau infeksi pada mata dan organ-organ lain bila dimasukkan secara intravena (kateter, jarum, hiperanastest, penyalahgunaan narkoba, dan sebagainya) (Jawetz dkk, 1996).

2.3.3 Media Biakan *Candida albicans*

C.albicans adalah suatu jamur yang berbentuk agak lonjong berwarna putih, lunak dan mempunyai karakteristik yeast like odor (bau seperti ragi) dimana di dalam pembiakan dapat dilakukan pada media *Sabouraud's broth* (media cair) dan *Sabouraud's dextrose agar* (media padat) (Jawetz dkk, 1996).

Sedangkan Gayford dan Haskel (1998) mengemukakan media tertentu termasuk pepton, agar matose, atau ragi pada pH 5,0 – 5,5 (*medium Sabouraud*) dan keadaan anaerob diperlukan agar jamur ini dapat berkembang.

Metode pengenceran seri (serial dilution) dilakukan dalam media *Sabouraud Broth* sedangkan seluruh hasil pengenceran seri dari ekstrak kulit buah delima putih yang mengandung *C.albicans* ditanam pada media agar *Sabouraud Broth* padat dalam cawan petri untuk dapat mengamati adanya pertumbuhan koloni *C.albicans* secara jelas (Sukanto, 2002).

2.4 Hipotesis Penelitian

Setiap bagian tanaman delima putih mempunyai khasiat tertentu salah satunya yaitu kulit buahnya sebagai pengobatan untuk keputihan (Sundari, 1999). Diketahui keputihan salah satu penyebabnya yaitu oleh ragi atau jamur. Sedangkan *C.albicans* merupakan ragi anggota normal selaput mukosa pernapasan, saluran pencernaan, dan genitalia wanita yang juga dapat menyebabkan candidiasis dalam rongga mulut (Jawetz, 1996). Kulit buah delima putih mengandung *alkaloid peletierin*, *pseudo peletierin*, dan *iso peletierin* (Mursito, 2000). Robinson (1995) menyatakan alkaloid memiliki fungsi sebagai senyawa antifungus dan penolak serangga. Diperkuat dengan pernyataan Naim (2005) alkaloid yang diisolasi dari kulit buah delima putih memiliki sifat antifungus. Sedangkan mekanisme kerja dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuan bahan ini untuk berinteraksi dengan DNA. Struktur DNA erat kaitannya dengan 2 peran utamanya yaitu duplikasi dan transkripsi, oleh karenanya setiap zat yang mampu mengganggu struktur *double helix* DNA tersebut maka mampu pula mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme kuman (Staf Pengajar FKUI, 1992). Berdasarkan hal tersebut diharapkan alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih memiliki pengaruh terhadap *C.albicans*.

III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Penelitian yang dilakukan ini adalah eksperimental laboratoris dan rancangan percobaannya dengan metode *The Post Test Only Control Group Design*.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Biokimia Fakultas MIPA Kimia Universitas Jember dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember pada bulan Maret-April 2005.

3.3 Definisi Operasional

- a. Kulit buah delima putih adalah kulit pelapis luar pada buah delima putih. Simplicia ini didapatkan dari Pasar Tanjung Jember sudah dalam bentuk kering.
- b. Alkaloid adalah senyawa kimia bersifat antimikroba yang terkandung dalam kulit buah delima putih. Didapat dengan cara mengekstraksi jaringan kering kulit buah delima putih.
- c. *Candida albicans* adalah suatu ragi berbentuk lonjong merupakan flora normal dalam rongga mulut yang bersifat patogen opurtunistik. *C.albicans* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Alkaloid dalam *Granati fructus cortex* dengan konsentrasi 100 %, 50 %, 25 %, 12,50 %, 6,25 %, 3,13 %, 1,56 %.

3.4.2 Variabel Terikat

Jumlah koloni *C.albicans* pada media padat *Sabouraud's broth agar*.

3.4.3 Variabel Kendali

- a. Hasil isolasi alkaloid
- b. Biakan murni *Candida albicans*
- c. Media *Saboroud's dextrose agar*
- d. Prosedur penelitian

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Kriteria Sampel Penelitian

Kriteria sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut :

- a. Larutan alkaloid dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% yang didapatkan dengan metode pengenceran seri (*serial of dilution*)
- b. *Candida albicans* yang diambil dari galur murni yang dibiakkan secara *in vitro*.

3.5.2 Besar Sampel Penelitian

Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini berjumlah 36 sampel yang didapat dari perkalian antara besarnya pengulangan (4) dan banyaknya kelompok perlakuan (9). Kesembilan kelompok perlakuan terdiri dari alkaloid konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan kontrol positif serta negatif. Sedangkan besarnya pengulangan didapatkan dari rumus sebagai berikut (lampiran 5):

$$(p-1)(q-1)(r-1) \geq 20 \quad (\text{Hanafiah, 1997})$$

Keterangan : p = jumlah perlakuan

q = jumlah kontrol

r = jumlah pengulangan

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Petridish
- b. Ose

- c. Spidol
- d. *Colony counter*
- e. *Disposable syringe* (Terumo, Jepang)
- f. *Laminar flow* (Suzhou Antai Air Tech Co. LTH type HF 100, China)
- g. Tabung reaksi (Pyrex, Japan) dan rak tabung reaksi
- h. Tabung *Erlenmeyer* (Pyrex, Japan)
- i. Inkubator (Binder, USA)
- j. *Oven* (Memert, Germany)
- k. Gelas ukur
- l. *Thermolyne* (Maxi Mix II, USA)
- m. Neraca (Ohauss, Germany)
- n. Rotavapor (Buchi, Switzerland)
- o. *Strong blender* (Miyako, Japan)
- p. *Grinder* (Janko & Kunkel, 6MBH & CoKG, IKA Labortechnik)
- q. *Finil separating scet* (Duren, West Germany)
- r. Pipet kapiler (Pyrex, Japan)
- s. Botol kaca

3.6.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah

- a. Media perbenihan *Saboroud's dextrose agar*
- b. *Candida albicans* (galur murni) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
- c. *Saboroud's broth* (Merck, Germany)
- d. Larutan fisiologis
- e. Etanol 99% (PA)
- f. Simplisia *Granati fructus cortex* didapat dari Pasar Tanjung Jember
- g. Larutan alkaloid (didapat dari hasil isolasi *Granati fructus cortex* di Laboratorium Kimia Organik Fakultas MIPA Kimia Universitas Jember)
- h. Aquades steril (PT Durafarma, Surabaya Indonesia)
- i. Asam asetat 10%

- j. NH₄OH 1%
- k. NH₄OH pekat

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

a. Sterilisasi Alat

Semua alat yang digunakan dalam penelitian ini harus disterilkan dalam *oven* selama 15 menit dengan suhu 110°C

b. Mempersiapkan Suspensi Kuman

Pada penelitian ini kuman *C.albicans* diperoleh dari galur murni koleksi laboratorium Mikrobiologi FKG UNEJ. Suspensi *C.albicans* dibuat dengan cara mengambil satu ose *C.albicans* dari biakan ditambahkan larutan fisiologis sebanyak 2 cc. Pembuatan suspensi *C.albicans* dilakukan dalam *laminar flow*, setelah itu diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37°C, setelah 48 jam suspensi *C.albicans* dikocok dengan *thermolyne*.

c. Mempersiapkan media biakan *Candida albicans*

Sebanyak 6,5 gram *Sabouraud's dextrose agar* ditambah 100 cc aquades dipanaskan dalam air mendidih sampai homogen, lalu dituangkan pada *petridish* setelah itu disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 20 menit, kemudian dikeluarkan dan ditunggu dingin. Selanjutnya siap diberi perlakuan. *Petridish* yang digunakan pada penelitian ini sebanyak 36 buah.

d. Mempersiapkan larutan alkaloid

Ekstraksi jaringan kering dengan asam asetat 10% dalam etanol, biarkan sekurang-kurangnya empat jam. Pekatkan ekstrak sampai seperempat volume asal dan endapkan alkaloid dengan meneteskan NH₄OH pekat. Kumpulkan endapan dengan pemusingan, cuci dengan NH₄OH 1%. Larutkan sisa dalam beberapa tetes etanol atau kloroform (Harborne,1987). Kemudian dilakukan pengenceran seri dengan mencampurkan alkaloid sebanyak 2 gr dan pelarut aquades steril 2 ml sehingga didapatkan larutan alkaloid dengan konsentrasi 100%.

Pada larutan alkaloid sebanyak setengah dari volume awal ditambahkan lagi pelarut aquades steril sebanyak 1 ml untuk didapatkan larutan alkaloid dengan konsentrasi 50% begitu seterusnya sehingga didapatkan konsentrasi 1,56%.

3.7.2 Tahap Perlakuan

a. Perlakuan pada media cair

Siapkan 9 tabung reaksi dan diberi kode A, B, C1, C2, C3, C4, C5, C6, C7. Tabung A diberi media *Sabouraud's broth*, dan ditambahkan *C.albicans* (kontrol positif). Tabung B hanya diberi media *Sabouraud's broth* (kontrol negatif). Masing-masing tabung C1 sampai C7 diisi bahan uji (larutan alkaloid) sebanyak 0,5 ml dan suspensi *C.albicans* sebanyak 0,5 ml dalam 5 ml media *Sabouraud's broth* dengan konsentrasi sebagai berikut : tabung kode C1 diisi 100%, C2 diisi 50%, C3 diisi 25%, C4 diisi 12,50%, C5 diisi 6,25%, C6 diisi 3,13%, C7 diisi 1,56%. Seluruh tabung tersebut dimasukkan dalam inkubator dan diinkubasi pada suhu 37°C dalam 48 jam. Pembacaan dari bahan uji terhadap pertumbuhan *C.albicans* dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan yang ditandai dengan adanya kekeruhan atau endapan.

b. Perlakuan pada media padat

Hasil pengenceran seri alkaloid yang mengandung *C.albicans* dalam media *Sabouraud's broth* divibrasi selama 15 ml dan dilakukan pengenceran sebanyak 10^{-7} untuk mendapatkan konsentrasi yang mampu meniadakan *C.albicans*. Berikutnya dilakukan penanaman pada media agar *Sabouraud's broth* dengan cara mengambilnya dari tabung reaksi menggunakan syringe sebanyak 0,1 ml dan diteteskan di atas lempeng media padat pada 9 petridish yang telah berisi agar *Sabouraud's broth*, kemudian dilakukan pencampuran dengan Pour Plate Method (Alcamo,1983). Setelah itu diberi tanda sesuai dengan kode pada tabung reaksi dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

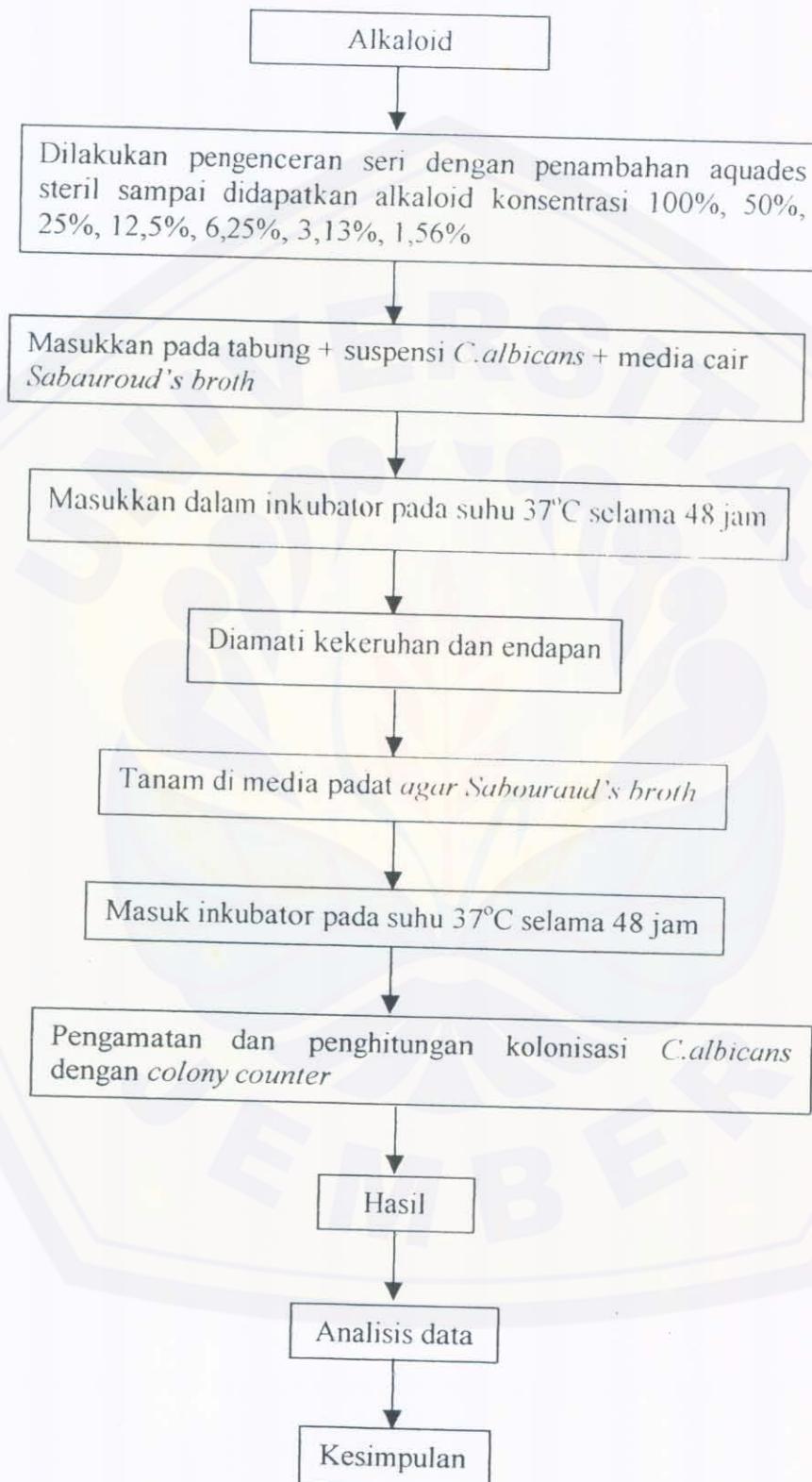
3.7.3 Tahap Pengamatan

Setelah 48 jam, *petridish* diambil dari inkubator dan dilakukan pengamatan ada tidaknya pertumbuhan yang ditandai dengan adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada permukaan media padat masing-masing *petridish* dan dilakukan penghitungan dengan *colony counter*. *Petridish* dengan media hasil perbenihan dimasukkan secara terbalik dan alat dihidupkan, kemudian muncul kotak-kotak kuadran yang terdiri dari 64 kotak. *Petridish* ditutup dengan plastik transparan kemudian dilakukan penghitungan tiap-tiap koloni fungi pada kotak-kotak arsiran yang dipilih sebanyak 30 kotak secara acak dari keempat kuadran. Tiap kuadran diambil sebanyak 7-8 kotak secara merata (Alcamo,1983).

3.8 Analisis Data

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji statistik *Kruskal-Wallis* dengan derajat kemaknaan 95 % ($p < 0,05$). Uji *Kruskal-Wallis* merupakan metode statistik untuk data non parametrik yang setara dengan uji *Anova One Way* untuk menghitung jumlah rangking tiap variabel. Sedangkan untuk melihat kemaknaan perbedaan di antara 2 variabel, analisa dilanjutkan dengan uji *Mann Whitney* dengan tingkat kemaknaan 95% ($\alpha=0,05$).

3.9 Kerangka Penelitian



IV. HASIL DAN ANALISIS DATA

4.1 Hasil Penelitian

Dari penelitian yang telah dilakukan diperoleh data tentang pengaruh alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih (*Granati fructus cortex*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% serta pada kelompok kontrol positif dan kontrol negatif terhadap pertumbuhan *Candida albicans* selama 48 jam. Data hasil pengamatan dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans* pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif

Replikasi (Besar Pengulangan)	Konsentrasi Alkaloid (pengenceran 10^{-7})							Kontrol	
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	A	B
I	0	0	2	11	28	39	55	115	0
II	0	0	3	17	22	31	61	121	0
III	0	0	4	13	21	43	67	117	0
IV	0	0	6	15	25	47	70	111	0
Rata-Rata	0,00	0,00	3,75	14,0	24,0	40,0	63,25	116	0,00
SD	0,00	0,00	1,71	2,58	3,16	6,83	6,65	4,16	0,00

Keterangan : A = campuran media *Sabouraud's broth* dan *C.albicans* (kontrol positif)
 B = media *Sabouraud's broth* (kontrol negatif)
 C1 = alkaloid konsentrasi 100%
 C2 = alkaloid konsentrasi 50%
 C3 = alkaloid konsentrasi 25%
 C4 = alkaloid konsentrasi 12,5%
 C5 = alkaloid konsentrasi 6,25%
 C6 = alkaloid konsentrasi 3,13%
 C7 = alkaloid konsentrasi 1,56%
 SD = Standar Deviasi

Pada tabel 1 terlihat adanya persamaan kemampuan membunuh dari alkaloid yang terkandung dalam kulit buah delima putih konsentrasi 100% dan konsentrasi 50%. Dan terlihat juga rata-rata perbedaan kemampuan membunuh dari alkaloid pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% pada pengamatan 48 jam.

4.2 Analisis Data Hasil Penelitian

Analisis data penelitian dilakukan dengan uji normalitas data untuk mengetahui apakah data tersebut terdistribusi normal kemudian uji homogenitas varian untuk menguji berlaku tidaknya salah satu asumsi yaitu ragam dari populasi tersebut sama.

Tabel 2. Hasil Uji Normalitas pada Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans* pada Konsentrasi Alkaloid 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% dan pada Kontrol Positif serta Kontrol Negatif

	Konsentrasi Alkaloid							Kontrol	
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C7	+	-
Probabilitas	-	-	0,999	1,000	0,979	0,999	1,000	1,000	-

Tabel di atas memperlihatkan bahwa nilai probabilitas alkaloid pada konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13% dan 1,56% berturut-turut yaitu 0,999, 1,000, 0,979, 0,999, 0,993 dan pada kontrol positif 1,000 menunjukkan probabilitasnya lebih besar dari 0,05 ($p>0,05$), berarti data penelitian tersebut normal.

Sedangkan pada alkaloid konsentrasi 100%, 50% dan kontrol negatif tidak dapat diuji normalitas datanya karena pada variabel tersebut tidak ada variasi distribusi data dikarenakan nilai rata-rata jumlah koloni *C.albicans* nol.



Tabel 3. Hasil Uji Homogenitas pada Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans* pada Alkaloid Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% serta pada Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

	Levene statistic	df1	df2	Probabilitas
Hasil ukur	4,990	8	27	0,001

Keterangan : Levene statistic = taraf kepercayaan

df1 = derajat batas kelompok perlakuan

df2 = standar salah

Berdasarkan uji statistik homogenitas dari kesembilan kelompok perlakuan pada pengamatan 48 jam terlihat bahwa nilai probabilitasnya 0,001 ($p<0,05$). Karena probabilitasnya kurang dari 0,05, maka H_0 ditolak artinya kesembilan sampel mempunyai variasi yang tidak sama. Oleh karena variasinya tidak sama, maka dilanjutkan dengan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$). Uji tersebut digunakan untuk mengetahui perbedaan kemaknaan pada tiap-tiap kelompok perlakuan yang hasilnya ditampilkan pada tabel 4.

Tabel 4. Hasil Uji Kruskal Wallis pada Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans* pada Alkaloid Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% serta pada Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

	Jumlah koloni <i>C. albicans</i>
H hitung	34,719
df	8
Probabilitas	0,000

Berdasarkan hasil Uji Kruskal Wallis tersebut menunjukkan bahwa nilai probabilitasnya 0,000 ($p<0,05$). Karena probabilitasnya jauh di bawah 0,05 maka H_0 ditolak. Hal ini berarti terdapat perbedaan signifikan pada tiap perlakuan.

Setelah dilakukan Uji Kruskal Wallis maka dilanjutkan dengan uji Mann Whitney untuk mengetahui lebih lanjut perbedaan kemaknaan antara dua kelompok perlakuan (variabel) dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) yang dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Hasil Uji Mann Whitney pada Penghitungan Jumlah Koloni *Candida albicans* pada Alkaloid Konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56% serta pada Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Perlakuan	Konsentrasi alkaloid								Kontrol	
	100%	50%	25%	12,5%	6,25%	3,13%	1,56%	(+)	(-)	
C1	-	TB	B	B	B	B	B	B	B	TB
		1,000	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	1,000
C2	-	B	B	B	B	B	B	B	B	TB
		0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	0,014	1,000
C3	-	B	B	B	B	B	B	B	B	B
		0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,014	
C4	-	B	B	B	B	B	B	B	B	
		0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,014	
C5	-	B	B	B	B	B	B	B	B	
		0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,014	
C6	-	B	B	B	B	B	B	B	B	
		0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,014	
C7	-	B	B	B	B	B	B	B	B	
		0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,021	0,014	
(+)									B	
(-)									0,014	

Keterangan : 1. **B** : berbeda nyata pada *Uji Mann Whitney*
 2. **TB** : tidak berbeda nyata (tidak bermakna) pada *Uji Mann Whitney*
 3. angka bercetak tebal merupakan probabilitas perbandingan antara perlakuan

Berdasarkan hasil *Uji Mann Whitney* pada tabel 5 terlihat bahwa antara kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang signifikan kecuali antara

alkaloid konsentrasi 100%, 50% dan kontrol negatif tidak ada perbedaan yang signifikan dikarenakan nilai probabilitasnya sebesar 1,000 ($p>0,05$).



V. PEMBAHASAN

Candida albicans merupakan organisme yang dapat timbul pada hewan dan manusia. *C.albicans* pada manusia dapat menempati berbagai macam habitat seperti kulit dan mukosa tetapi di rongga mulut *C.albicans* sebagian besar diketemukan pada lidah, terutama daerah dorsum posterior di bagian papilla sirkumvalata. Jamur ini hidup sebagai komensal yang tidak berbahaya, dan ketika lingkungan di rongga mulut berubah misalkan pemakaian antibiotik spektrum luas secara berkepanjangan mengakibatkan pertumbuhan *C.albicans* menjadi berlebihan. Diperkuat dengan pertahanan tubuh lemah terutama daya tahan tubuh seluler respon imun menurun, maka sifat komensal dapat berubah menjadi patogen yang dapat menimbulkan infeksi.

Pemanfaatan tanaman obat dari bahan alam pada umumnya bukanlah merupakan hal yang baru. Biasanya masyarakat memanfaatkan tanaman obat berdasarkan pengalamannya saja. Salah satu dari berbagai macam tanaman obat yaitu delima putih khususnya kulit buahnya (*Granati fructus cortex*). Pemanfaatan secara empiris bahan alam ini belum ditunjang dengan penelitian secara ilmiah. Dikatakan pada penelitian sebelumnya (Sukanto,2002) bahwa kulit buah delima putih mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C.albicans* tetapi belum dijelaskan tentang kandungan kimia beserta sifatnya, salah satunya yaitu alkaloid.

Alkaloid adalah senyawa kimia mengandung nitrogen, golongan ini dibedakan dari komponen tumbuhan lain berdasarkan sifat basanya. Senyawa ini terdapat dalam tumbuhan sebagai garam berbagai asam organik yang diantaranya memiliki fungsi sebagai penolak serangga dan senyawa antifungus (Robinson,1995). Alkaloid dalam kulit buah delima putih diperkirakan sebanyak 6%. Alkaloid yang terkandung yaitu jenis *peletierin* baik *metal peletierin*, *pseudo peletierin*, dan *iso peletierin* yang bersifat toksik pada takaran besar (Mcintyre dalam Sukanto, 2003). Sedangkan pada jumlah yang kecil alkaloid memiliki efek fisiologis pada tubuh manusia (www.encarta.encyclopedia2004.com).

Peletierin ($C_3H_{15}NO$) disebut juga *punicum*. Alkaloid jenis *peletierin* ini dapat dikenali dari warnanya yang berubah menjadi coklat dalam paparan udara dan memiliki aroma khas mirip wine. *Peletierin* harus dilindungi dari cahaya dan senyawa asam (Pankaj, 2002).

Kulit buah delima putih dalam penelitian ini berupa simplisia kering dan kemudian alkaloid diisolasi dalam bentuk ekstrak kering yang diperoleh melalui penguapan etanol sebagai bahan pelarut. Penguapan cairan ekstraksi menggunakan alat-alat diantaranya oven dengan pemanasan pada $\pm 50^\circ C$ sehingga ekstrak yang kental mudah diambil (Voigt, 1994). Bentukan ekstrak kering dipilih untuk menghindari pembiasan matinya koloni *C.albicans* oleh etanol sebagai bahan pelarut.

Hasil uji statistik non parametrik *Kruskal Wallis* yang ditunjukkan pada tabel 4 terlihat $p= 0,000$ ($p<0,05$) maka H_0 ditolak , artinya terdapat perbedaan signifikan pada tiap-tiap perlakuan. Hal ini menunjukkan bahwa alkaloid dapat mempengaruhi pertumbuhan *C. albicans*.

Hasil penelitian pada media cair *Sabouraud's broth* terlihat media cair dengan penambahan alkaloid konsentrasi 100% dan 50% tidak terdapat kekeruhan dan endapan yang berarti tidak ada pertumbuhan *C.albicans*. Kemudian dilakukan perlakuan pada media padat *Sabouraud's broth agar* yang bertujuan untuk dapat lebih jelas mengamati dan menghitung jumlah koloni *C.albicans* yang terbentuk. Hasil penelitian pada media padat yang diberi perlakuan alkaloid konsentrasi 100% dan 50% tetap tidak terbentuk koloni *C.albicans* artinya alkaloid konsentrasi 100% dan 50% dapat membunuh *C.albicans*. Hasil penelitian ini sesuai dengan pernyataan Robinson dalam Sukanto dkk (2002) yang menyatakan bahwa kandungan alkaloid dalam kulit buah ini berfungsi sebagai antimikroba. Diperkuat dengan pernyataan Vimalasari dalam Sukanto dkk (2002) yang melaporkan bahwa infusa kulit buah delima putih mempunyai daya hambat terhadap pertumbuhan *C.albicans*

Salah satu cara terbunuhnya *C. albicans* melalui penempelan zat-zat aktif melalui reseptor-reseptor membran oleh makrofag. Makrofag pada fungsinya sebagai fagosit juga menghasilkan *nitrogen monoxide* yang bersifat fungisidal,

seperti halnya alkaloid yang merupakan tandon penyimpanan nitrogen. Selain itu *polimorfonuclear leukosit* (PMN) juga menghasilkan *lactoferrin*, oksigen, dan protein yang merupakan senyawa bersifat antifungi (Marsh, 2001). Menurut Naim (2005) alkaloid yang diisolasi dari kulit buah delima putih memiliki sifat antifungus. Sedangkan mekanisme kerja dari alkaloid dihubungkan dengan kemampuan bahan ini untuk berinteraksi dengan DNA. Struktur DNA erat kaitannya dengan 2 peran utamanya yaitu duplikasi dan transkripsi, oleh karenanya setiap zat yang mampu mengganggu struktur *double helix* DNA tersebut maka mampu pula mempengaruhi seluruh fase pertumbuhan dan metabolisme kuman (Staf Pengajar FKUI, 1992). Mekanisme kerja dari bahan antimikroba melalui ikatan kuat pada polimerase RNA yang bergantung pada DNA mikroba. Jadi bila bahan ini dapat menghambat sintesa RNA mikroba yang akhirnya berfungsi membunuh mikroba (Jawetz dkk, 1996).

Perbedaan signifikan antara perlakuan dapat diketahui lebih lanjut dengan uji statistik non parametrik *Mann Whitney* dengan derajat kemaknaan 95% ($p<0,05$) yang ditunjukkan pada tabel 5. Berdasarkan uji tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara perlakuan kecuali alkaloid konsentrasi 100% dengan 50%, 100% dengan kontrol negatif, dan konsentrasi 50% dengan kontrol negatif tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan alkaloid konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13% dan 1,56% mempunyai perbedaan kemampuan membunuh *C.albicans* yang ditunjukkan dengan jumlah koloni *C.albicans* berbanding terbalik dengan besarnya konsentrasi yaitu semakin besar konsentrasi maka semakin sedikit jumlah koloni *C.albicans*. Menurut Volk (1993) peningkatan konsentrasi menyebabkan semakin pekat komposisi sehingga semakin banyak kation aktif obat sehingga lebih banyak anion essensial sel jamur yang berinteraksi akibatnya metabolisme sel-sel jamur yang dihambat juga banyak dengan demikian kemampuan membunuh atau menghambat pertumbuhan jamur semakin kuat. Palezar dan Chan dalam Wahyuningtyas (1995) juga menyatakan bahwa semakin besar daya konsentrasi antijamur maka semakin banyak sel mikroorganisme yang terbunuh.

Tidak adanya perbedaan yang signifikan antara alkaloid konsentrasi 100%, 50%, dan kontrol negatif dikarenakan nilai rata-rata jumlah koloni *C.albicans* pada tiga kelompok perlakuan tersebut bernilai nol. Jadi alkaloid konsentrasi 100% dan 50% memiliki kemampuan yang sama dalam membunuh *C.albicans* atau dapat dikatakan alkaloid konsentrasi 50% merupakan konsentrasi minimum dari alkaloid yang dapat membunuh *C.albicans*.

Pemanfaatan sediaan farmasi bermacam-macam salah satunya yaitu penggunaan pada kulit yang bertujuan untuk memberi aksi lokal dan aksinya dapat menjadi lama pada tempat yang sakit dan akan diabsorbsi. Oleh karena itu sediaan untuk pemakaian pada kulit digunakan sebagai antiseptik ataupun antifungi. Antiseptik pada bidang kedokteran gigi sering berupa obat kumur (gargarisma). Sediaan ini berupa larutan umumnya pekat dan bila digunakan diencerkan terlebih dulu. Gargarisma digunakan sebagai pencegah atau pengobatan infeksi tenggorokan dan rongga mulut agar obatnya dapat langsung mengenai seluruh selaput mukosa rongga mulut yang berlipat-lipat (Anies, 1994). Oleh karena itu alkaloid dengan penelitian lebih lanjut dapat dijadikan sebagai alternatif pilihan bahan antifungi dalam sediaan obat kumur.

VI. KESIMPULAN DAN SARAN

6.1 Kesimpulan

Setelah dilakukan pengujian pengaruh alkaloid dalam kulit buah delima putih terhadap *C.albicans* dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut

1. Alkaloid dalam kulit buah delima putih dengan konsentrasi 100% dan konsentrasi 50% mempunyai kemampuan membunuh *C.albicans*.
2. Konsentrasi minimum alkaloid yang dapat membunuh *C.albicans* yaitu konsentrasi 50%.

6.2 Saran

Dari hasil penelitian ini disarankan perlunya penelitian lebih lanjut mengenai hal-hal berikut :

1. Konsentrasi efektif antara konsentrasi 50% dan konsentrasi 25% yang mampu membunuh *C.albicans*
2. Takaran penggunaannya
3. Waktu efektif yang mampu membunuh *C.albicans*
4. Efek antijamur alkaloid pada spesies candida yang lain di rongga mulut
5. Alternatif pilihan bahan antijamur dalam sediaan obat kumur.

Digital Repository Universitas Jember

DAFTAR PUSTAKA

- Alcamo, E. 1983. *Laboratory Fundamental of Microbiology*. Canada: Addison Wesley Publishing Company Inc. p.103.
- Anies, Moh. 1994. *Farmasetika*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press
- Ashari, Sumara. 1995. *Hortikultura Aspek Budaya*. Jakarta: UI Press. p.295-297.
- Departemen Kesehatan RI.1990. *Pharmacopee Belanda Edisi V (Terjemahan)*. Jakarta: DepKes RI. p.180.
- Direktorat Jenderal Pengawasan Obat & Makanan Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*. Jakarta: DepKes RI. p.32.
- Direktorat Pegawasan Obat Tradisional / Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. 1983. *Toga*. Jakarta: Depkes RI
- Gayford dan Haskell. 1990. *Penyakit Mulut*. Alih Bahasa: Lilian Yuwono. Judul Asli: Clinical Oral Medicine. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. p.56-57.
- Hanafiah, KA. 1997. *Rancangan Percobaan : Teori dan Aplikasi*. Jakarta: PT Raja Grafindo Persada
- Harborne,JB. 1987. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Alih Bahasa: Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Judul Asli : Phytochemical Methods. Bandung: ITB Bandung. p. 238-239.
- Hare, Ronald. 1993. *Mikrobiologi dan Imunologi untuk Perawat dan Dokter*. Alih Bahasa : Praseno. Judul Asli :Bacteriology and Immunity for Nurses. Yogyakarta : Yayasan Essentia Medica. p. 39.
- Jawetz, E., J.I Melnik dan E.A. Adelberg. 1996. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan*. Alih Bahasa: Tonang. Judul Asli: Review of Medical Microbiology. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.p. 627-629.
- Jennie, Wilson. 2000. *Clinical Microbiology An Introduction for Healthcare Professional Eight Edition*. New York: Bailli'ere Tindall Publishing. p.221.
- Kartasapoetra. 1996. *Budidaya Tanaman Berkhasiat Obat*. Jakarta: PT Rineka Cipta. p. 71-72.



- Lewis, MAO dan Lamey,PJ. 1998. *Tinjauan Klinis Penyakit Mulut*. Alih Bahasa: Wirianan. Judul Asli: Clinical Oral Medicine. Jakarta: Widya Medika. p. 39.
- Naim, Rochman. 2005. *Peletierin dalam Punica granatum cortex*. www.ipb.org.id Diakses tanggal 9 Mei 2005
- Marsh, Philips dan Martin, Michael. 2001. *Oral Microbiology Fourth Edition*. Aukcland: Wright Publishing. p. 154-156
- Mursito, Bambang. 2000. *Tampil Percaya Diri dengan Ramuan Tradisional*. Jakarta: Penebar Swadaya. p. 4, 67-68.
- Oudhia, Pankaj. 2002. *Pomegranate*. www.botanical.com. Diakses tanggal 22 Agustus 2005
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi Edisi 6*. Alih Bahasa: Kosasih padmawinata. Judul Asli: Organics of Plant. Bandung: Penerbit ITB Bandung. p. 281-293.
- Santoso, Hieronymus. 1998. *Toga 2*. Yogayakarta: Penerbit Kanisius.p. 44-46.
- Sukanto. 2003. "Daya antibakteri infusa *Granati fructus cortex* terhadap *Steptococcus mutans*". *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) UNAIR Vol 36 No 3 Juli* . Surabaya .p. 86-90.
- Sukanto. 2002. " Daya Hambat Ekstrak Kulit Buah Delima Putih terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*". *Majalah Kedokteran Gigi (Dental Journal) UNAIR Vol 35 No 4 Oktober*. Surabaya .p.161-163.
- Sundari. 1999. "Efek Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Delima Putih (*Punica granatum L.*) terhadap Bakteri Penyebab Diare Secara *In vitro* dan Uji Toksisitas Akut". *Media Litbangkes Edisi Khusus "Obat Asli Indonesia"* Volume VIII No 3 & 4 1998/1999. Jakarta. p. 38-41.
- Sutardjadi. 1993. *Ekstra Farmakope Indonesia*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI. p. 351.
- Staf Pengajar FKUI. 1994. *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran Edisi Revisi*. Jakarta: Binarupa. Aksara. p.49
- Syukur, Cheppy dan Hernani. 2002. *Budi Daya Tanaman Obat Komersial*. Jakarta: Penebar Swadaya. p. 1-2.

- Voigt, R. 1994. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Jogjakarta: Gadjah Mada University Press. p. 580-581
- Volk, WA dan Wheeler, MF. 1993. *Mikrobiologi Dasar Jilid I Edisi V*. Alih bahasa: Kosasih Padmawinata Judul Asli: *Microbiology*. Jakarta: Erlangga. p. 202-205.
- Wahyuningtyas, E. 1995. "Pengaruh Daya Anti Mikotik Minyak Atsiri Sereh Dapur terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* pada Gigi Tiruan Lengkap Resin Akrilik Polimerisasi Gelombang Mikro. *Laporan Penelitian*. Yogyakarta: FKG Universitas Gajah Mada
- Wilbraham dan Matta. 1992. *Pengantar Kimia Organik dan Hayati*. Ahli bahasa: Suminar Achmadi. Judul asli: *Introduction to Organic and Biological Chemistry*. Bandung: Penerbit ITB. p. 93.
- www.encarta.encyclopedia2004.com. 2004. *Alkaloids*. Diakses tanggal 9 Mei 2005
- www.iptek.or.id. 2002. *Delima Putih (*Punica granatum L.*)*. Diakses tanggal 18 September 2004
- www.kerinci.org. 1999. Upaya Inventarisasi Tumbuhan yang Mengandung Senyawa Alkaloid Sebagai Bahan Dasar Obat-obatan di Taman Nasional Kerinci Seblat. Diakses tanggal 18 September 2004
- www.motherherb.com. 2002. *Punica granatum*. Diakses tanggal 23 September 2005

Lampiran 1. Analisis Hasil dengan Uji Kruskal Wallis**NPar Tests
Kruskal-Wallis Test**

Ranks			
	Perlakuan	N	Mean Rank
Jumlah Koloni Candida albicans	alkaloid 100%	4	6.50
	alkaloid 50%	4	6.50
	alkaloid 25%	4	14.50
	alkaloid 12.5%	4	18.50
	alkaloid 6.25%	4	22.50
	alkaloid 3.13%	4	26.50
	alkaloid 1.56%	4	30.50
	Kontrol (+)	4	34.50
	kontrol (-)	4	6.50
Total		36	

Test Statistics^{a,b}

Jumlah Koloni Candida albicans	
Chi-Square	34.719
df	8
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Perlakuan

Lampiran 2. Analisis Hasil dengan Uji Mann Whitney

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	4.50	18.00
alkaloid 50%	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests

Mann-Whitney Test

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 100%	4	4.50	18.00
kontrol (-)	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total.	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	4.50	18.00
kontrol (-)	4	4.50	18.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	8.000
Wilcoxon W	18.000
Z	.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	1.000
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	1.000 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 50%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks****Jumlah Koloni Candida albicans**

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks****Jumlah Koloni Candida albicans**

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks****Jumlah Koloni Candida albicans**

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks****Jumlah Koloni Candida albicans**

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 25%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	2.50	10.00
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 12.5%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans

Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^bJumlah
Koloni
Candida
albicans

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 3.13%	4	2.50	10.00
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 6.25%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties..

b. Grouping Variable: Perlakuan

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 3.13%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b

	Jumlah Koloni Candida albicans
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 3.13%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 1.56%	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

NPar Tests**Mann-Whitney Test****Ranks**

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
alkaloid 1.56%	4	2.50	10.00
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.309
Asymp. Sig. (2-tailed)	.021
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Ranks

Jumlah Koloni Candida albicans			
Perlakuan	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Kontrol (+)	4	6.50	26.00
kontrol (-)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b**Jumlah
Koloni
Candida
albicans**

Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.460
Asymp. Sig. (2-tailed)	.014
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Perlakuan

Lampiran 3. Langkah Kerja Isolasi Alkaloid**LANGKAH KERJA ISOLASI ALKALOID**

1. Kulit buah delima putih dikeringkan dalam oven sampai benar-benar kering.
2. Kulit buah delima putih dihaluskan dengan *strong blender*, untuk mendapatkan hasil yang lebih halus masukkan dalam *grinder* hingga didapat bentukan berupa serbuk halus seperti tepung.
3. Timbang kulit buah delima putih tersebut sebanyak 50 gr dengan neraca analitik.
4. Masukkan dalam 2 corong pemisah (*Funil separating schatt*), tiap corong pemisah masing-masing 25 mg. Letakkan corong pemisah tersebut pada statip.
5. Dilakukan ekstraksi dalam etanol PA dan asam asetat dengan perbandingan 9:1. Dengan cara memasukkan etanol PA dalam tiap corong pemisah sebanyak 225 ml. Lakukan pengenceran asam asetat terlebih dahulu, yang semula asam asetat 25% menjadi asam asetat 10%. Lalu masukkan asam asetat 25% dalam galas ukur sebanyak 5 ml dan tambahkan aquades 45 ml sehingga didapatkan asam asetat dengan konsentrasi 10 ml. Kemudian masukkan asam asetat tersebut dalam corong pemisah, tiap corong pemisah masing-masing 25 ml.
6. Dilakukan pengocokan pada corong pemisah agar cairan dan bahan dapat tercampur dengan cara memutar corong pemisah, kemudian letakkan kembali pada statip dan biarkan ± 4 jam.
7. Tuangkan cairan dari corong pemisah pada tabung *centrifuge*, kemudian di *centrifuge* selama 5 menit.
8. Tuangkan cairan dalam tabu *evaporator* atau *rotavapor*. Di evaporasi dengan tekanan 200 mbar suhu 50°C sampai 1/4 volume asal, lalu pindahkan ke 1 corong pemisah.
9. Tambahkan NH₄OH pekat untuk mengendapkan alkaloid, terlihat dengan

munculnya gumpalan-gumpalan kecil. Kemudian kocok hingga tercampur.

10. Untuk mengumpulkan alkaloid tersebut masukkan cairan dalam tabung *sentrifuge* kemudian di *sentrifuge* selama 5 menit hingga didapatkan endapan berwarna coklat tua yang dikatakan sebagai alkaloid.
11. Pindahkan endapan tadi pada wadah kaca/ botol kaca.
12. Sisa cairan dimasukkan lagi dalam tabung *sentrifuge* dan dicuci dengan NH₄OH 1%, kemudian di *sentrifuge* kembali.
13. Kemudian keringkan endapan/alkaloid tersebut dalam oven, suhu 60°C ± 48 jam hingga menjadi serbuk.
14. Alkaloid yang diperoleh sebanyak 10 mg.

Lampiran 4. Metode Pengenceran Seri**A. Alkaloid**

1. Timbang 2 gr serbuk alkaloid. Tambahkan 2 ml aquades steril, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 100%.
2. Ambil 1 ml hasil pengenceran tersebut dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 50%.
3. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 2 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 25%.
4. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 3 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 12,5%.
5. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 4 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 6,25%.
6. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 5 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 3,13%.
7. Ambil 1 ml hasil pengenceran pada tahap 6 dan tambahkan aquades 1 ml, sehingga didapatkan larutan alkaloid konsentrasi 1,56%.

B. Media Cair

Pada percobaan ini terdapat 7 konsentrasi larutan alkaloid yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13%, 1,56%. Dari hasil pengenceran seri di atas masing masing konsentrasi diambil 0,5 ml dan dicampurkan pada 7 tabung reaksi yang telah berisi 5 ml media cair *Sabouraud's broth* dan 0,5 ml suspensi kuman. Kemudian ditambah lagi 1 tabung reaksi sebagai kontrol positif yang berisi media cair *Sabouraud's broth* dan suspensi kuman, 1 tabung reaksi lagi sebagai kontrol negatif yang berisi media cair *Sabouraud's broth*. Sembilan tabung reaksi tersebut dimasukkan dalam inkubator selama 48 jam. Setelah 48 jam media cair tersebut ditanam pada media padat *Sabouraud's broth agar*. Namun sebelumnya dilakukan pengenceran dengan aquades steril sampai 7 kali (10^{-7}) dengan cara sebagai berikut :

1. Dari media cair tersebut (konsentrasi 100%) diambil 1 ml dan diencerkan dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-1} .
2. Dari tahap 1 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril. Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-2} .
3. Dari tahap 2 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril . Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-3} .
4. Dari tahap 3 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril . Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-4} .
5. Dari tahap 4 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-5}
6. Dari tahap 5 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril . Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-6}
7. Dari tahap 6 diambil 1 ml dan dicampur dengan 9 ml aquades steril . Hasil pengenceran tersebut merupakan pengenceran 10^{-7}

Hal tersebut dilakukan juga pada konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,13% 1,56%, kontrol positif dan kontrol negatif. Hasil pengenceran yang terakhir yaitu 10^{-7} dari masing-masing konsentrasi diambil 0,1 ml dan dituangkan ke media padat dengan *pour plate methode*.

Lampiran 5. Penghitungan Besar Sampel Penelitian

Diketahui : jumlah kelompok perlakuan (p) = 9

jumlah kontrol (q) = 2

Ditanya : besar pengulangan (r) ?

Jawab : Rumus menghitung besar pengulangan

$$(p-1)(q-1)(r-1) \geq 20$$

$$(9-1)(2-1)(r-1) \geq 20$$

$$8 \cdot 1 \cdot (r-1) \geq 20$$

$$8r - 8 \geq 20$$

$$8r \geq 28$$

$$r \geq 28$$

$$r \geq 28$$

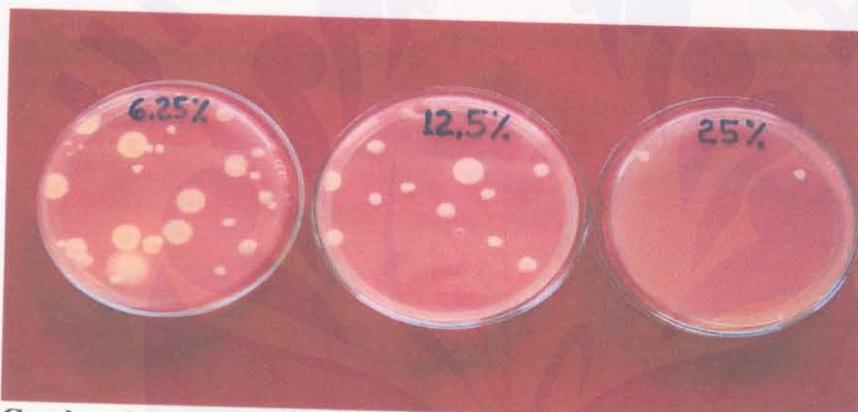
$$r \sim 4$$

Jadi besar pengulangan sebesar 4 sehingga besar sampel didapatkan dari perkalian banyaknya kelompok perlakuan (9) dengan besar pengulangan (4) yaitu sebesar 36

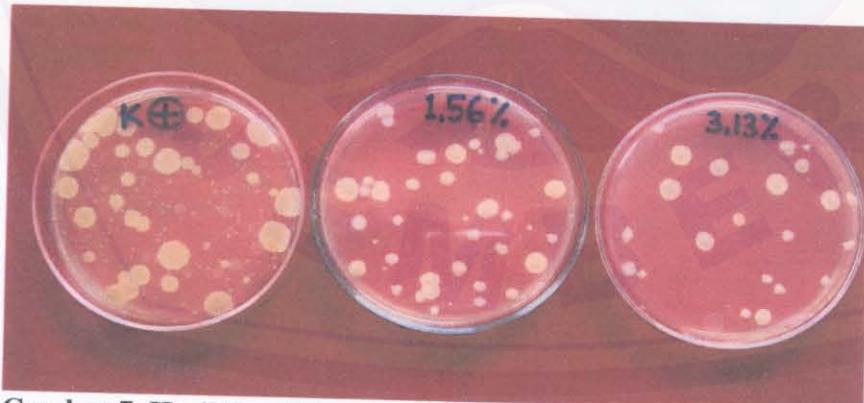
Lampiran 6. Gambar Hasil Penelitian



Gambar 5. Hasil Penelitian Alkaloid Konsentrasi 100%, 50%, dan Kontrol Negatif



Gambar 6. Hasil Penelitian Alkaloid Konsentrasi 25%, 12,5%, dan 6,25%



Gambar 7. Hasil Penelitian Alkaloid Konsentrasi 3,13%, 1,56%, dan Kontrol Positif

Bentukan Koloni
Candida albicans