



Milik UPT Perpustakaan
UNIVERSITAS JEMBER

PENGARUH EKSTRAK BIJI SRIKAYA (*Annona squamosa* L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* ATCC 2592

SKRIPSI



Oleh :

Nurdian Alifiyah M.R.

NIM. 971810401093

- Radiah

Tariro

station
7 APR 200

617.22

AlCl_3

7

e.1

JURUSAN BIOLOGI

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS JEMBER**

Maret 2002

M O T T O

Kebahagiaan adalah sama dengan tidak memandang kesulitan-kesulitan kecil sebagai malapetaka.

(Andre Malraux)

Apapun yang bisa dipikirkan dan diyakini oleh manusia pasti bisa dicapai.

(Napoleon Hill)

Pelangi.....kulihat semua do'a dan harapanku (impian-impianku) ada diantara warna-warnamu, aku ingin menggapainya,...tapi....jika tidak.....aku cukup puas dengan melihat, menikmati dan meniru keindahannya dari sini.

(Didin)

Demi masa sesungguhnya manusia itu dalam kerugian kecuali orang yang beriman dan beramal kebaikan dalam menjalankan kebenaran dengan penuh kesabaran.

(Q.S. 103)

HALAMAN PERSEMBAHAN

Dengan menyebut nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang, tulisan ini kupersembahkan untuk:

1. Ayahanda Drs. Moch. Munari Sahi dan Ibunda Ruhana, yang tak pernah putus berdo'a untuk selalu mengiringi, menyinari dan mengokohkan tekad serta semangatku serta selalu mencurahkan perhatian dan kasih sayangnya dalam setiap langkahku dalam menggapai keberhasilanku;
2. Saudaraku: mbak Aries + Mas Andik (*thank's for everything*), dhe' Ana, dhe' A'at (*kejadian dan kenakalan kalian tetap sebagai pendorong semangatku*). *Thank's God, ini adalah anugerah terindah yang aku miliki*;
3. Kedua Nenekku yang selalu menyayangiku;
4. Sahabat-sahabatku: Ninis (*yang telah mengiringiku dalam suka dan duka*), Dian Saras (*keceriaanmu memberi warna tersendiri buatku*), Irma + Alif, Akmal, Mukijah, Titik, Robi, Mujib (*thank's udah dibarengin*), Ila, Afif, Haidlor (*I miss You*) and.....all;
5. Teman-temanku seperjuangan (*MIPA'97, '98 & FKIP'97*), keceriaan kalian merupakan bagian dari keberhasilanku;
6. Wira'4 & teman KKN I'2001 Bagon-Puger;
7. Impian-impianku yang membuatku untuk terus bertahan dan berjalan;
8. Secuterku yang selalu mengantarkan aku;
9. "Yang" selalu menyayangiku;
10. Almamater yang kubanggakan.

DEKLARASI

Skripsi ini berisi hasil penelitian mulai bulan Agustus 2001 sampai dengan bulan November 2001 di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia dan Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi FMIPA UNEJ. Bersama ini saya menyatakan bahwa isi skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri kecuali jika disebutkan sumbernya dan skripsi ini belum pernah diajukan pada institusi lain.

Jember, Maret 2002

Nurdian Alifiyah M.R.

ABSTRAK

Nurdian Alifiyah M.R. Maret 2002. Pengaruh Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 2592 (*The Influence of Custard Apple (Annona squamosa L.) Seeds Extracts on The Growth of Candida albicans ATCC 2592*).

Skripsi, Jurusan Biologi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember.

DPU: Drs. Sutoyo, M.Si

DPA: drh. Wuryanti Handayani, M.Si

Candida albicans dapat menyebabkan penyakit infeksi yang disebut kandidiasis. Pengobatan kandidiasis selama ini melibatkan agen antijamur yang tidak dapat diabsorpsi oleh organ tubuh. Pengobatan dengan cara tersebut disamping mahal juga dapat menimbulkan efek toksik yang menonjol pada tubuh pasien. Berdasarkan hal tersebut maka telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui macam hasil ekstraksi biji srikaya (*Annona squamosa*) yang mempunyai pengaruh penghambatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592, selain itu sebagai upaya pencarian bahan alami untuk pengobatan infeksi kandidiasis. Penelitian dilakukan dengan beberapa metode meliputi preparasi ekstrak biji srikaya, peremajaan biakan, pembuatan inokulum, pengujian macam ekstrak biji srikaya terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592 dan pengujian aktivitas ekstrak biji srikaya fasa minyak terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592. Hasil pengujian macam ekstrak biji srikaya terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592 menunjukkan bahwa ekstrak biji srikaya fasa minyak 2,5% relatif tidak berpengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan sel, tetapi lebih berpengaruh pada mempercepat fase kematian *C. albicans* ATCC 2592 dibandingkan dengan ekstrak biji srikaya fasa endapan dan etanol 0,0475%. Hasil pengujian aktivitas ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) fasa minyak dengan berbagai konsentrasi menunjukkan bahwa ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) fasa minyak 5% berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592 dalam mempercepat fase stationer dibandingkan dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20%.

Kata kunci: Ekstrak, biji srikaya (*Annona squamosa* L.), penghambatan, pertumbuhan, *Candida albicans* ATCC 2592.

HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diterima oleh Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember pada:

Hari : Rabu

Tanggal : 17 APR 2002

Tempat : Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Jember.

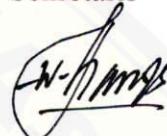
Tim Pengaji

Ketua



(Drs. Sutoyo, M.Si)
NIP. 131 993 435

Sekretaris



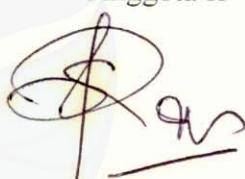
(drh. Wuryanti Handayani, M.Si)
NIP. 131 459 744

Anggota I



(Drs. Rudju Winarsa, M.Kes)
NIP. 131 832 321

Anggota II



(Satty Arimurti, S.P., M.Si)
NIP. 132 240 149

Mengesahkan

Dekan FMIPA UNEJ



(Dr. Sumadi, M.S)
NIP. 130 368 784

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena penulis telah diberi kekuatan untuk menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyampaikan ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Drs. Sutoyo, M.Si sebagai Dosen Pembimbing Utama dan drh. Wuryanti Handayani, M.Si sebagai Dosen Pembimbing Anggota yang dengan penuh kesabaran telah membimbing penulis mulai dari penentuan topik sampai dengan bentuk laporan ini.

Banyak pihak yang telah memberi kontribusi dalam penyelesaian tugas akhir ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu. Penulis ucapkan terima kasih kepada Drs. Siswanto, M.Si dan Drs. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D yang telah memberikan ijin penggunaan fasilitas yang ada di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember serta masukan dalam pengambilan data eksperimen. Ucapan terima kasih juga penulis sampaikan kepada para teknisi yang telah membantu menyiapkan bahan dan peralatan laboratorium. Kepada rekan-rekan seangkatan saya ucapkan terima kasih atas segala bantuannya.

Akhirnya penulis berharap skripsi ini dapat memberi kontribusi terhadap kemajuan ilmu pengetahuan khususnya bidang ilmu mikrobiologi kesehatan.

Jember, Maret 2002

Penulis,

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN MOTTO	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN DEKLARASI.....	iv
ABSTRAK.....	v
HALAMAN PENGESAHAN.....	vi
KATA PENGANTAR	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR	xi
I. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Permasalahan.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	3
1.4 Manfaat.....	3
II. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 <i>Candida albicans</i>	4
2.2 Kandidiasis	5
2.3 Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.)	7
2.3.1 Morfologi dan Klasifikasi	7
2.3.2 Kegunaan Srikaya.....	8
III. METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian	10
3.2 Bahan dan Alat	10
3.3 Metode Penelitian.....	10
3.4 Prosedur Penelitian.....	11
3.4.1 Preparasi Ekstrak Biji Srikaya.....	11
3.4.2 Peremajaan Biakan dan Pembuatan Inokulum.....	12
3.4.3 Pengujian Pengaruh Ekstrak Biji Srikaya terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592	13

IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pola Pertumbuhan Normal <i>Candida albicans</i> ATCC 2592....	16
4.2 Pengaruh Macam Fasa Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592.....	19
4.3 Pengujian Pengaruh Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa L.</i>) Fasa Minyak terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592.....	24
V. KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	28
5.2 Saran.....	28
DAFTAR PUSTAKA.....	29
LAMPIRAN	32

DAFTAR TABEL

Tabel	Lampiran	Halaman
1. Komposisi Media Padat <i>Sabouraud's Dextrose Agar</i> (SDA) <i>Emmons's Modification</i>		32
2. Komposisi Media Cair <i>Sabouraud's Dextrose</i> (SD) <i>Emmons's Modification</i>		32
3. Hasil Perhitungan Unit Pembentuk Koloni (CFU/ml) dan Pengukuran pH <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 pada Medium <i>Sabouraud's Dextrose</i> (SD) Cair pada Kondisi Normal		33
4. Hasil Perhitungan Unit Pembentuk Koloni (CFU/ml) dan Pengukuran pH <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 dengan Penambahan Macam Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Fasa Endapan 2,5% (a) dan Fasa Minyak 2,5% (b) serta Etanol absolut 0,0475% (c) pada Medium <i>Sabouraud's Dextrose</i> (SD) Cair		35
5. Hasil Perhitungan Unit Pembentuk Koloni (CFU/ml) dan Pengukuran pH <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 dengan Penambahan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Fasa Minyak dengan Berbagai Konsentrasi pada Medium <i>Sabouraud's Dextrose</i> (SD) Cair.....		38

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Teks	Halaman
1. Morfologi Sel <i>Candida albicans</i> ATCC 2592		16
2. Kurva Pertumbuhan Normal <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 pada Medium SD Cair		17
3. Perubahan pH pada Pertumbuhan Normal <i>Candida albicans</i> ATCC 2592		18
4. Pola Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 pada Medium SD Cair dengan Penambahan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Fasa Minyak 2,5% (a=□) dan Fasa Endapan 2,5% (b=Δ) serta Penambahan Etanol absolut 0,0475% (c=x) dan Kondisi Normal (d=◊)		20
5. Perubahan pH pada Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 pada Medium SD Cair dengan Penambahan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Fasa Minyak 2,5% (a=□) dan Fasa Endapan 2,5% (b=Δ) serta Penambahan Etanol absolut 0,0475% (c=x) dan Kondisi Normal (d=◊).....		22
6. Pola Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 pada Medium SD Cair dengan Penambahan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Fasa Minyak dengan Berbagai Taraf Konsentrasi {0% (a=◊), 5% (b=□), 10% (c=Δ), 15% (d=x) dan 20% (e=*)}		24
7. Pola Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> ATCC 2592 pada Medium SD Cair dengan Penambahan Ekstrak Biji Srikaya (<i>Annona squamosa</i> L.) Fasa Minyak 5%(a=Δ), Perlakuan Pembanding Gentian Violet 1% (b=◊) dan Kondisi Normal (c=□).....		26



I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Akhir-akhir ini para ilmuwan tertarik tentang khamir yang menetap dalam periodontis apikal terutama pada saat terjadi reaksi inflamasi (Waltimo *et al.*, 2000). Selain daripada itu khamir juga diketahui tumbuh pada sebagian besar kulit manusia tanpa menyebabkan suatu penyakit (Lestari, 2000). Dalam kondisi normal khamir yang tumbuh pada sebagian besar kulit manusia bersifat komensal, tetapi dalam kondisi tertentu dapat berkembang menjadi parasit dan patogen oportunistis jika keseimbangan antara keberadaan khamir dan mekanisme pertahanan terganggu (Cuttler, 1985 dalam Gow *et al.*, 1994; Roth & Calmes, 1998).

Menurut Waltimo *et al.* (2000) hasil studi mikrobiologi terakhir menunjukkan bahwa khamir hidup menetap pada daerah periodontitis apikal dalam bentuk biakan murni atau hidup bersama dengan bakteri. Semua isolat khamir tersebut adalah genus *Candida* dan yang terbanyak terdiri dari spesies *Candida albicans* (*C. albicans*).

Populasi *C. albicans* juga terdapat pada saluran pencernaan, kulit dan selaput lendir mulut dan vagina. Karena berbagai faktor seperti menurunnya daya tahan tubuh seseorang, ketidakluputan kulit dan kelembaban lingkungan (Lestari, 2000), kelainan endokrin (diabetes mellitus), pengobatan dengan antibiotik, kortikosteroid, sitostatik dan *immunosupresif* untuk jangka panjang, serta kebersihan mulut yang buruk (Volk dan Wheeler, 1989; Gandahusada *et al.*, 1998), maka pertumbuhan khamir menjadi tidak normal sehingga dapat menimbulkan penyakit infeksi (Lestari, 2000). Penyakit infeksi pada rongga mulut dan daerah kulit tertutup yang disebabkan oleh *Candida* disebut dengan kandidiasis atau kandidosis (Gandahusada *et al.*, 1998; Lestari, 2000). Penyakit ini lebih menarik perhatian lagi setelah pada sepuluh tahun terakhir ini muncul berbagai isu kandidiasis yang dihubungkan dengan sistem kekebalan tubuh, misal *Acquired Immunodeficiency Syndrome* (AIDS).

Pengobatan kandidiasis selama ini melibatkan penggunaan agen antijamur yang tidak dapat diabsorbsi organ tubuh. Antijamur tersebut antara lain yaitu 1) gentian violet 1% yang dioleskan pada kulit dan selaput lendir; 2) derivat azol: klotrimazol, mikonazol, ekonazol, bifonazol, isokonazol, dan tiokonazol; dan 3) senyawa polien : nistatin, amfoterisin-B (Slots dan Taubman, 1992; Shulman *et al.*, 1994; Gandahusada *et al.*, 1998). Pengobatan cara ini disamping mahal juga menimbulkan noda kotor (warna ungu) pada tubuh pasien khususnya penggunaan gentian violet 1% (Newman, 1998) dan dapat menimbulkan efek toksik yang menonjol seperti demam, menggigil, mual, muntah, kegagalan ginjal dan anemia pada penggunaan amfoterisin-B (Jawets *et al.*, 1986). Dengan semakin mahal biaya untuk membeli antibiotik dan adanya efek yang ditimbukannya maka perlu diupayakan mendapatkan bahan alternatif yang dapat digunakan untuk dapat menghambat pertumbuhan *Candida*. Bahan tersebut antara lain ialah ekstrak biji srikaya (*Annona squamosa L*).

Selama ini diketahui bahwa biji srikaya berkhasiat untuk membunuh kutukutu di kepala (Heyne, 1987). Menurut Duke dalam Gunawan (1997) diperkirakan bahwa ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) mempunyai khasiat dapat menghambat pertumbuhan jamur (fungisida), hal ini dikarenakan dalam ekstrak biji srikaya terdapat kandungan senyawa aktif annonaine yang mempunyai efek kandidiasida dan bakteriasida yang kuat. Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan pengujian seberapa besar pengaruh ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* sebagai mikrob anggota dari mikroflora normal yang berpotensi sebagai patogen terhadap manusia.

1.2 Permasalahan

Berdasarkan latar belakang tersebut di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan penelitian ini yaitu bagaimanakah pengaruh dari macam ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui macam ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) yang mempunyai pengaruh terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592.

1.4 Manfaat

Manfaat dari penelitian ini adalah

- 1) memberi sumbangan pengetahuan dan informasi bagi masyarakat, khususnya praktisi bidang kesehatan tentang upaya pencarian bahan alami untuk pengobatan infeksi kandidiasis,
- 2) memberi arahan bagi peneliti lain mengenai kemungkinan pengembangan penelitian lanjut tentang manfaat dari kandungan kimia ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) yang telah diketahui dalam upaya pencarian bahan alami untuk pengobatan berbagai penyakit.



II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

C. albicans merupakan organisme bersel tunggal dari keluarga Cryptococaceae (Haskell dan Gayford, 1993). Organisme ini merupakan suatu khamir lonjong dan bertunas yang menghasilkan pseudohifa baik dalam biakan maupun dalam jaringan dan eksudat. *C. albicans* merupakan anggota mikroflora normal selaput lendir pada saluran pernafasan, saluran pencernaan dan organ genitalia wanita. Pada tempat-tempat tersebut khamir ini dapat menjadi dominan dan bersifat patogen. Kadang-kadang khamir ini menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau kekebalannya tertekan (Jawets *et al.*, 1986).

Secara morfologi, *Candida* dapat tetap hidup dengan tiga bentuk: (1) sel khamir (blastospora, spora aseksual sederhana dengan pembentukan tunas; kemudian tunas akan memisahkan diri dari sel inang); (2) pseudohifa; dan (3) klamidospora. Reproduksi *Candida* secara aseksual yaitu dengan pembentukan tunas yang terjadi dalam sel khamir yang memanjang sampai ke bentuk pseudohifa (Prabhu *et al.*, 1992).

Pertumbuhan dari *C. albicans* cepat dan mencapai optimum dalam 3 hari. Karakteristik morfologi koloni antara lain berwarna krem, lunak dan rata (Larone, 1987). Pada sediaan mikroskopik eksudat, *C. albicans* tampak sebagai khamir lonjong bertunas, Gram-positif, ukurannya $2-3 \times 4-6 \mu\text{m}$, dan sel-sel bertunas yang memanjang menyerupai hifa (pseudohifa). Pada agar Sabourauds yang diinkubasi pada suhu kamar, terbentuk koloni lunak berwarna krem yang mempunyai bau seperti ragi. Pertumbuhan permukaan yang tertutup terdiri dari pseudohifa/pseudomiselium. Pseudohifa ini akan membentuk blastospora pada nodus-nodus dan kadang-kadang terbentuk klamidospora pada ujung-ujungnya (Jawets *et al.*, 1986), dan formasi dari klamidospora dihambat pada suhu $30-37^\circ\text{C}$ (Larone, 1987).

Spesies *Candida* merupakan mikroorganisme yang bersifat fakultatif anaerob yang memerlukan pH dengan kondisi netral sampai asam untuk

pertumbuhan optimal (Odds, 1988 dalam Hannula *et al.*, 2001). Bakteri oral anaerob dan intestinum anaerob menahan kolonisasi dan replikasi dari *C. albicans* (Kennedy, 1985 dalam Hannula *et al.*, 2001), hal ini dimungkinkan karena *C. albicans* tumbuh secara anaerob dan membutuhkan tekanan oksigen yang rendah, serta potensi oksidasi-reduksi negatif (Hannula *et al.*, 2001).

Pertumbuhan *Candida* tergantung dari tersedianya gula, terutama glukosa (Hannula *et al.*, 2001). *C. albicans* mempunyai kemampuan memfermentasikan glukosa dan maltosa; menghasilkan asam dan gas; asam dari sukrosa; dan tidak memfermentasikan laktosa. Dengan pedoman fermentasi karbohidrat, sifat-sifat koloni dan morfologi koloni maka *C. albicans* dapat dibedakan dari spesies *Candida* lainnya (*C. krusei*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *C. tropicalis*, *C. pseudotropicalis*, dan *C. guilliermondii*) yang kadang-kadang juga merupakan anggota mikroflora normal manusia dan kadang-kadang terlibat pula dalam penyakit. *C. albicans* dan *C. stellatoidea* tidak seperti spesies lain, yaitu akan membentuk *germ tubes* dalam 2-3 jam bila ditumbuhkan dalam serum pada 37° C (Jawets *et al.*, 1986; Volk dan Wheeler, 1989)

Harijon (Tanpa Tahun) menyatakan bahwa *C. albicans* ATCC 2592 bersifat patogen dan digunakan sebagai uji dari beberapa senyawa kimia yang berfungsi sebagai antibiotik. Strain ini juga pernah digunakan sebagai uji penghambatan pertumbuhan dari ekstrak daun sirih (*Piper bettle L.*).

2.2 Kandidiasis

Kandidiasis atau kandidosis didefinisikan sebagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh spesies *Candida* (McGinnis *et al.*, 1985; Gandahusada *et al.*, 1998). Secara tradisional beberapa waktu yang lampau 'kandidosis' dan 'moniliasis' telah dipakai untuk menunjukkan infeksi ini, dan kedua istilah tersebut hanya digunakan untuk infeksi tanaman yang disebabkan oleh beberapa anggota dari genus *Monilia*, tetapi secara luas infeksi yang disebabkan oleh spesies *Candida* juga meliputi infeksi pada kuku, kulit, membran mukosa dan organ internal pada manusia (Prabhu *et al.*, 1992).

Kandidiasis merupakan penyakit infeksi utama yang luar biasa dan menyebar di seluruh dunia. Kandidiasis bersifat oportunistis, dan dilaporkan meningkat beberapa tahun terakhir ini. Walaupun tidak dilaporkan frekuensinya di daerah tropik. Kandidiasis dapat berperan sebagai infeksi primer dan infeksi oportunistis (Prabhu *et al.*, 1992). Bila terdapat faktor predisposisi, yaitu keadaan yang menguntungkan pertumbuhan *Candida*, maka *Candida* menimbulkan penyakit primer atau sekunder. Faktor predisposisi tersebut ialah: 1) fisiologik: kehamilan, umur (bayi), siklus menstruasi; 2) non fisiologik: trauma (kerusakan kulit karena pekerjaan, maserasi kulit pada tukang cuci) dan kerusakan mulut (karena tekanan gigi palsu), malnutrisi (defisiensi riboflavin), kelainan endokrin (diabetes melitus), keganasan (karsinoma, leukemia), pengobatan (dengan antibiotik, kortikosteroid, sitostatik dan *imunosupresif*), keadaan umum yang kurang baik, penyakit infeksi lain atau penyakit menahun dan defisiensi imun (AIDS) (Gandahusada *et al.*, 1998). Spektrum infeksi yang disebabkan oleh spesies *Candida* meliputi infeksi pada kuku, kulit, membran mukosa dan organ internal.

Kandidiasis mulut (juga disebut sariawan bayi) paling sering terjadi pada bayi yang baru dilahirkan dan kemungkinan diperoleh sewaktu melalui vagina yang terinfeksi. Sariawan bayi pada anak-anak yang lebih tua atau orang dewasa mungkin terjadi sebagai akibat gangguan endokrin, sebagai komplikasi diabetes, atau karena kebersihan mulut yang buruk, hal ini mungkin juga terjadi setelah pemberian steroid atau antibiotika untuk jangka panjang (Volk dan Wheeler, 1989). Kandidiasis kulit juga ditemukan di bagian kulit lain terutama di daerah ketiak dan sekitar dubur pada anak-anak. Pada bayi sering sebagai akibat perawatan yang kurang baik dan timbul sebagai kemerahan di bagian kulit yang tertutup popok (*diaper rash*) (Gandahusada *et al.*, 1998).

Diaper rush adalah kelainan kulit yang timbul akibat radang di daerah yang tertutup popok, yaitu alat kelamin, sekitar dubur, pantat, lipat paha dan perut bagian bawah. Kelainan kulit ini biasanya sering terjadi pada bayi dan balita kurang dari tiga tahun, paling banyak usia 9 sampai 12 bulan. Menurut Lestari (2000), keadaan tersebut disebabkan karena cara pemakaian popok yang salah,

misalnya tidak segera mengganti popok setelah buang air besar/kecil. Bila keadaan itu dibiarkan, kelainan ini akan menyebabkan komplikasi, seperti sakit pada saat buang air kecil, bahkan kadang-kadang si anak tidak mau buang air kecil karena takut akan nyeri tersebut.

Kandidiasis pada kuku dapat timbul karena kebersihan yang kurang baik di daerah kuku, terutama di bawah kuku. *Candida* mudah tertimbun di bawah kuku sebagai akibat garukan dari kulit yang terinfeksi khamir atau tercemar sewaktu membersihkan diri setelah buang air besar (defekasi). Keadaan yang lembab di bawah dan di sekitar kuku, terutama bila terdapat faktor predisposisi, mempermudah terjadinya infeksi *Candida* di kuku. Keadaan ini sering tidak memberi gejala kecuali bila terjadi paronikia yang menimbulkan rasa sakit. Kuku yang terkena dapat berubah warna, menjadi seperti susu atau warna lain dan rapuh. Kadang-kadang permukaan kuku menimbul dan tidak rata. Kelainan ini dapat mengenai satu, beberapa atau seluruh kuku tangan dan kaki (Gandahusada *et al.*, 1998).

Kandidiasis juga merupakan prediktor terjangkitnya AIDS pada pasien (Slots dan Taubman, 1992). Hal ini dibuktikan bahwa sejumlah penelitian epidemiologi menunjukkan bahwa kandidiasis oral secara umum terdapat pada 50% pasien yang terinfeksi *Human Immunodefisiensy Virus* (HIV) dan 90% pasien AIDS (Sweet *et al.*, 2001). Predisposisi dengan timbulnya infeksi oral adalah akibat dari immunodefisiensi, walaupun kerusakan tidak direspon secara pasti. Tingkat sekresi immunoglobulin A (IgA) dalam saliva pasien yang terinfeksi HIV menunjukkan penurunan (Sweet *et al.*, 1995), walaupun antibodi IgA dalam kelenjar ludah cukup memadai untuk merespon *C. albicans* untuk tetap bertahan dalam tubuh. HIV disebabkan karena sel mukosa mulut kekurangan kekebalan dalam merespon patogen oportunistis seperti *C. albicans*, tetapi hal ini tidak secara luas diterangkan (Sweet *et al.*, 2001).

2.3 Srikaya (*Annona squamosa* L.)

2.3.1 Morfologi dan Klasifikasi

Nama lain dari srikaya antara lain *Custard apple*, *Kaneelappel*, *Pomme De Canella*, *Pommier De Canelle*, *Shurifa*, *Sugar apple*, *Sweetsop*, *Zuckerapfel*, dan srikaya sendiri merupakan nama dari Jawa, Indonesia (Heyne, 1987).

Klasifikasi tanaman srikaya menurut Backer dan Bakhuizen (1968) adalah sebagai berikut:

Divisi	:	Spermatophyta
Sub Divisi	:	Angiospermae
Kelas	:	Dicotyledonae
Ordo	:	Polycarpicae atau Ranunculales
Famili	:	Annonaceae
Genus	:	Annona
Spesies	:	<i>Annona squamosa</i> L.

Srikaya adalah tumbuhan yang perawakannya berupa pohon atau perdu tinggi ± 7 m, batang berkayu, bulat, bercabang, warna coklat kotor. Berdaun tunggal, bentuk bulat telur atau lanset ujungnya tumpul, pangkal meruncing, tepi helai daun rata panjang 6-7 cm, lebar 2-8 cm. Pertulangan daun menyirip, warna helai daun hijau keputihan, hijau. Bunga tunggal, bentuk lonceng, kelopak segitiga, kecil, benang sari banyak, warna putih dengan tangkai sari panjang. Kepala putik menyatu. Bakal buah banyak dan mudah rontok. Mahkota bunga berdaging tebal, panjang antara 2-2,5 cm berwarna kekuningan. Buah majemuk, buni, bulat, kulitnya berbontol-bontol cantik, warna hijau berbedak putih berupa lapisan lilin mengkilat, diameter buah 5-10 cm, rasa daging buah enak, sangat manis. Biji berbentuk bulat telur warna hitam legam. Akar tunggang bulat, warna kecoklatan (Backer dan Bakhuizen, 1968; Widyastuti, 1993).

2.3.2 Kegunaan Srikaya

Secara tradisional bagian dari tanaman srikaya yang dimanfaatkan antara lain buah dan biji. Buah srikaya yang masih mentah sejak dulu telah digunakan masyarakat sebagai penggugur kandungan (*abortifacient*), buah matang dipakai

untuk menyembuhkan luka memar, memperkuat ikatan plasma darah (*cataplastic*), mendatangkan kantuk (*soporific*), menerbitkan rangsang agar siuman dari pingsan, bijinya untuk anti serangga (insektisida), untuk mematangkan bisul, pencahar (*purgative*), dan obat kompres untuk mencegah luka bernanah (*suppurative*). Di negara-negara lain buahnya dimakan untuk menurunkan demam (India), melancarkan pencernaan (Venezuela), untuk obat cacing (Panama), untuk meredakan kejang (Dominican republic), meringankan diare, penurun demam, melancarkan kencing dan memperbaiki pencernaan (Haiti), bijinya untuk antitumor (India, Gabon, Kuba, Jamaica), untuk obat cacing dan antiserangga (Jerman), kulit buah untuk astringensia (Iran), *tonicum* (Arab), dan sebagai obat luar untuk mematangkan bisul serta antijerawat (Jawa) (Heyne, 1987; Duke dalam Gunawan, 1997).

Menurut Duke dalam Gunawan (1997) data khasiat yang menyertai kandungan kimia tanaman srikaya berikut sebagian besar didapat dari hasil laporan penelitian atas senyawa-senyawa isolat yang berada dalam keadaan murni serta tunggal, bukan sebagai obat gubal. Kandungan senyawa kimia aktif dalam biji srikaya yang telah diketahui antara lain: Annonasin, Annonasin-A, Annonastatin, Annonin-I, Annonin-VI, Annonaine, Asimisin, Neoannonin dan Squamosin. Disamping sebagai obat antiserangga, annonaine dalam biji srikaya mempunyai efek farmakologi sebagai kandidiasida dan bakteriasida yang kuat.



III. METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Tempat dan Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi dan Laboratorium Kimia, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Jember mulai bulan Juli sampai bulan November 2001.

3.2 Bahan dan Alat

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini antara lain *C. albicans* ATCC 2592 yang berasal dari *Tropical Disease Center* (TDC), Universitas Airlangga Surabaya, akuadest steril, gentian violet 1%, *Metilen Blue*, medium *Sabourauds Dextrose Agar* (SDA) padat (Tabel Lampiran 1), SD cair (Tabel Lampiran 2), SDA miring, alkohol 70%, biji srikaya yang diperoleh dari Pasar Tanjung-Jember, etanol absolut, es batu dan garam.

Sedangkan alat-alat yang dipergunakan antara lain: cawan Petri, labu Erlenmeyer, *autoclave*, pipet volume, gelas ukur, jarum ose, mikropipet, gelas piala (*beaker glass*), timbangan, *tissue*, *vortex*, kertas saring, tabung reaksi, oven, inkubator, alat penumbuk (*mortar*), *rotary evaporator*, *quebec colony counter*, rak tabung reaksi, botol semprot, penangas air, pH meter, bunsen, korek api, label, tabung *Eppendorf*, seperangkat alat ekstraksi *soxhlet*, kapas dan benang.

3.3 Metode Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan perlakuan berupa penambahan ekstrak biji srikaya terhadap pertumbuhan *C. albicans* pada medium SD cair. Percobaan ini dilaksanakan dengan rancangan percobaan *trial and error*, dengan ulangan sebanyak dua (2) kali. Perlakuan pada percobaan ini terdiri dari lima (5) taraf yaitu:

- B0 = tanpa penambahan ekstrak biji srikaya (0%)
- B1 = ekstrak biji srikaya sebanyak 5%
- B2 = ekstrak biji srikaya sebanyak 10%

B3 = ekstrak biji srikaya sebanyak 15%

B4 = ekstrak biji srikaya sebanyak 20%

Sebagai pembanding dibuat perlakuan dengan penambahan gentian violet 1% yang terdiri dari dua (2) kali ulangan. Untuk mengetahui pengaruh perlakuan penambahan ekstrak biji srikaya dari data yang dihasilkan dalam penelitian ini dianalisis dengan melihat perbedaan pola pertumbuhan dari *C. albicans* yang digambarkan dengan grafik kurva pertumbuhan dengan grafik kurva pertumbuhan normal.

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Preparasi Ekstrak Biji Srikaya

Biji srikaya diambil dari buah masak yang berasal dari Pasar Tanjung (Jember). Biji srikaya yang sudah dicuci bersih, kemudian dikeringkan dibawah sinar matahari. Selanjutnya biji srikaya yang sudah kering tersebut dihaluskan. Kemudian untuk mendapatkan ekstrak dari biji srikaya dilakukan dengan cara ekstraksi *soxhlet* (Matsjeh, 1993). Ekstraksi dilakukan dengan rincian kerja sebagai berikut: menghaluskan biji srikaya yang telah ditimbang sebanyak 10 gram, kemudian dimasukkan ke dalam tabung ekstraksi *soxhlet* dalam *thimble*. Air pendingin dialirkan melalui kondensor. Tabung ekstraksi dipasang pada alat destilasi dengan pelarut etanol absolut secukupnya selama 4 jam. Setelah residu dalam tabung ekstraksi di aduk, ekstraksi dilanjutkan lagi selama 2 jam dengan pelarut yang sama. Etanol absolut yang telah mengandung ekstrak biji srikaya dipindahkan ke dalam botol timbang yang telah bersih dan diketahui beratnya, kemudian diuapkan dengan *rotary evaporator* sampai terbentuk gel ekstrak biji srikaya. Gel ekstrak biji srikaya terdiri dari dua fasa yaitu minyak dan endapan. Fasa minyak dan endapan dipisahkan dengan menggunakan kertas saring.

3.4.2 Peremajaan Biakan dan Pembuatan Inokulum

a. Peremajaan biakan

Sebelum digunakan untuk penelitian, biakan *C. albicans* diuji kemurniannya dengan menggunakan pewarna sederhana *Metilen Blue*. Setelah

diketahui kemurniannya, biakan murni *C. albicans* diremajakan dengan menumbuhkan pada media SD cair, kemudian biakan diinkubasikan pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah tumbuh dengan baik, dipindahkan sekali lagi ke dalam medium SD cair dengan suhu dan lama inkubasi yang sama.

b. Pembuatan inokulum

Pembuatan inokulum diawali dengan mengambil 1 ml biakan *C. albicans* hasil peremajaan dalam medium cair ke dalam 10 ml SD cair, kemudian diinkubasi selama 3 hari pada suhu 30°C. Setelah itu mengambil kembali inokulum yang sudah diinkubasi sebanyak 10% dari jumlah media SD cair untuk pembuatan stok inokulum, kemudian inkubasi pada suhu 30°C. Selama inkubasi dilakukan perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml dengan selang waktu 12 jam. Pada waktu jam ke-0 diambil 1 ml biakan dan dilakukan pengenceran berseri dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Suspensi yang ditanam dalam cawan agar SD hanya pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Penanaman suspensi sebanyak 20 μl pada masing-masing pengenceran dilakukan sebanyak dua kali (duplo). Setelah beberapa saat dibiarkan meresap ke dalam medium, biakan diinkubasikan secara terbalik pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah inkubasi dilakukan pengamatan terhadap pertumbuhan *C. albicans* dan penghitungan jumlah koloni yang terlihat secara makroskopis. Perlakuan yang sama juga berlaku untuk jam ke-12 sampai jam ke-72. Perhitungan jumlah unit pembentuk koloni menurut Fardiaz (1993) dilakukan dengan rumus sebagai berikut:

$$\text{Jumlah koloni} = \text{Jumlah koloni} \times 1/\text{Faktor pengenceran per cawan.}$$

Hasil perhitungan unit pembentuk koloni/ml digunakan untuk mengetahui kurva pertumbuhan *C. albicans*.

Kurva pertumbuhan *C. albicans* selanjutnya digunakan untuk menentukan lama inkubasi *C. albicans* dalam mendapatkan jumlah unit pembentuk koloni/ml maksimal (CFU/ml) sebagai inokulum. Setelah diketahui jumlah unit pembentuk

koloni/ml maksimal (CFU/ml) kemudian dibuat stok inokulum *C. albicans* sebanyak 24 ml dengan lama inkubasi yang sesuai.

3.4.3 Pengujian Pengaruh Ekstrak Biji Srikaya terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 2592

a. Preparasi medium uji

Medium uji yang digunakan adalah SD cair yang mengandung ekstrak biji srikaya fasa minyak dengan konsentrasi 0%, 5%, 10%, 15% dan 20%. Sebagai perlakuan pembanding digunakan medium uji SD cair yang mengandung gentian violet 1%. Cara membuat medium uji yaitu medium SD cair sebanyak @ 24 ml ditambah dengan ekstrak biji srikaya fasa minyak sesuai dengan masing-masing taraf perlakuan untuk satu (1) kali ulangan. Misalkan pengujian konsentrasi ekstrak biji srikaya fasa minyak 5%, maka ekstrak biji srikaya fasa minyak yang ditambahkan dalam 24 ml medium SD cair yaitu sebanyak 1,2 gram. Setelah itu medium uji disterilkan dengan *autoclave*, dan kemudian medium uji siap untuk diinokulasi dengan inokulum.

b. Pengujian macam fasa ekstrak biji srikaya terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 2592

Biakan *C. albicans* sebelumnya sudah diremajakan dalam medium SD cair, kemudian dipersiapkan sebagai inokulum untuk diuji sensitivitasnya terhadap ekstrak biji srikaya yang berupa fasa minyak dan endapan dengan konsentrasi 2,5%. Medium uji SD cair sebanyak @ 15 ml yang sudah mengandung macam ekstrak biji srikaya dengan konsentrasi 2,5% (w/v) disterilisasi dengan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit kemudian diinokulasi dengan inokulum hingga memiliki kerapatan sel 10^6 CFU/ml. Untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak biji srikaya fasa minyak terhadap pertumbuhan *C. albicans* maka dilakukan perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml (CFU/ml) setiap interval waktu 12 jam selama 3 hari. Setiap pengamatan dilakukan dengan mengambil 2 ml biakan cair untuk pengamatan pH dan 1 ml untuk perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml. Hasil perhitungan

jumlah unit pembentuk koloni dan pengamatan pH dimasukkan sebagai data dan digambarkan sebagai grafik kurva pertumbuhan *C. albicans*.

Perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml dilakukan dengan metode *Total Plate Count* (TPC) pada medium SDA. Sebelum dibiakkan dalam medium SDA pada cawan Petri untuk perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml, terlebih dahulu sampel biakan cair dilakukan pengenceran berseri mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Suspensi sampel yang ditanam hanya dilakukan pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Penanaman suspensi sampel pada masing-masing pengenceran dilakukan sebanyak dua kali (duplo), kemudian biakan diinkubasikan secara terbalik pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan koloni *C. albicans* dihitung dan ditetapkan sebagai jumlah CFU/ml (jumlah sel pada jam ke-0). Perlakuan yang sama juga berlaku untuk kontrol yaitu penambahan etanol absolut 0,0475%. Pengaruh dari macam ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan konsentrasi sesuai perlakuan pada medium SD cair diketahui dengan membandingkan pola pertumbuhannya.

- c. Pengujian aktivitas ekstrak biji srikaya fasa minyak terhadap pertumbuhan *Candida albicans* ATCC 2592

Biakan *C. albicans* sebelumnya sudah diremajakan dalam medium SD cair, kemudian dipersiapkan sebagai inokulum untuk diuji sensitivitasnya terhadap ekstrak biji srikaya dengan berbagai taraf perlakuan. Medium uji SD cair sebanyak @ 24 ml yang sudah mengandung ekstrak biji srikaya fasa minyak dengan konsentrasi tertentu untuk setiap perlakuan dan ulangan dipersiapkan, kemudian diinokulasi dengan 3,8 ml inokulum (kerapatan sel maksimal $6,3 \cdot 10^6$ CFU/ml) sehingga biakan tersebut memiliki kerapatan sel 10^6 CFU/ml. Untuk mengetahui adanya pengaruh ekstrak biji srikaya fasa minyak terhadap pertumbuhan *C. albicans* maka dilakukan perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml (CFU/ml) setiap interval waktu 12 jam selama 3 hari. Setiap pengamatan dilakukan dengan mengambil 2 ml biakan cair untuk pengamatan pH dan 1 ml untuk perhitungan jumlah unit pembentuk koloni/ml.

Perhitungan jumlah unit pembentuk koloni menggunakan metode *Total Plate Count* (TPC) dengan medium SDA. Sebelum dibiakkan dalam medium SDA pada cawan Petri untuk perhitungan jumlah sel, terlebih dahulu sampel biakan cair dilakukan pengenceran berseri mulai dari 10^{-1} sampai 10^{-5} . Suspensi sampel yang ditanam hanya dilakukan pada pengenceran 10^{-3} , 10^{-4} dan 10^{-5} . Penanaman suspensi sampel pada masing-masing pengenceran dilakukan sebanyak dua kali (duplo), kemudian biakan diinkubasikan secara terbalik pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah inkubasi, pertumbuhan koloni *C. albicans* dihitung dan ditetapkan sebagai jumlah CFU/ml (jumlah sel pada jam ke-0). Untuk selanjutnya perlakuan yang sama juga berlaku pada jam ke-12 sampai jam ke 72, begitu pula untuk perlakuan pembanding yaitu penambahan gentian violet 1%. Pengaruh ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) fasa minyak dengan berbagai konsentrasi sesuai taraf perlakuan terhadap pertumbuhan *C. albicans* pada medium SD cair diketahui dengan membandingkan pola pertumbuhannya.



V. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan analisis data penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

- 1) ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) fasa minyak 2,5% relatif tidak berpengaruh terhadap peningkatan pertumbuhan sel, tetapi lebih berpengaruh pada mempercepat fase kematian *C. albicans* ATCC 2592 dibandingkan dengan ekstrak biji srikaya fasa endapan 2,5% dan etanol 0,0475%,
- 2) perlakuan penambahan bentuk ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) fasa minyak dengan perlakuan konsentrasi 5% pada medium SD cair berpengaruh terhadap pertumbuhan *C. albicans* ATCC 2592 dalam mempercepat fase stationer dibandingkan dengan konsentrasi 10%, 15% dan 20%.

5.2 Saran

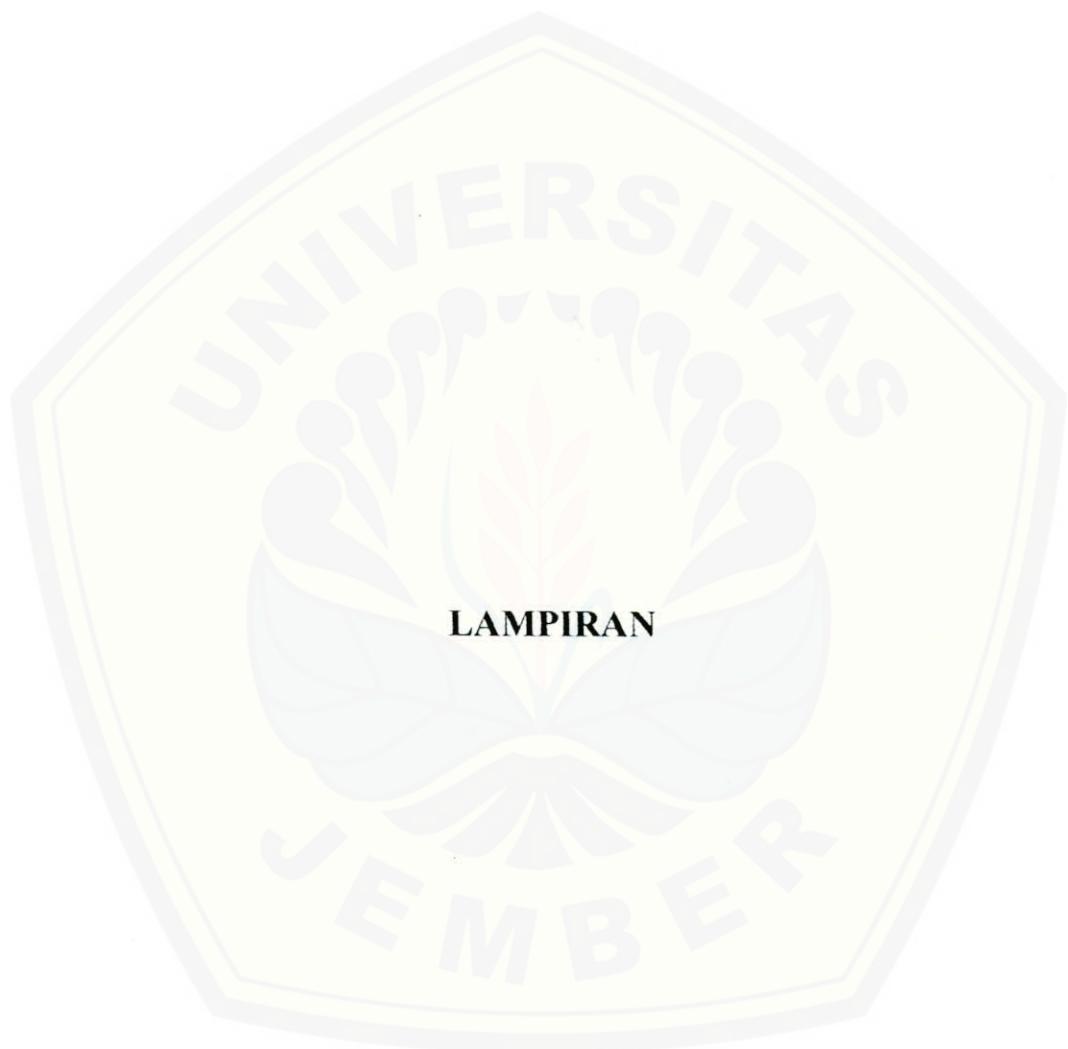
Perlu adanya penelitian lebih lanjut yaitu mengenai pemilihan metode ekstraksi yang tepat untuk mendapatkan ekstrak biji srikaya (*A. squamosa*) dengan konsentrasi kandungan bahan aktif yang lebih tinggi untuk menjelaskan daya penghambatannya terhadap pertumbuhan isolat *C. albicans* ATCC 2592.

DAFTAR PUSTAKA

- Backer, G.A. and R.C.B. Bakhuizen. 1968. *Flora of java*. Vol 2. Groningen: P. Noordhoff.
- Bettarini, F., G.E. Borgonovi, T. Fiorani, I. Gagliardi, V. Caprioli, P. Massardo, J.I.J. Ogoche, A. Hassanali, E. Nyandat dan A. Chapy. 1993. "Antiparasitic Compounds from East African Plants: isolation and biological activity of annonaine, matricarianol, canthin-6-one and caryophyllene oxide". Dalam *Insect-Sci-Appl.* Vol 14 (1). p. 93-99.
- Dharmaputra, O.S., I. Retnowati, H. Affandi dan R.M.N. Sidauruk. 1995. "Hambatan Pertumbuhan *Aspergillus candidus*, *A. Flavus*, dan *Penicillium citrinum* pada Ekstrak Kunyit dan Lada Hitam". Dalam *Hayati Jurnal Biosains*. Vol 6, No.4 Desember 1999. Bogor. p. 103-105.
- Fardiaz, S. 1993. *Analisis Mikrobiologi Pangan*. Jakarta: Raja Grafindo Persada. p. 40.
- Fessenden, R.J. dan J.S. Fessenden. 1982. *Kimia Organik*. Jilid 2. Edisi ketiga. Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Jakarta: Erlangga. p. 272.
- Gandahusada, S., H.H.D. Illahade, dan W. Pribadi. 1998. *Parasitologi Kedokteran*. Edisi ketiga. Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. p. 314-318.
- Gow, N.A.R., B. Hube, D.A. Bailey, D.A. Schofield, C. Munro, R.K. Swoboda, G. Bertram, C. Westwater, I. Broadbent, R.J. Smith, G.W. Gooday, and A.J.P. Brown. 1994. "Genes assosiated with dimorphism and virulence of *Candida albicans*". Dalam *Canadian Journal of Botany*. 73 (Suppl. 1). p. S335-S342.
- Grenand, P., C. Moretti and H. Jacquinin. 1987. *Pharmacopees Traditionnelles en Guyane*. Paris: FORSTROM. p. 569.
- Gunawan, D. 1997. *Srikaya di Internet*. Yogyakarta: Bagian Biologi Farmasi, Fakultas Farmasi UGM bekerjasama dengan Herbal net.
- Hakim, E.H., S.A. Achmad, L. Makmur, D. Mujahidin dan Y.M. Syah. 2001. "Profil Kimia Annonaceae". Dalam *Buletin of the Indonesian Society of Natural Products Chemistry*. Vol. 1, No. 1 Januari-Juni 2001.p. 1-12.

- Hannula, J., B. Dogan, J. Slots, E. Okte and S. Asikainen. 2001. "Subgingival Strains of *Candida albicans* in relation to geographical origin and occurrence of periodontal pathogenic bacteria". Dalam *Oral Microbiology and Immunology*. 16. p. 113-118.
- Harijon, S. Tidak dipublikasikan.
- Haskell, R. & J.J. Gayford. 1993. *Penyakit Mulut*. Terjemahan Lilian Yuwono. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. p. 56-58.
- Heyne, K. 1987. *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Terjemahan Badan Litbang Departemen kehutanan. Jakarta: Sarana Wana Jaya. p. 776-777.
- Jawets, E., J. L. Melnick & E. A. Adelberg. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan*. Edisi 16. Terjemahan H. Tonang. Jakarta: EGC Penerbit Buku Kedokteran. p. 382-384.
- Larone, D. H. 1987. *Medically Important Fungi: A guide to Identification*. Second edition. American Societist for Microbiologist. Washington DC. New York: Department of Pathology Lenox Hill Hospital. p: 54.
- Lestari, T. 2000. "Pertumbuhan Jamur Berlebih Sebabkan Infeksi". Dalam *Kompas Newspaper*. 05 Juli 2000. Jakarta.
- Madigan, M.T., J.M. Martinko and J. Parker. 1997. *Biology of Microorganisms*. Eighth edition. New Jersey: Prentice Hall International, Inc. p. 456 – 459.
- Matsjeh, S. 1993. *Hand Out Kimia Bahan Alam: Biosintesis Senyawa Metabolit Sekunder Tumbuhan (Biosisntesis Flavonoid, Terpenoid dan Alkaloid)*. Yogyakarta: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Gadjah Mada.
- McGinnis, M.R., L. Ajello and W.A. Schell. 1985. "Mycotic Disease". A proposed nomenclature. Dalam *International Journal of Dermatology*. 24. p. 9-15.
- Newman, J. 1998. "Using Gentian Violet". Dalam *Supporting the people who support breast feeding*. <http://www.bflrc.com>.
- Prabhu, S.R., D.F. Wilson, D.K. Daftary and N.W. Johnson. 1992. *Oral Disease in the Tropics*. New York: Oxford University Press. p: 158-167.
- Roth, G.I. & R. Calmes. 1998. *Mikrobiologi Oral*. Terjemahan Purwanto dari Program Studi Kedokteran Gigi. Universitas Jember. Jember: Departemen Pendidikan dan Kebudayaan. Program Studi Kedokteran Gigi. Universitas Jember. p. 3-9.

- Shulman, S.T., J.P. Phair & H.M. Sommers. 1994. *Dasar Biologis dan Klinis Penyakit Infeksi*. Terjemahan A. Samik Wahab. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. p. 237.
- Slots, J. and M. A. Taubman. 1992. *Contemporary Oral Microbiology and Immunology*. New York: Mosby-Year Books Inc. p. 374-375.
- Sweet, S.P., D. Rahman and S.J. Challacombe. 1995. "IgA subclasses in HIV disease: dichotomy between raised levels in serum and decreased secretion rates in saliva". Dalam *Immunology*. 86. p. 556-559.
- _____, A.N. Denbury and S.J. Challacombe. 2001. "Salivary calprotectin levels are raised in patients with oral candidiasis or Sjogren's Syndrome but decreased by HIV infection". Dalam *Oral Microbiology and Immunology*. 16. p. 119-123.
- Volk, W. A. & Wheler, M. F. 1989. *Mikrobiologi Dasar*. Jilid 2. Edisi kelima. Terjemahan Soenarto Adisoemarto. Jakarta: Penerbit Erlangga. p: 195-196.
- Waltimo, T.M.T, D. Ørstavik, J.H. Meurman, L.P. Samaranayake and M.P.P. Haapsalo. 2000. "In Vitro Susceptibility of Candida albicans isolates from apical and marginal periodontitis to Common antifungal agents". Dalam *Oral Microbiology and Immunology*. 15. p. 245-248.
- Widyastuti, Y.E. dan F.B. Paimin. 1993. *Mengenal Buah unggul Indonesia*. Jakarta: Penebar Swadaya.



Tabel Lampiran 1. Komposisi Media Padat *Sabouraud's Dextrose Agar (SDA)* *Emmons's Modification*

Bahan	Jumlah (%)
Dextrose	2
Neopeptone	1
Aquadest steril	100
Agar	1,7
pH akhir.....	6,8 – 7,0

Tabel Lampiran 2. Komposisi Media Cair *Sabouraud's Dextrose (SD) Emmons's Modification*

Bahan	Jumlah (%)
Dextrose	2
Neopeptone	1
Aquadest steril	100
pH akhir.....	6,8 – 7,0

Tabel Lampiran 3. Hasil Perhitungan Unit Pembentuk Koloni (CFU/ml) dan Pengukuran pH *Candida albicans* ATCC 2592 pada Medium Sabouraud's Dextrose Cair pada Kondisi Normal.

Peng amat an Jam ke-	Penge nceran	Ula nga n	Jumlah Koloni					CFU/ ml (rata- rata)	Log	pH			
			(20 µl)			Total 1 ml							
			Hari 1	Hari 2	Rata- rata								
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
0	10^{-3}	1	28	+0	29	1450	$1,5 \cdot 10^6$						
		2	30	+0									
		1	0	+0	1	50	$0,5 \cdot 10^6$	$1,5 \cdot 10^6$	6,18	5,27			
		2	2	+0									
		1	1	+0	0,5	25	$2,5 \cdot 10^6$						
	10^{-5}	2	0	+0									
		12	63	+1	67,5	3375	$3,4 \cdot 10^6$						
		2	71	+0									
		1	7	+0	7	350	$3,5 \cdot 10^6$	$3,1 \cdot 10^6$	6,49	4,30			
		2	7	+0									
24	10^{-3}	1	103	+3	107,	5375	$5,4 \cdot 10^6$						
		2	109	+0	5								
		1	13	+1	12	600	$6 \cdot 10^6$	$6,3 \cdot 10^6$	6,8	3,58			
		2	8	+2									
		1	1	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$						
	10^{-5}	2	1	+1									
		36	137	+4	143,	7175	$7,2 \cdot 10^6$						
		2	143	+3	5								
		1	16	+1	22,5	1125	$11,3 \cdot 10^6$	$8,7 \cdot 10^6$	6,94	3,38			
		2	28	+0									
48	10^{-3}	1	1	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$						
		2	2	+0									
		1	135	+3	131	6550	$6,6 \cdot 10^6$						
		2	123	+1									
		1	21	+0	22,5	1125	$11,3 \cdot 10^6$	$8,5 \cdot 10^6$	6,93	3,49			
	10^{-5}	2	24	+0									
		1	0	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$						
		2	3	+0									
		60	184	+5	180,	9025	$9 \cdot 10^6$						
		2	172	+0	5								
	10^{-4}	1	20	+3	19,5	975	$9,8 \cdot 10^6$	$9,6 \cdot 10^6$	6,98	3,50			

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
			2	16	+0	.					
		10^{-5}	1	0	+2	2	100	$10 \cdot 10^6$			
			2	1	+1						
72		10^{-3}	1	148	+6	156	7800	$7,8 \cdot 10^6$	$8,5 \cdot 10^6$		
			2	153	+5						
		10^{-4}	1	17	+0	16,5	825	$8,3 \cdot 10^6$	$9,6 \cdot 10^6$	6,9	3,20
			2	15	+1						
		10^{-5}	1	1	+2	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$	$7,9 \cdot 10^6$		
			2	0	+0						

Ket: pH medium awal = 6,38

Tabel Lampiran 4. Hasil Perhitungan Unit Pembentuk Koloni (CFU/ml) dan Pengukuran ph *Candida albicans* ATCC 2592 dengan Penambahan Macam Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) Fasa Endapan 2,5% (a) dan Fasa Minyak 2,5% (b) serta Etanol Absolut 0,0475% (c) pada Medium *Sabouraud's Dextrose* Cair.

Ekstrak	Penanganan	Penanganan	Ulangan	Jumlah Koloni (20 µl)			Total 1 ml	CFU/ml	CFU/ml (rata-rata)	Log	pH
				Hari 1	Hari 2	Rata-rata					
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
a)	0	10^{-3}	1	14	+0	17	850	0,85.1 ⁰ ⁶			
			2	20	+0						
		10^{-4}	1	5	+0	20	125	$1,3.10^6$	$7,2.10^5$	5,88	5,00
			2	0	+0						
		10^{-5}	1	0	+0	2,5	0	0	0		
			2	0	+0						
	12	10^{-3}	1	133	+1	114	5700	$5,7.10^6$			
			2	94	+0						
		10^{-4}	1	12	+0	12	600	6.10^6	$7,2.10^6$	7,4	4,38
			2	8	+4						
		10^{-5}	1	4	+0	2	100	10.10^6			
			2	0	+0						
24	10^{-3}	1	223	+0	222,5	1112	1.10^7				
		2	222	+0			5				
		10^{-4}	1	32	+0	36,5	1825	$1,8.10^7$	$1,6.10^7$	7,8	3,61
			2	41	+0						
		10^{-5}	1	1	+0	4	200	2.10^7			
			2	7	+0						
	36	10^{-3}	1	185	+0	168	8400	$8,4.10^6$			
			2	151	+0						
		10^{-4}	1	30	+0	28	1400	14.10^6	$16,6.10^6$	7,6	3,79
			2	26	+0						
		10^{-5}	1	4	+0	5,5	275	$27,5.10^6$			
			2	7	+0						
48	10^{-3}	1	152	+0	151,5	7575	$7,6.10^6$				
		2	151	+0							
		10^{-4}	1	9	+0	19,5	975	$9,8.10^6$	$9,1.10^6$	7,56	3,81
			2	30	+0						
	10^{-5}	1	1	+0	2	100	10.10^6				
		2	3	+0							

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
b)	0	10^{-3}	1	17	+0	20,5	1025	$10 \cdot 10^5$			
			2	24	+0						
		10^{-4}	1	3	+0	2,5	125	$12,5 \cdot 10^5$	$7,5 \cdot 10^5$	5,86	4,94
			2	2	+0			10^5			
		10^{-5}	1	0	+0	0	0	0			
			2	0	+0						
12		10^{-3}	1	412	+0	418	20900	$20,9 \cdot 10^6$			
			2	424	+0			10^6			
		10^{-4}	1	50	+0	43	2150	$21,5 \cdot 10^6$	$25,8 \cdot 10^6$	6,86	4,78
			2	36	+0			10^6			
		10^{-5}	1	4	+0	7	350	$35 \cdot 10^6$			
			2	10	+0						
24		10^{-3}	1	tbd	+0	-	-	-			
			2	tbd	+0						
		10^{-4}	1	tbd	+0	-	-	-	$6,8 \cdot 10^7$	7,2	3,92
			2	tbd	+0						
		10^{-5}	1	13	+1	13,5	675	$6,8 \cdot 10^7$			
			2	13	+0						
36		10^{-3}	1	371	+0	346,5	17325	$1,7 \cdot 10^7$			
			2	322	+0						
		10^{-4}	1	110	+0	108	5400	$5,4 \cdot 10^7$	$4,1 \cdot 10^7$	7,2	4,08
			2	106	+0						
		10^{-5}	1	12	+0	10,5	525	$5,3 \cdot 10^7$			
			2	9	+0						
48		10^{-3}	1	431	+0	421	21050	$2,1 \cdot 10^7$			
			2	411	+0						
		10^{-4}	1	87	+0	80	4000	$4 \cdot 10^7$	$3,6 \cdot 10^7$	6,96	4,62
			2	73	+0						
		10^{-5}	1	4	+0	9,5	475	$4,8 \cdot 10^7$			
			2	15	+0						

1 c)	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
	0	10^{-3}	1	17	+0	48,5	925	$9,3 \cdot 10^5$			
			2	20	+0						
		10^{-4}	1	3	+1	2,5	125	$12,5 \cdot 10^5$	$7,3 \cdot 10^5$	5,86	5,15
			2	1	+0						
		10^{-5}	1	1	+0	0	0	0			
			2	0	+0						
12		10^{-3}	1	79	+0	83	4150	$4,2 \cdot 10^6$			
			2	90	+0						
		10^{-4}	1	20	+0	19	950	$9,5 \cdot 10^6$	$6,2 \cdot 10^6$	6,79	4,09
			2	18	+0						
		10^{-5}	1	2	+0	1	50	$5 \cdot 10^6$			
			2	0	+0						
24		10^{-3}	1	187	+0	194	9700	$9,7 \cdot 10^6$			
			2	201	+65						
		10^{-4}	1	43	+0	38,5	1925	$19,3 \cdot 10^6$	$15,5 \cdot 10^6$	7,19	2,77
			2	34	+0						
		10^{-5}	1	5	+0	3,5	175	$17,5 \cdot 10^6$			
			2	2	+0						
36		10^{-3}	1	165	+0	170	8500	$8,5 \cdot 10^6$			
			2	175	+0						
		10^{-4}	1	23	+0	21,5	1075	$10,8 \cdot 10^6$	$11,4 \cdot 10^6$	7,06	2,74
			2	20	+0						
		10^{-5}	1	5	+0	3	150	$15 \cdot 10^6$			
			2	1	+0						
48		10^{-3}	1	189	+0	194	9700	$9,7 \cdot 10^6$			
			2	199	+0						
		10^{-4}	1	21	+0	22,5	1125	$11,3 \cdot 10^6$	$17 \cdot 10^6$	7,23	2,68
			2	24	+0						
		10^{-5}	1	4	+0	6	300	$30 \cdot 10^6$			
			2	8	+0						

Ket: pH medium awal = 6,1 (a); 6,5 (b); 5,7 (c).

Tabel Lampiran 5. Hasil Perhitungan Unit Pembentuk Koloni (CFU/ml) dan Pengukuran pH *Candida albicans* ATCC 2592 dengan Penambahan Ekstrak Biji Srikaya (*Annona squamosa* L.) Fasa Minyak dengan Berbagai Perlakuan (Konsentrasi) pada Medium Sabouraud's Dextrose (SD) Cair.

Per lak. Eks	Peng matan Jam ke-	Ul. Per lak u.	Pen gen cer an	Ul. Pen gen cer.	Jumlah Koloni (20µl)			Total ml	CFU/ml	CFU/ml (rata-rata)	Log
					hari 1	Hari 2	Rata- rata				
1 0%	I	10 ⁻³	1	29	+0	29,5	1475	1,48.10 ⁶			
		10 ⁻⁴	2	30	+0						
		10 ⁻⁴	1	1	+0	0,5	25	0,25.10 ⁶			
		10 ⁻⁵	2	0	+0						
		10 ⁻⁵	1	0	+0	0	0	0	0		
	II	10 ⁻³	2	0	+0						
		10 ⁻³	1	31	+0	29,5	1475	1,48.10 ⁶	7,45.10 ⁵	5,87	
		10 ⁻⁴	2	28	+0						
		10 ⁻⁴	1	2	+0	2,5	125	1,25.10 ⁶			
		10 ⁻⁵	2	3	+0						
12	I	10 ⁻³	1	45	+0	49	2450	2,45.10 ⁶			
		10 ⁻³	2	53	+0						
		10 ⁻⁴	1	6	+0	6,5	325	3,25.10 ⁶			
		10 ⁻⁴	2	7	+0						
		10 ⁻⁵	1	1	+0	0,5	25	2,5.10 ⁶			
	II	10 ⁻³	2	0	+0						
		10 ⁻³	1	46	+1	51,5	2575	2,58.10 ⁶	3,76.10 ⁶	6,58	
		10 ⁻⁴	2	56	+0						
		10 ⁻⁴	1	8	+0	8,5	425	4,25.10 ⁶			
		10 ⁻⁵	2	9	+0						
24	I	10 ⁻³	1	117	+0	118,5	5925	5,93.10 ⁶			
		10 ⁻³	2	120	+0						
		10 ⁻⁴	1	12	+0	13,5	675	6,75.10 ⁶			
		10 ⁻⁴	2	15	+0						
		10 ⁻⁵	1	3	+0	2,5	125	12,5.10 ⁶			
	II	10 ⁻³	2	2	+0						
		10 ⁻³	1	130	+0	115,5	5775	5,78.10 ⁶	7,49.10 ⁶	6,87	
	II	10 ⁻⁴	2	101	+0						
		10 ⁻⁴	1	16	+0	13	650	6,5.10 ⁶			

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
				2	10	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$		
				2	1	+0					
36	I	10^{-3}	1	115	+2	130	6500	$6,5 \cdot 10^6$			
			2	143	+0						
		10^{-4}	1	24	+0	21,5	1075	$10,75 \cdot 10^6$			
			2	19	+0						
		10^{-5}	1	2	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$			
			2	1	+0						
										$8,1 \cdot 10^6$	6,91
48	II	10^{-3}	1	166	+0	157,5	7875	$7,88 \cdot 10^6$			
			2	149	+0						
		10^{-4}	1	23	+0	22	1100	$11 \cdot 10^6$			
			2	21	+0						
		10^{-5}	1	1	+0	1	50	$5 \cdot 10^6$			
			2	1	+0						
60	I	10^{-3}	1	96	+2	105,5	5275	$5,28 \cdot 10^6$			
			2	111	+2						
		10^{-4}	1	11	+1	14	700	$7 \cdot 10^6$			
			2	16	+0						
		10^{-5}	1	1	+0	0,5	25	$2,5 \cdot 10^6$			
			2	0	+0						
										$7,07 \cdot 10^6$	6,85
72	II	10^{-3}	1	127	+0	117	5850	$5,85 \cdot 10^6$			
			2	106	+1						
		10^{-4}	1	18	+1	18,5	925	$9,25 \cdot 10^6$			
			2	17	+1						
		10^{-5}	1	2	+0	2,5	125	$12,5 \cdot 10^6$			
			2	3	+0						
60	I	10^{-3}	1	116	+0	123,5	6175	$6,18 \cdot 10^6$			
			2	131	+0						
		10^{-4}	1	12	+0	17	850	$8,5 \cdot 10^6$			
			2	22	+0						
		10^{-5}	1	4	+0	3,5	175	$17,5 \cdot 10^6$			
			2	3	+0						
										$9,42 \cdot 10^6$	6,97
72	II	10^{-3}	1	99	+0	116,5	5825	$5,83 \cdot 10^6$			
			2	134	+0						
		10^{-4}	1	17	+0	22	110	$11 \cdot 10^6$			
			2	27	+0						
		10^{-5}	1	1	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$			
			2	2	+0						

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
				2	10	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	1	50	$5 \cdot 10^6$		
				2	1	+0					
										$8,29 \cdot 10^6$	6,92
		II	10^{-3}	1	115	+2	224	11200	$11,2 \cdot 10^6$		
				2	143	+0					
			10^{-4}	1	24	+0	20	1000	$10 \cdot 10^6$		
				2	19	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	2	100	$10 \cdot 10^6$		
				2	1	+0					
5%	0	I	10^{-3}	1	19	+0	18,5	925	$0,93 \cdot 10^6$		
				2	18	+0					
			10^{-4}	1	0	+0	1	50	$0,50 \cdot 10^6$		
				2	2	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0,5	25	$2,5 \cdot 10^6$		
				2	1	+0				$1,2 \cdot 10^6$	6,08
		II	10^{-3}	1	16	+1	13,5	675	$0,68 \cdot 10^6$		
				2	10	+0					
			10^{-4}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0,5	25	$2,5 \cdot 10^6$		
				2	1	+0					
12	I	10^{-3}	1	88	+0	80,5	4025		$4 \cdot 10^6$		
				2	73	+0					
			10^{-4}	1	9	+0	6,5	325	$3,25 \cdot 10^6$		
				2	4	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0,5	25	$2,5 \cdot 10^6$		
				2	1	+0				$4,76 \cdot 10^6$	6,68
		II	10^{-3}	1	119	+2	96,5	4825	$4,8 \cdot 10^6$		
				2	72	+0					
			10^{-4}	1	5	+0	8	400	$4 \cdot 10^6$		
				2	11	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	2	100	$10 \cdot 10^6$		
				2	2	+0					
24	I	10^{-3}	1	86	+0	88	4400		$4,4 \cdot 10^6$		
				2	89	+1					
			10^{-4}	1	12	+0	11,5	575	$5,75 \cdot 10^6$		
				2	11	+0					
			10^{-5}	1	0	+1	1	50	$5 \cdot 10^6$		
				2	1	+0				$3,74 \cdot 10^6$	6,57
		II	10^{-3}	1	62	+2	71	3550	$3,55 \cdot 10^6$		
				2	78	+0					
			10^{-4}	1	4	+0	7,5	375	$3,75 \cdot 10^6$		

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
							2	11	+0	.				
							10^{-5}	1	0	+0	0	0	$5 \cdot 10^6$	
								2	0	+0				
36	I		10^{-3}		1	110	+2		117,5		5875	$5,88 \cdot 10^6$		
					2	121	+2							
			10^{-4}		1	23	+0		21,5		1075	$10,75 \cdot 10^6$		
					2	19	+1							
			10^{-5}		1	2	+0		1,5		75	$7,5 \cdot 10^6$		
					2	1	+0						$6,41 \cdot 10^6$	6,81
	II		10^{-3}		1	108	+4		112		5600	$5,6 \cdot 10^6$		
					2	112	+0							
			10^{-4}		1	13	+1		17,5		875	$8,75 \cdot 10^6$		
					2	20	+1							
			10^{-5}		1	0	+0		0		0			
					2	0	+0							
48	I		10^{-3}		1	92	+2		91,5		04575	$4,58 \cdot 10^6$		
					2	87	+2							
			10^{-4}		1	12	+2		16,5		825	$8,25 \cdot 10^6$		
					2	19	+0							
			10^{-5}		1	1	+0		0,5		25	$2,5 \cdot 10^6$		
					2	0	+0						$5,28 \cdot 10^6$	6,72
	II		10^{-3}		1	89	+3		97		4850	$4,85 \cdot 10^6$		
					2	101	+1							
			10^{-4}		1	15	+0		13		650	$6,5 \cdot 10^6$		
					2	11	+0							
			10^{-5}		1	2	+0		1		50	$5 \cdot 10^6$		
					2	0	+0							
60	I		10^{-3}		1	92	+0		90,5		4525	$4,53 \cdot 10^6$		
					2	89	+0							
			10^{-4}		1	10	+0		11,5		575	$5,75 \cdot 10^6$		
					2	13	+0							
			10^{-5}		1	1	+0		1,5		75	$7,5 \cdot 10^6$		
					2	2	+0						$6,03 \cdot 10^6$	6,78
	II		10^{-3}		1	75	+0		83		4150	$4,15 \cdot 10^6$		
					2	91	+0							
			10^{-4}		1	13	+0		13,5		675	$6,75 \cdot 10^6$		
					2	14	+0							
			10^{-5}		1	1	+0		1,5		75	$7,5 \cdot 10^6$		
					2	2	+0							
72	I		10^{-3}		1	85	+0		90		4500	$4,5 \cdot 10^6$		
					2	95	+0							
			10^{-4}		1	5	+1		9,5		475	$4,75 \cdot 10^6$		

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
10 %	I	10^{-3}	1	11	+2									
			10 ⁻⁵	1	2	+0		1,5		75		7,5.10 ⁶		
				2	1	+0								
		10^{-3}	1	72	+0		93		4650		4,65.10 ⁶		5,78.10 ⁶	6,76
			2	114	+0									
	II	10^{-4}	1	7	+0		11,5		575		5,75.10 ⁶			
			2	16	+0									
		10^{-5}	1	1	+0		1,5		75		7,5.10 ⁶			
			2	2	+0									
			10 ⁻³	1	17	+0		15,5		775		0,78.10 ⁶		
12	I	10^{-3}	1	14	+0									
			10 ⁻⁴	1	1	+0		1,5		75		0,75.10 ⁶		
		10^{-5}	2	2	+0									
			10 ⁻⁵	1	1	+0		0,5		25		2,5.10 ⁶		
		10^{-3}	2	0	+0									
			10 ⁻⁴	1	22	+0		22,5		1125		1,1.10 ⁶		1,2.10 ⁶
		10^{-5}	2	23	+0									6,08
			10 ⁻⁴	1	5	+0		4		200		2.10 ⁶		
	II	10^{-5}	2	3	+0									
			10 ⁻³	1	0	+0		0		0		0		
		10^{-3}	2	0	+0									
			10 ⁻⁴	1	123	+0		135,5		6775		6,78.10 ⁶		
		10^{-5}	2	144	+4									
24	I	10^{-3}	1	27	+0		22		1100		11.10 ⁶			
			10 ⁻⁴	2	17	+0								
		10^{-5}	1	3	+0		1,5		75		7,5.10 ⁶			
			2	0	+0									
		10^{-3}	1	124	+0		124,5		6225		6,23.10 ⁶		7,5.10 ⁶	6,88
			10 ⁻⁴	2	125	+0								
		10^{-5}	1	13	+0		16,5		825		8,3.10 ⁶			
			2	19	+1									
	II	10^{-5}	1	0	+0		1		50		5.10 ⁶			
			10 ⁻³	2	2	+0								
		10^{-3}	1	153	+0		155		7750		7,75.10 ⁶			
			10 ⁻⁴	2	157	+0								
		10^{-5}	1	20	+0		18		900		9.10 ⁶			
			2	16	+0									
	II	10^{-5}	1	4	+0		3		150		15.10 ⁶			
			2	2	+0									
		10^{-3}	1	172	+0		147,5		7375		7,38.10 ⁶		8,53.10 ⁶	6,93
			10 ⁻⁴	2	122	+1		14		700		7.10 ⁶		

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
							2	17	+1	1	50	$50 \cdot 10^6$		
							10^{-5}	1	0	+0				
								2	2	+0				
36	I		10^{-3}		1	159	+1		140,5		7025		$7 \cdot 10^6$	
					2	121	+0							
			10^{-4}		1	14	+2		14,5		725		$7,25 \cdot 10^6$	
					2	12	+1							
			10^{-5}		1	0	+1		1,5		75		$7,5 \cdot 10^6$	
					2	2	+0							
													$6,59 \cdot 10^6$	6,82
	II		10^{-3}		1	83	+4		91		4550		$4,55 \cdot 10^6$	
					2	92	+3							
			10^{-4}		1	16	+0		11,5		575		$5,75 \cdot 10^6$	
					2	7	+0							
			10^{-5}		1	2	+0		1,5		75		$7,5 \cdot 10^6$	
					2	1	+0							
48	I		10^{-3}		1	192	+0		188		9400		$9,4 \cdot 10^6$	
					2	182	+2							
			10^{-4}		1	14	+0		24		1200		$12 \cdot 10^6$	
					2	33	+1							
			10^{-5}		1	5	+0		3,5		175		$17,5 \cdot 10^6$	
					2	2	+0							
	II		10^{-3}		1	118	+2		143		7150		$7,15 \cdot 10^6$	
					2	163	+3							
			10^{-4}		1	54	+0		81		4050		$40,5 \cdot 10^6$	
					2	84	+24							
			10^{-5}		1	1	+0		2		100		$10 \cdot 10^6$	
					2	3	+0							
60	I		10^{-3}		1	154	+0		175,5		8775		$8,78 \cdot 10^6$	
					2	197	+0							
			10^{-4}		1	27	+0		26,5		1325		$13,25 \cdot 10^6$	
					2	26	+0							
			10^{-5}		1	3	+0		2,5		125		$12,5 \cdot 10^6$	
					2	2	+0							
													$12,08 \cdot 10^6$	7,08
	II		10^{-3}		1	121	+0		149		7450		$7,45 \cdot 10^6$	
					2	177	+0							
			10^{-4}		1	30	+0		26		1300		$13 \cdot 10^6$	
					2	22	+1							
			10^{-5}		1	4	+0		3,5		150		$17,5 \cdot 10^6$	
					2	3	+0							
72	I		10^{-3}		1	239	+0		237		11850		$11,85 \cdot 10^6$	
					2	235	+0							
			10^{-4}		1	13	+5		31		1550		$15,5 \cdot 10^6$	

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
							2	14	+0					
							10^{-5}	1	3	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$	
								2	0	+0				
36	I		10^{-3}		1	157	+1		172,5		8625	$8,63 \cdot 10^6$		
					2	188	+0							
			10^{-4}		1	27	+0		23,5		1175	$11,75 \cdot 10^6$		
					2	20	+0							
			10^{-5}		1	1	+0		1		50	$5 \cdot 10^6$		
					2	1	+0						$6,82 \cdot 10^6$	6,83
	II		10^{-3}		1	109	+2		115		5750	$5,75 \cdot 10^6$		
					2	119	+0							
			10^{-4}		1	8	+0		9,5		475	$4,75 \cdot 10^6$		
					2	11	+0							
			10^{-5}		1	1	+0				50	$5 \cdot 10^6$		
					2	1	+0		1					
48	I		10^{-3}		1	132	+0		141,5		7075	$7,08 \cdot 10^6$		
					2	149	+2							
			10^{-4}		1	16	+0		19,5		975	$9,75 \cdot 10^6$		
					2	20	+3							
			10^{-5}		1	2	+0		1,5		75	$7,5 \cdot 10^6$		
					2	1	+0							
													$7 \cdot 10^6$	6,85
	II		10^{-3}		1	137	+2		138,5		6925	$6,93 \cdot 10^6$		
					2	135	+3							
			10^{-4}		1	8	+1		11,5		575	$5,75 \cdot 10^6$		
					2	13	+1							
			10^{-5}		1	1	+0		1		50	$5 \cdot 10^6$		
					2	1	+0							
60	I		10^{-3}		1	114	+0		109,5		5475	$5,48 \cdot 10^6$		
					2	105	+0							
			10^{-4}		1	8	+0		11,5		575	$5,75 \cdot 10^6$		
					2	15	+0							
			10^{-5}		1	0	+0		2,5		125	$12,5 \cdot 10^6$		
					2	5	+0							
	II		10^{-3}		1	166	+0		159,5		7975	$7,98 \cdot 10^6$		
					2	153	+0							
			10^{-4}		1	19	+0		23,5		1175	$11,75 \cdot 10^6$		
					2	28	+0							
			10^{-5}		1	2	+0		2		100	$10 \cdot 10^6$		
					2	2	+0							
72	I		10^{-3}		1	251	+0		244		12200	$12,2 \cdot 10^6$		
					2	237	+0							
			10^{-4}		1	23	+0		28		1400	$14 \cdot 10^6$		

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
				2	33	+0	*				
			10^{-5}	1	4	+0	3,5	175	$17,5 \cdot 10^6$		
				2	3	+0					
		II	10^{-3}	1	113	+0	122,5	6125	$6,13 \cdot 10^6$	$10,73 \cdot 10^6$	7,03
				2	132	+0					
			10^{-4}	1	10	+0	13	650	$6,5 \cdot 10^6$		
				2	16	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	1	50	$5 \cdot 10^6$		
				2	0	+0					
20	0	I	10^{-3}	1	13	+0	14	700	$0,7 \cdot 10^6$		
%				2	15	+0					
			10^{-4}	1	0	+0	0,5	25	$0,25 \cdot 10^6$		
				2	1	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
		II	10^{-3}	1	22	+1	26	1300	$1,3 \cdot 10^6$	$5,84 \cdot 10^5$	5,77
				2	28	+1					
			10^{-4}	1	2	+0	2,5	125	$1,25 \cdot 10^6$		
				2	3	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
12	1	I	10^{-3}	1	97	+0	108	5400	$5,4 \cdot 10^6$		
				2	119	+0					
			10^{-4}	1	17	+0	15,5	775	$7,75 \cdot 10^6$		
				2	14	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	2,5	125	$12,5 \cdot 10^6$		
				2	3	+0					
		II	10^{-3}	1	101	+1	104	5200	$5,2 \cdot 10^6$	$6,6 \cdot 10^6$	6,82
				2	106	+0					
			10^{-4}	1	15	+0	12,5	625	$6,25 \cdot 10^6$		
				2	10	+0					
			10^{-5}	1	1	+0	0,5	25	$2,5 \cdot 10^6$		
				2	0	+0					
24	1	I	10^{-3}	1	134	+2	140,5	7025	$7,03 \cdot 10^6$		
				2	139	+6					
			10^{-4}	1	8	+1	12	600	$6 \cdot 10^6$		
				2	15	+0					
			10^{-5}	1	2	+0	2	100	$10 \cdot 10^6$		
				2	0	+2					
		II	10^{-3}	1	172	+0	175,5	8775	$8,78 \cdot 10^6$	$10,39 \cdot 10^6$	7,02
				2	179	+0					
			10^{-4}	1	24	+0	26	1300	$13 \cdot 10^6$		

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
				2	28	+0	*				
			10^{-5}	1	3	+2	3,5	175	$17,5 \cdot 10^6$		
				2	2	+0					
36	I	10^{-3}	1	134	+0		153,5	7675	$7,68 \cdot 10^6$		
			2	173	+0						
		10^{-4}	1	32	+0		33	1650	$16,5 \cdot 10^6$		
			2	24	+0						
		10^{-5}	1	1	+0		1	50	$5 \cdot 10^6$		
			2	1	+0						
	II	10^{-3}	1	145	+1		159,5	7975	$7,98 \cdot 10^6$	$10,7 \cdot 10^6$	7,03
			2	170	+3						
		10^{-4}	1	19	+0		19	950	$9,5 \cdot 10^6$		
			2	18	+1						
		10^{-5}	1	3	+0		3,5	175	$17,5 \cdot 10^6$		
			2	4	+0						
48	I	10^{-3}	1	200	+0		194	9700	$9,7 \cdot 10^6$		
			2	185	+3						
		10^{-4}	1	29	+0		29	1450	$14,5 \cdot 10^6$		
			2	29	+0						
		10^{-5}	1	3	+0		3	150	$15 \cdot 10^6$		
			2	3	+0						
	II	10^{-3}	1	168	+0		155	7750	$7,75 \cdot 10^6$	$11,37 \cdot 10^6$	7,06
			2	138	+4						
		10^{-4}	1	24	+0		27,5	1375	$13,75 \cdot 10^6$		
			2	31	+0						
		10^{-5}	1	1	+0		1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$		
			2	2	+0						
60	I	10^{-3}	1	161	+0		164	8200	$8,2 \cdot 10^6$		
			2	167	+0						
		10^{-4}	1	23	+0		21	1050	$10,5 \cdot 10^6$		
			2	19	+0						
		10^{-5}	1	2	+0		2	100	$10 \cdot 10^6$		
			2	2	+0						
	II	10^{-3}	1	233	+0		216	10800	$10,8 \cdot 10^6$	$12,71 \cdot 10^6$	7,1
			2	199	+0						
		10^{-4}	1	32	+0		33,5	1675	$16,75 \cdot 10^6$		
			2	35	+0						
		10^{-5}	1	5	+0		4	200	$20 \cdot 10^6$		
			2	3	+0						
72	I	10^{-3}	1	106	+0		107,5	5375	$5,38 \cdot 10^6$		
			2	109	+0						
		10^{-4}	1	14	+0		18,5	925	$9,25 \cdot 10^6$		

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
				10^{-5}	2	23	+0	*					
					1	2	+0	1,5	75	$7,5 \cdot 10^6$			
					2	1	+0						
				II	10^{-3}	1	175	+0	181	9050	$9,05 \cdot 10^6$	$8,74 \cdot 10^6$	6,94
						2	187	+0					
					10^{-4}	1	22	+0	22,5	1125	$11,25 \cdot 10^6$		
						2	23	+0					
					10^{-5}	1	1	+0	2	100	$10 \cdot 10^6$		
						2	3	+0					
Gt 1%	0	I	10^{-3}		1	0	+9	11	550	$0,55 \cdot 10^6$			
						2	0	+13					
			10^{-4}		1	0	+1	1,5	75	$0,75 \cdot 10^6$			
						2	0	+2					
			10^{-5}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
		II	10^{-3}		1	0	+8	7,5	375	$0,38 \cdot 10^6$	$4,05 \cdot 10^5$	5,61	
						2	0	+7					
			10^{-4}		1	2	+0	1,5	75	$0,75 \cdot 10^6$			
						2	1	+0					
			10^{-5}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
12	I	10^{-3}			1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
			10^{-4}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
			10^{-5}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
		II	10^{-3}		1	0	+0	0	0	0	0	0	
						2	0	+0					
			10^{-4}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
			10^{-5}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
24	I	10^{-3}			1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
			10^{-4}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
			10^{-5}		1	0	+0	0	0	0	0		
						2	0	+0					
		II	10^{-3}		1	0	+0	0	0	0	0	0	
						2	0	+0	0				
			10^{-4}		1	0	+0	0	0	0	0	0	
						2	0	+0					

			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
							2	0	+0	0	0	0		
								0	+0					
							10^{-5}	1	0	+0	0	0	0	
								2	0	+0				
36	I		10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-4}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-5}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0				0	0
II			10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-4}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-5}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
48	I		10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-4}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-5}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0				0	0
II			10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-4}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-5}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
60	I		10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-4}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-5}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0				0	0
II			10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-4}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
			10^{-5}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					
72	I		10^{-3}				1	0	+0	0	0	0		
							2	0	+0					

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
			10^{-4}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
										0	0
II			10^{-3}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
			10^{-4}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					
			10^{-5}	1	0	+0	0	0	0		
				2	0	+0					

Ket: pH medium awal rata-rata untuk konsentrasi 0% = 6,6; 5% = 6,48; 10% = 6,23;
15% = 6,09; 20% = 6,1 dan Gt 1% = 3,69.

