



**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao*
L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh

**Nadya Indah Permataningrum
NIM 151610101023**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019**



**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao*
L.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans***

SKRIPSI

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

Oleh

Nadya Indah Permataningrum
NIM 151610101023

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2019

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT atas limpahan rahmat, hidayah dan berkah yang tiada hentinya;
2. Nabi Muhammad SAW, yang senantiasa menjadi panutan;
3. Ayahanda Adam Bashori dan Ibunda Choirul Badiah yang tersayang dan tercinta;
4. Kakak-kakakku Nanang Setiawan S.E, Arida Tri Windyastutik S.E, Neti Irawati S. Ab, Yanuardi Priambodo S.E, Afriyanti Novi Setyowati S. Farm. Apt dan Yusron Mashuda S.E yang tersayang;
5. Guru-guruku sejak taman kanak-kanak sampai dengan perguruan tinggi;
6. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

MOTO

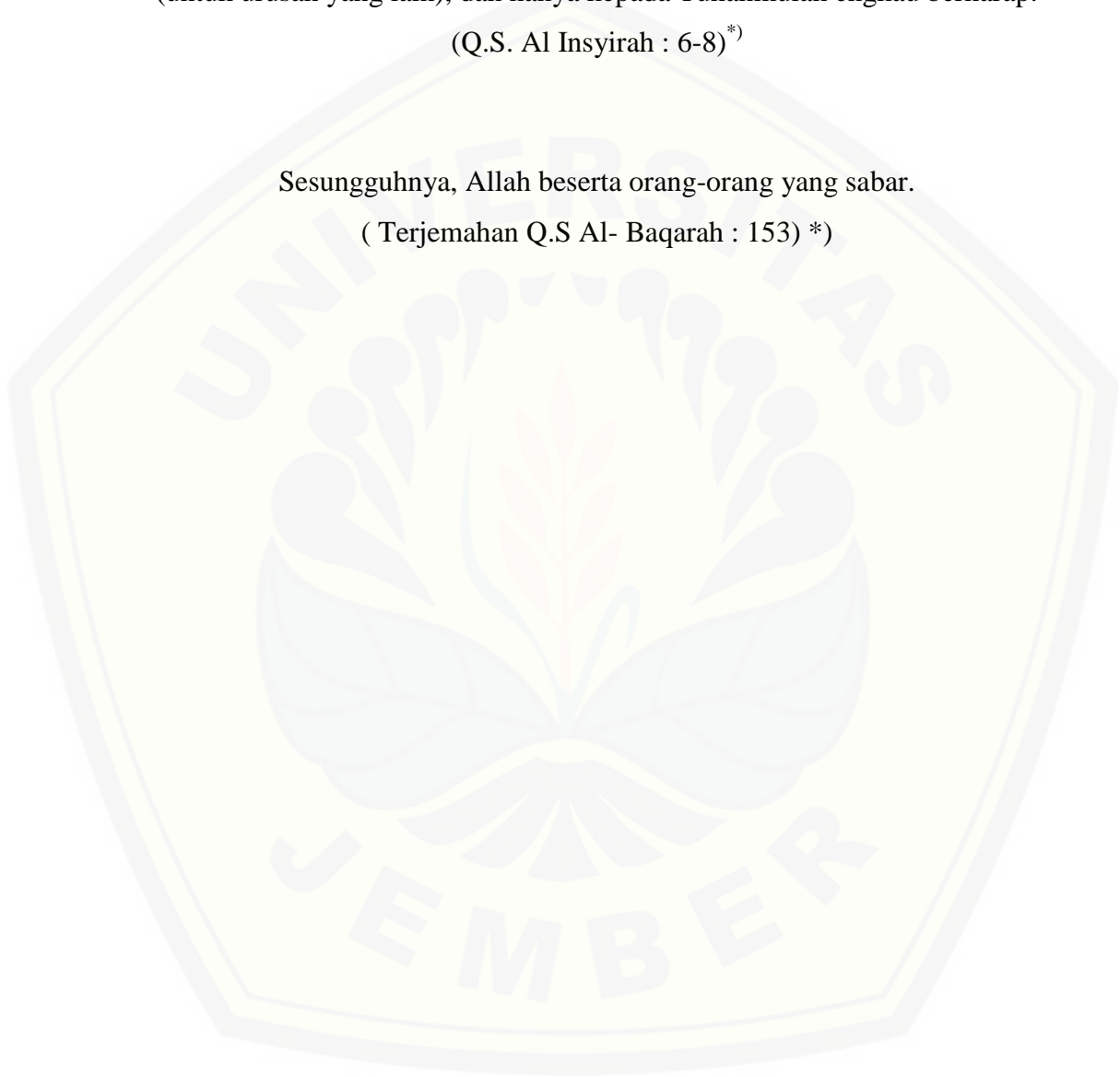
Sesungguhnya bersama kesulitan ada kemudahan.

Maka apabila engkau telah selesai (dari sesuatu urusan), tetaplah bekerja keras (untuk urusan yang lain), dan hanya kepada Tuhanmulah engkau berharap.

(Q.S. Al Insyirah : 6-8)^{*)}

Sesungguhnya, Allah beserta orang-orang yang sabar.

(Terjemahan Q.S Al- Baqarah : 153)^{*)}



^{*)} Departemen Agama Republik Indonesia. 2013. *Al-Qur'an dan Terjemahannya*. Solo: PT Tiga Serangkai Pustaka Mandiri.

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

nama : Nadya Indah Permataningrum

NIM : 151610101023

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* ” adalah benar-benar hasil karya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi mana pun, dan bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak mana pun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 24 April 2019

Yang menyatakan,

Nadya Indah Permataningrum

NIM 151610101023

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN KAKAO (*Theobroma cacao L.*)
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans***

Oleh

NADYA INDAH PERMATANINGRUM

151610101023

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI

UNIVERSITAS JEMBER

2019

Pembimbing:

Dosen Pembimbing Utama : drg. Leni Rokhma Dewi, Sp. P,

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

PENGESAHAN

Karya Ilmiah skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma Cacao L.*) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*” telah diuji dan disahkan pada:

hari, tanggal : Rabu, 24 April 2019

tempat : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember

Penguji Ketua,

Penguji Anggota,

drg. Roedy Budirahardjo, M. Kes. Sp. KGA
NIP. 195909061985032001

drg. Dyah Indartin Setyowati
NIP. 196809301997022001

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping

drg. Leni Rokhma Dewi, Sp. PM
NIP. 760009241

drg. Ayu Mashartini P, Sp. PM
NIP. 198412212009122006

Mengesahkan,

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi

Universitas Jember,

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

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*; Nadya Indah Permataningrum, 151610101023; 2019: **83 halaman**; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Candida albicans merupakan salah satu jamur yang dapat ditemukan di rongga mulut. *C. albicans* adalah jamur komensal yang normal terdapat di mukosa rongga mulut pada individu yang sehat (Akpan, 2002). Jamur ini jumlahnya mencapai 40-80% dari populasi mikroorganisme di rongga mulut (Grenbeerg *et al.*, 2008). Walaupun demikian *C. albicans* dapat menjadi patogen dalam kondisi tertentu sehingga menimbulkan infeksi yang disebut dengan kandidiasis. Pengobatan kandidiasis dapat dilakukan dengan beberapa cara, salah satunya adalah dengan cara memanfaatkan tanaman obat yang diduga dapat menghambat pertumbuhan jamur, memiliki efek samping minimal dan mudah didapatkan di lingkungan sekitar.

Daun Kakao merupakan salah satu tanaman herbal yang memiliki khasiat terapi. Pada daun kakao terdapat beberapa senyawa aktif berupa kafein, flavonoid dan alkaloid yang diduga memiliki aktivitas antijamur. Pada penelitian ini menggunakan metode *maserasi* dikarenakan metode ekstraksi yang sederhana.

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *experimental laboratories in vitro* dengan rancangan penelitian *the post-test only control group design* yang bertempat di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan dilaksanakan pada bulan September 2018. Sampel berjumlah 6 untuk setiap kelompok penelitian. Terdapat 6 kelompok penelitian, yaitu ekstrak daun kakao konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100%, nistatin sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif. Pada masing-masing kelompok tersebut diberikan sebanyak 20 μ L pada *paper disk* dengan diameter 5 mm pada 4 *petridish* yang berisi media SDA yang telah diinokulasi dengan *C. albicans*. Semua *petridish* tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Setelah 24 jam, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona inhibisi di sekitar *paper disk* menggunakan jangka sorong.

Hasil penelitian menunjukkan rata-rata diameter zona hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* berturut-turut yang paling besar adalah kontrol positif (K+) yaitu sebesar 13,92 mm, kelompok EDK 100% yaitu sebesar 7,98 mm. Kelompok EDK 75 yaitu sebesar 6,30 mm dan kelompok EDK 50, kelompok EDK 25, kontrol negatif (K-) yaitu sebesar 0,00 mm. Pada kelompok EDK 100 dan kelompok EDK 75 hasil tersebut sesuai dengan pendapat Pelzcer dan Chan (1998) yang menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu bahan antijamur maka aktivitas antijamur juga akan semakin kuat. Sedangkan pada kelompok EDK 50 dan kelompok EDK 25 kemungkinan kemampuan difusi yang rendah disebabkan oleh terlalu banyaknya kandungan aquadest pada ekstrak sehingga menyebabkan senyawa aktif pada ekstrak tidak dapat berdifusi maksimal ke dalam medium yang mengandung inokulum (Dewi, 2010).

Data hasil penelitian kemudian ditabulasi dan dianalisis secara statistik. Data dianalisis dengan uji statistik nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Hasil uji statistik *Kruskal-Wallis* menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna pada seluruh kelompok penelitian ditandai dengan nilai signifikansi ($p < 0,05$), yaitu 0,000. Uji hasil penelitian kemudian dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian. Hasil uji *Mann-Whitney* antar kelompok penelitian menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian EDK 100, EDK 75, EDK 50, EDK 25, K(+) dan K(-) ditandai dengan nilai ($p < 0,05$).

Berdasarkan hasil penelitian dan analisis data, dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun kakao memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan *C. albicans* dan kelompok EDK 100 merupakan konsentrasi optimal dari ekstrak daun kakao dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* yang dimungkinkan karena adanya senyawa yang terdapat dalam ekstrak daun kakao berupa kafein, flavonoid dan alkaloid.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT. atas segala rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusun skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis menyampaikan terima kasih kepada:

1. Orang tua tercinta, Ayah Adam Bashori dan Ibu Choirul Badiah yang tidak pernah berhenti memberikan kasih sayang, doa, motivasi, dukungan, dan semangat;
2. Kakak-kakakku tersayang, Nanang Setiawan S.E, Arida Tri Windyastutik S.E, Neti Irawati S. Ab, Yanuardi Priambodo S.E, Afriyanti Novi Setyowati S. Farm. Apt dan Yusron Mashuda S.E yang dengan tulus memberikan doa, motivasi, dukungan dan semangat;
3. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Prost., selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
4. Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
5. drg. Sri Hernawati, M.Kes., selaku Pembantu Dekan II Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
6. drg. Izzata Barid, M.Kes., selaku Pembantu Dekan III Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
7. drg. Leni Rokhma Dewi, Sp. PM., selaku Dosen Pembimbing Utama, drg. Ayu Mashartini Prihartini, Sp. PM., selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah meluangkan waktu, pikiran, dan perhatian dalam penulisan skripsi ini;
8. drg. Roedy Budirahardjo, M.Kes. Sp. KGA., selaku Dosen Penguji Ketua, drg. Dyah Indartin Setyowati, M.Kes., selaku Dosen Penguji Anggota yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan skripsi ini;

9. Dr. drg. Ristya Widi Endah Yani, M.Kes., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan dan motivasi dalam perjalanan studi selama penulis menjadi mahasiswa;
10. Staf Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember;
11. Staf Laboratorium Teknologi Ilmu Pangan Politeknik Negeri Jember;
12. Teman seperjuangan skripsi Nindya Nur Maghfiroh. Terimakasih atas dukungan dan kerjasamanya;
13. Sahabat-sahabatku yang tersayang Hasna, Ndari, Riri, Wenny, Raziqa, April, Elma, Ayu, Indah, Ibnu, Fergy, Dani, Rizky, Ayuk dan Mefi yang selalu mendukung dan memberikan semangat dalam mengerjakan skripsi ini;
14. Mbak Yoan Ayung Sagita, terimakasih atas bimbingannya;
15. Seluruh teman-teman FKG Universitas Jember 2015. Terima kasih atas motivasi, kerja sama, persaudaraan, dan kekompakkannya selama ini;
16. Muhamad Zainul Abidin yang telah memberi semangat dan dukungan;
17. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu per satu.

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

Jember, 24 April 2019

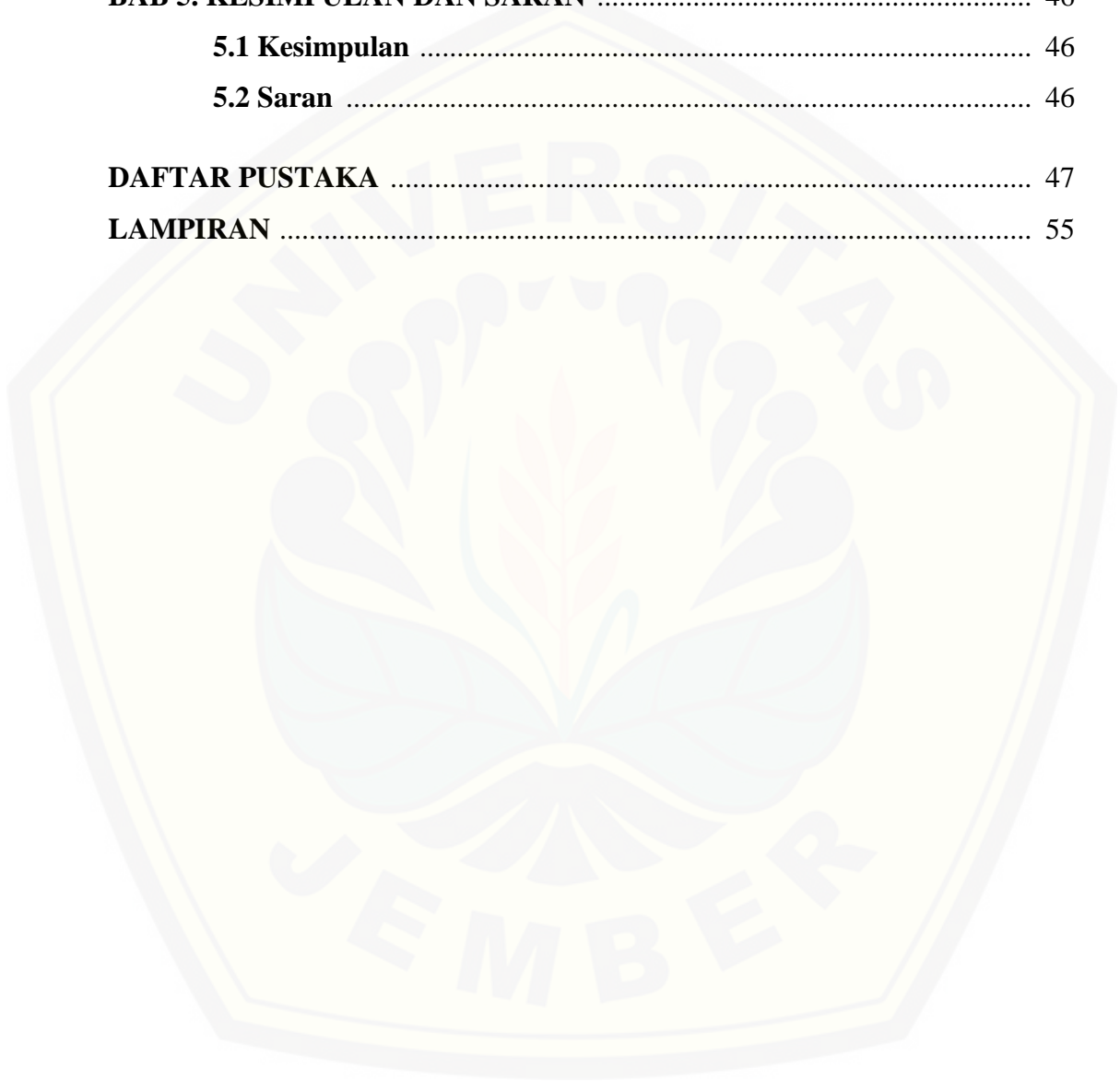
Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xv
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 <i>Candida albicans</i>	5
2.1.1 Klasifikasi <i>C. albicans</i>	5
2.1.2 Morfologi <i>C. albicans</i>	5
2.1.3 Dinding Sel <i>C. albicans</i>	7
2.2 Kandidiasis Oral	8
2.3 Tanaman Kakao (<i>Theobroma cacao L.</i>)	9
2.3.1 Klasifikasi Tanaman Kakao	10
2.3.2 Morfologi Tanaman Kakao	11
2.3.3 Deskripsi Botani Tanaman Kakao	12
2.4 Daya Antijamur Daun Kakao	16
2.4.1 Kafein	16

2.4.2 Flavonoid	17
2.4.3 Alkaloid	17
2.5 Metode Ekstraksi	18
2.6 Kerangka Konsep Penelitian	21
2.7 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian	22
2.8 Hipotesis.....	23
BAB 3. METODE PENELITIAN.....	24
3.1 Jenis Penelitian	24
3.2 Rancangan Penelitian	24
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	24
3.4 Variabel Penelitian	24
3.4.1 Variabel Bebas	24
3.4.2 Variabel Terikat	24
3.4.3 Variabel Terkendali	25
3.5 Definisi Operasional Variabel.....	25
3.5.1 Ekstrak Daun Kakao	25
3.5.2 <i>C. albicans</i>	25
3.5.3 Hambat Pertumbuhan <i>C. albicans</i>	25
3.5.4 Diameter Zona Hambat	26
3.6 Sampel Penelitian	26
3.6.1 Jumlah Sampel	26
3.6.2 Pembagian Kelompok Sampel	26
3.7 Alat dan Bahan	27
3.7.1 Alat Penelitian	27
3.7.2 Bahan Penelitian	28
3.8 Prosedur Penelitian	28
3.8.1 Tahap Persiapan	28
3.8.2 Tahap Perlakuan	33
3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Inhibisi	34
3.9 Alur Penelitian	36
3.10 Analisis Data.....	37

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1 Hasil Penelitian	38
4.2 Analisis Data	40
4.3 Pembahasan	42
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	46
5.1 Kesimpulan	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN	55



DAFTAR TABEL

	Halaman
4.1 Nilai rata – rata dan standart deviasi diameter zona inhibisi kelompok P1, P2, P3, P4, K(+), dan K(-) terhadap pertumbuhan <i>C. albicans</i>	39
4.2 Hasil uji normalitas menggunakan uji <i>Kolmogorov-smirnov</i>	40
4.3 Hasil uji homogenitas menggunakan uji <i>Levene test</i>	41
4.4 Hasil uji statistik nonparametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	41
4.5 Hasil uji <i>Mann-Whitney</i>	42

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Sel jamur	6
2.2 Bentuk pseudohifa <i>C. albicans</i>	6
2.3 Bentuk hifa <i>C. albicans</i>	7
2.4 Komponen penyusun dinding sel <i>C. albicans</i>	8
2.5 Tanaman Kakao	10
2.6 Daun Kakao	14
2.7 Buah Kakao	15
2.8 Rumus Bangun Kafein	16
2.9 Struktur Kimia Flavonoid	17
2.10 Struktur Kimia Alkaloid	18
2.11 Bagan Kerangka Konsep	21
3.1 Pembuatan Ekstrak Daun Kakao	29
3.2 Pengenceran Ekstrak Daun Kakao	31
3.3 Hasil Identifikasi <i>C. albicans</i> (perbesaran 1000x)	32
3.4 Pemberian Paper Disk yang Diberi Perlakuan pada Media SDA	34
3.5 Diagram alur penelitian	36
4.1 Histogram nilai rata - rata dan standart deviasi diameter zona inhibisi pertumbuhan <i>C. albicans</i>	40

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Foto Hasil Penelitian	55
B. Foto Alat dan Bahan	56
B.1 Alat Penelitian	56
B.2 Bahan Penelitian	57
C. Analisis Data	58
C.1 Uji Normalitas menggunakan <i>Kolmogorov-Smirnov</i>	58
C.2 Uji Homogenitas menggunakan <i>Levene Test</i>	58
C.3 Uji Statistik Non-Parametrik <i>Kruskal-Wallis</i>	59
C.4 Uji Statistik Non-Parametrik <i>Mann-Whitney</i>	59

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1.Latar Belakang

Candida albicans merupakan salah satu jamur yang dapat ditemukan di rongga mulut. *C. albicans* adalah jamur komensal yang normal terdapat di mukosa rongga mulut pada individu yang sehat (Akpan, 2002). Jamur ini jumlahnya mencapai 40-80% dari populasi mikroorganisme di rongga mulut (Grenbeerg *et al.*, 2008). *C. albicans* dapat menjadi patogen dalam kondisi tertentu, seperti merokok, oral hygiene buruk, kelainan fungsi kelenjar ludah, kelainan endokrin dan defisiensi nutrisi sehingga dapat menimbulkan suatu infeksi yang disebut dengan kandidiasis oral (Dangi *et al.*, 2010).

Kandidiasis oral merupakan infeksi yang disebabkan oleh pertumbuhan berlebih dari spesies *Candida* dalam rongga mulut yang didominasi oleh *C. albicans* sebanyak 85-95% (Maharani dan Santoso, 2012). *C. albicans* dianggap jenis yang paling patogen dan paling banyak menimbulkan penyakit, dibandingkan dengan spesies *Candida* lainnya (Komariah dan Sjam, 2012). Klasifikasi yang paling sering ditemukan didalam rongga mulut adalah pseudomembran dan eritematosus. Pseudomembran secara klinis berupa lesi bercak atau plak putih di lidah, palatum, dan bukal, kemudian jika dikerok akan terlepas, meninggalkan permukaan mukosa merah dan dapat disertai perdarahan ringan. Kandidiasis eritematosus secara klinis ditandai oleh adanya area merah biasanya pada dorsum lidah dan palatum serta jarang terjadi pada mukosa bukal. Kandidiasis eritematosus adalah bentuk kandidiasis yang disertai rasa sakit konstan atau rasa terbakar (Scully C, 2008).

Kandidiasis oral pada keadaan akut dapat menimbulkan keluhan seperti rasa terbakar (*burning sensation*), rasa sakit yang terjadi pada lidah, mukosa bukal, atau labial (Dangi *et al.*, 2010). Munculnya keluhan tersebut maka diperlukan suatu tindakan pencegahan maupun pengobatan yang dapat mengatasi infeksi dari kandidiasis oral.

Pengobatan kandidiasis oral dapat dilakukan dengan beberapa cara yaitu dengan penggunaan antijamur dan menghilangkan faktor predisposisi (Dangi, *et al.*, 2010). Salah satu obat jamur yang banyak digunakan untuk mengobati infeksi kandidiasis oral akibat infeksi *C. albicans* adalah nistatin (Rautemaa dan Ramage, 2011). Nistatin merupakan obat anti jamur golongan poliene. Pemberian obat nistatin dapat dilakukan dalam bentuk topikal maupun sistemik. Pemberian obat nistatin topikal bisa dalam bentuk suspensi oral dan juga pastile oral, tetapi yang sering digunakan adalah bentuk suspensi oral. Tetapi pada penelitian ini menggunakan nistatin topikal golongan poliene. Penggunaan nistatin memiliki beberapa efek samping yaitu timbul mual, muntah dan diare (Syarif, 2007). Diduga efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur, memiliki efek samping minimal dan mudah didapatkan di lingkungan sekitar, maka perlu dicari alternatif lain dalam pengobatan kandidiasis oral misalnya dengan memanfaatkan tanaman sebagai obat herbal.

Salah satu contoh tanaman berkhasiat herbal adalah kakao. Kakao merupakan salah satu komoditi perkebunan utama andalan nasional. Sejak awal tahun 1980-an, pertumbuhan dan perkembangan kakao semakin pesat di Indonesia. Daerah penghasil kakao yang berada di Indonesia antara lain Sulawesi Selatan, Sulawesi Tengah, Sulawesi Tenggara, Sumatra Utara, Kalimantan Timur, Lampung (Departemen Perindustrian, 2007). Menurut Kementerian Pertanian (2008) selain itu Jawa Timur juga penghasil kakao yang cukup besar, yaitu salah satunya daerah Jember (Sulistiyowati *et al.*, 2004).

Tanaman kakao yang digunakan pada penelitian ini adalah kakao jenis *forestero*. Pemanfaatan dari tanaman kakao masih terfokus pada biji kakao dan kulit kakao, tetapi daun kakao belum dimanfaatkan secara maksimal. Daerah Jember khususnya, daun kakao mudah didapatkan dan berlimpah. Daun kakao ini memiliki aktivitas bahan aktif yaitu flavonoid, alkaloid dan kafein. Tetapi yang paling berperan adalah senyawa aktif alkaloid dan flavonoid. Dalam hal kesehatan, daun kakao ini dapat dimanfaatkan sebagai pengobatan herbal karena terdapat senyawa aktif flavonoid. Menurut Sulistiawati dan

Mulyati (2009), senyawa aktif flavonoid berperan sebagai antioksidan, antimikroba dan antivirus. Dimana flavonoid merupakan metabolit sekunder tumbuhan. Zat ini mempunyai fungsi dalam menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Senyawa flavonoid dapat mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur (Candrasari *et al.*, 2012). Daun kakao juga mengandung kafein dan alkaloid (Osman *et al.*, 2004). Pada senyawa kafein mekanisme aktivitas antijamur yaitu dengan menghambat sintesis dinding sel yang menyebabkan sel jamur menjadi lisis dan berakhir dengan kematian sel. Kafein juga merupakan antioksidan kuat yang berperan sebagai pertahanan kimia intrinsik melawan jamur (Janzen, 2010). Senyawa alkaloid mampu untuk mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel sehingga menyebabkan lapisan dinding sel jamur tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian sel (Rahmawati *et al.*, 2013).

Berdasarkan latar belakang diatas dan belum banyak penelitian pada daun kakao, perlu dilakukan penelitian mengenai kemampuan ekstrak daun kakao dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Dari penelitian ini diharapkan akan diketahui apakah ekstrak daun kakao dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Selain itu juga diharapkan ekstrak daun kakao bisa menjadi alternatif obat antijamur yang lebih aman dan lebih terjangkau bagi masyarakat.

1.2.Rumusan Masalah

- 1.2.1. Apakah ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans* ?
- 1.2.2. Berapa konsentrasi optimal ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* ?

1.3. Tujuan Penelitian

- 1.3.1. Untuk mengetahui daya hambat dari ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 1.3.2. Untuk mengetahui konsentrasi optimal ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

1.4. Manfaat Penelitian

- 1.4.1. Dapat melengkapi informasi dan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat mengenai pengaruh daya hambat dari ekstrak daun kakao terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 1.4.2. Dapat memberikan informasi kepada tenaga medis dan masyarakat dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut melalui pemanfaatan tanaman kakao yang dijumpai di daerah Jember.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1. *Candida albicans*

Jamur kandida telah dipelajari dan dikenal sejak abad ke-18. Penyakit yang disebabkan dihubungkan dengan kebersihan rongga mulut yang kurang baik. Pada *Third International Microbiology Congress* di *New York* pada tahun 1938 diperkenalkan nama kandida dan dibakukan pada *Eight Botanical Congress* di Paris pada tahun 1954. Kandidiasis terdapat di seluruh dunia dengan sedikit perbedaan variasi penyakit pada setiap area. Infeksi yang disebabkan oleh kandida bisa berupa aku, subakut atau kronis pada seluruh tubuh manusia (Babic dan Hukic, 2010).

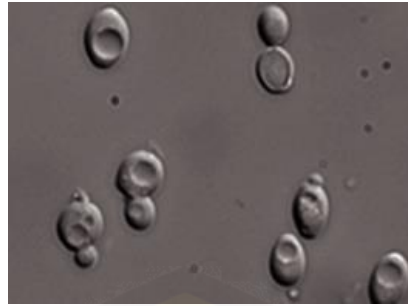
2.1.1. Klasifikasi *Candida albicans*

Dalam tata nama jamur, kedudukan *C. albicans* dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Siregar, 2005):

Kingdom	: <i>Fungi</i>
Famili	: <i>Cryptococaccae</i>
Subfamili	: <i>Candidoidea</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Species	: <i>C. albicans</i>

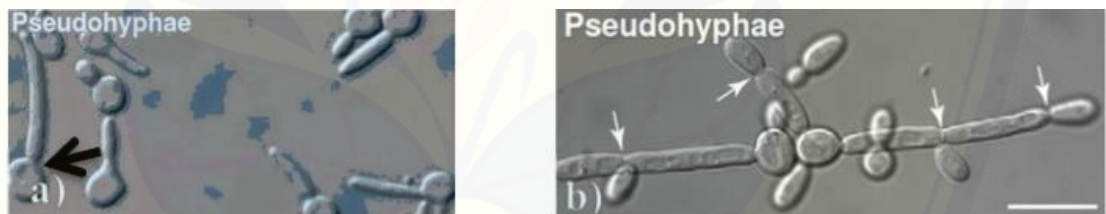
2.1.2. Morfologi *Candida albicans*

C. albicans merupakan jamur polimorfik yang dapat hidup secara komensal. Jamur ini berkoloni pada permukaan rongga mulut, vagina dan saluran pencernaan (Klis, 2009; Sudbery *et al.*, 2004). Secara morfologi *C. albicans* dapat tumbuh dalam tiga bentuk yang berbeda, yaitu dalam bentuk sel jamur (blastospora), pseudohifa dan hifa (Henriques, 2007). Sel jamur (blastospora) berbentuk lonjong atau bulat lonjong dan membentuk koloni dengan diameter 2-4 mm, memiliki permukaan yang halus dan berwarna putih kekuningan (Ryan, 1994).



Gambar 2.1 Sel jamur (Sudbery *et al.*, 2011)

Pseudohifa dan hifa tampak mirip, tetapi memiliki perbedaan yaitu adanya penyempitan pada setiap septum dan pada leher sel induk dengan tunasnya (Sudbery *et al.*, 2004). Pseudohifa memiliki ukuran yang lebih lebar daripada hifa. Lebar minimum pseudohifa adalah 2,8 μm , sedangkan hifa memiliki lebar rata-rata 2,0 μm . Hifa memiliki 2 bentuk filamen, yaitu filamen bercabang dan tidak bercabang yang memiliki satu atau lebih septum dan tidak ada penyempitan pada leher sel induk dan septum (Sudbery *et al.*, 2011).



Gambar 2.2. Bentuk pseudohifa *C. albicans*

- (a) Bakal tunas sel mengalami pemanjangan, tampak adanya konstriksi pada leher tunas; (b) Sel anakan tetap melekat pada sel induk setelah terbentuknya septum

Jamur kandida tumbuh cepat dan baik pada suhu 25-37°C pada media perbenihan sederhana sebagai sel oval dengan pembentukan tunas untuk memperbanyak diri dan spora jamur disebut dengan blastospora atau sel ragi atau sel khamir. Morfologi mikroskopis dari *C. albicans* memperlihatkan *pseudohyphae* dengan cluster disekitar blastokonidia bulat berseptum panjang berukuran 3-7x7-14 μm . Jamur membentuk

pseudohifa (hifa semu) yang sebenarnya merupakan rangkaian blastospora yang bercabang, juga dapat membentuk hifa sejati (Babic dan Hukic, 2010).

Munculnya germ tube pertama kali dapat diamati ketika sel jamur berubah menjadi hifa (Yun, 2003). Hifa memiliki peran pada proses infeksi, yaitu dengan cara melepaskan enzim hidrolitik sehingga akan mengakibatkan kerusakan pada sel epitel dan sel endotel (Dalle, 2010; Filler dan Sheppard, 2006; Phan, 2007; Zhu dan Filler, 2010). Selain itu, ketika sel jamur akan di fagositosis oleh makrofag, maka sel jamur akan menghindarinya dengan mengubahbentuk menjadi sel hifa (Lorenz *et al*, 2004).



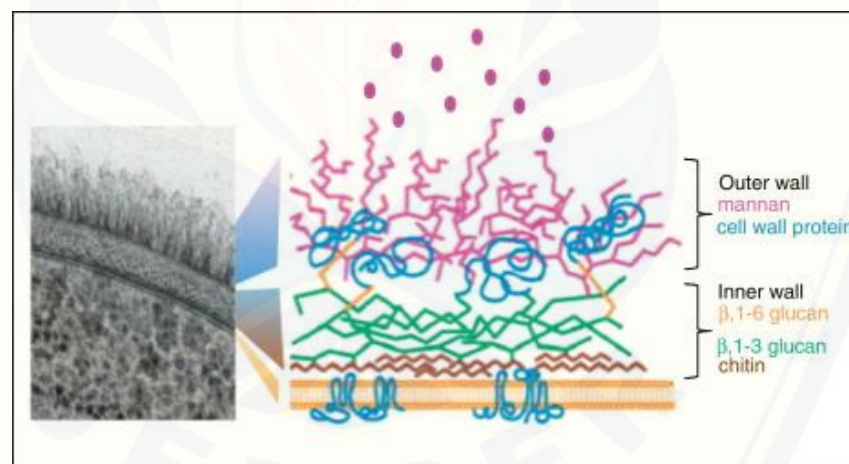
Gambar 2.3.Bentuk hifa *C. albicans* (Sudbery *et al.*, 2011)

2.1.3. Dinding Sel *Candida albicans*

Candida albicans memiliki struktur dinding sel yang kompleks dan dinamis. Dimana dinding sel merupakan organel penting yang berfungsi untuk mempertahankan kelangsungan hidup sel (Netea *et al.*, 2008). Menurut Segal dan Bavin (1994) yang dikutip dari Maharani (2012), dinding sel *C. albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda. Komposisi primernya terdiri dari berbagai polisakarida seperti *glukan*, *mannan* dan *khitin*. *Mannan* juga terdapat bebas di luar struktur dinding sel sehingga *C. albicans* dapat dikenali oleh sel hospes (Netea *et al.*, 2010). *Glukan* dan *kitin* mendukung kekuatan dan membentuk dinding sel. Sebaliknya, lapisan *mannan* pada bagian luar tidak tersusun dengan baik dan memiliki permeabilitas dan porositas yang rendah. Sehingga,

lapisan *mannan* mempengaruhi ketahanan dinding sel terhadap serangan dari hospes dan permeabilitas dinding sel terhadap obat antijamur (Gow *et al.*, 2012).

Dinding sel merupakan struktur karakteristik yang terdapat pada semua jamur, tetapi tidak dimiliki oleh sel mamalia. Hal ini disebabkan dinding sel jamur dijadikan target utama bagi obat antijamur (Hiller *et al.*, 2011). Ergosterol merupakan komponen pada jamur yang menjadikan jamur sebagai target utama bagi obat antijamur. Ergosterol (*ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol*) merupakan sebuah molekul sterol yang diproduksi oleh jamur sebagai komponen dari dinding sel. Antijamur akan berikatan dengan ergosterol sehingga menyebabkan perubahan suhu dari membran sel, mengganggu permeabilitas cairan dalam sel, merusak struktur dan fungsi membran sel, menghambat pertumbuhan jamur, dan akhirnya dapat menyebabkan kematian sel (Gow *et al.*, 2012).



Gambar 2.4 Komponen penyusun dinding sel *C. albicans* (Gow *et al.*, 2012).

2.2.Kandidiasi Oral

Pertumbuhan jamur *C. albicans* didalam rongga mulut yang berlebih dapat menjadi patogen yang nantinya akan menyebabkan infeksi pada rongga mulut yang disebut dengan kandidiasis oral. Kandidiasis oral ini merupakan infeksi yang sering terjadi di mukosa rongga mulut dan biasanya ditemukan pada orang yang mengalami penurunan sistem

imun. Bila terjadi infeksi, filamen jamur *C. albicans* akan bersifat patogen sehingga terjadi perlekatan pada dinding epitel sel hospes. Proses ini akan diperberat oleh faktor-faktor predisposisinya dan akan terus berlanjut sehubungan dengan imunodefisiensi yang dialami oleh pasien dengan kandidiasis pada rongga mulut. Kandidiasis sering mengakibatkan rasa tidak nyaman pada mulut, timbul rasa nyeri dan terjadi penurunan nafsu makan. Kandidiasis oral pada keadaan akut dapat menimbulkan keluhan seperti rasa terbakar (*burning sensation*), rasa sakit biasanya pada lidah, mukosa labial atau mukosa bukal dan terjadi xerostomia (mulut kering) (Dangi *et al.*, 2010).

Kandidiasi dalam rongga mulut dapat terjadi karena dipengaruhi oleh beberapa faktor, yaitu terjadinya penurunan sistem imun, sering ditemukan pada penderita HIV/AIDS. Pada penderita xerostomia dan penggunaan protesa, menyebabkan kurangnya pembersihan oleh saliva. Penggunaan antibiotik dan kortekosteroid akan menghambat pertumbuhan bakteri komensal sehingga mengakibatkan pertumbuhan *C. albicans* yang lebih banyak dan dapat menurunkan daya tahan tubuh, karena kortekosteroid akan menyebabkan penekanan sel *mediates immune* (Jainkittivong, 2007).

2.3. Tanaman Kakao

Dalam produksi kakao dunia Indonesia menempati peringkat ketiga setelah Ghana dan Pantai Gading. Luas area tanaman kakao di Indonesia terus meningkat, tetapi menurut Lembaga Riset Perkebunan Indonesia produktivitas rata-rata kakao Indonesia baru mencapai 625 kg/ha/th. Kakao (*Theobroma cacao* L.) merupakan salah satu jenis tanaman penyegar yang mempunyai nilai ekonomi yang tinggi. Kakao mempunyai peran penting sebagai bahan dasar dari produk pangan, kosmetik dan kesehatan. Seluruh bagian tanaman kakao dapat dimanfaatkan sebagai produk yang mempunyai nilai ekonomis (Febrianto, 2013).

Tanaman kakao merupakan tanaman menyerbuk silang (cross pollination) sehingga terdapat keragaman diantara genotipe, baik keragaman morfologi seperti bentuk buah, warna buah, besar biji maupun keragaman dalam tingkat ketahanan terhadap hama dan penyakit.

2.3.1. Klasifikasi Tanaman Kakao

Tanaman kakao (*Theobroma cacao L.*) termasuk familia *Sterculiseae* , merupakan suatu tanaman tropis yang mempunyai 50 genus dan 700 spesies atau lebih. Kedudukan tanaman kakao dalam sistematika (taksonomi) tumbuhan menurut (Tjitrosoepomo, 1988), diklasifikasikan sebagai berikut:

Regnum	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menghasilkan biji)
Anak divisi	: <i>Angiospermae</i> (Tumbuhan Berbunga)
Kelas	: <i>Dicotyledoneae</i> (Berkeping dua, dikotil)
Anak kelas	: <i>Dialypetalae</i>
Ordo	: <i>Malvales</i>
Familia	: <i>Sterculiaceae</i>
Genus	: <i>Theobroma</i>
Spesies	: <i>Theobroma cacao L.</i>



Gambar 2.5. Tanaman Kakao (<http://wikipedia.com>)

2.3.2. Morfologi Tanaman Kakao

Tanaman kakao termasuk tanaman tahunan (*perennial*) dan merupakan tanaman dikotil. Tanaman kakao dapat mencapai ketinggian 8-10 meter. Pertumbuhan pada tanaman kakao ini bersifat *dimorfisme*, artinya mempunyai dua bentuk tunas vegetatif. Pada tanaman kakao ini memiliki dua cabang, yaitu cabang yang arah pertumbuhannya keatas disebut dengan *ortotrop*, sedangkan cabang yang arah pertumbuhannya ke samping disebut dengan *plagiotrop*. Dari kedua jenis cabang tersebut sering ditumbuhi dengan tunas-tunas air atau *wiwilan* yang banyak menyerap energi sehingga akan mengurangi pembuahan dan pematangan. Tanaman kakao ini terdiri dari akar, batang, daun, bunga, biji dan buah. Akar kakao merupakan akar tunggal kecuali jika berkembang dari tanam vegetatif (Sunanto, 1994). Menurut Heddy (1990), warna daun pada tanaman kakao dewasa berwarna hijau dengan panjang bervariasi antara 25-30 cm dan lebar antara 7,5-10 cm. Bunga kakao berwarna putih kemerahan dan tidak berbau serta terdiri dari 5 daun kelopak, 5 daun mahkota dan 10 tangkai sari yang tersusun dalam lingkaran (Sunanto, 1994). Biji kakao ini berbentuk bulat telur agak pipih dengan ukuran 2,5 x 1,5 cm dengan diselimuti lendir (*pulp*) berwarna putih. Buah kakao dikatakan matang apabila berwarna kuning atau oranye (Sunanto, 1994).

Terdapat banyak jenis kakao di alam, tetapi jenis yang paling banyak ditanam untuk produksi besar-besaran hanya ada 3 jenis, yaitu (Sunanto, 1994):

1. Jenis *criollo*, dimana *criollo* ini terdiri dari *criollo* Amerika Tengah dan *criollo* Amerika Selatan. Jenis *criollo* ini menghasilkan kakao yang sangat baik dan dikenal sebagai kakao mulia, *fine flavour cocoa*, *choiced cocoa*. *Criollo* atau kakao mulia merupakan kelompok yang mempunyai cita rasa lebih lembut. Buahnya berwarna hijau atau merah, kulitnya tipis berbintil-bintil kasar dan lunak. Biji buah berbentuk bulat

telur dan berukuran besar dengan keping biji berwarna putih pada saat basah.

2. Jenis *forestero*, banyak diusahakan di berbagai negara produsen kakao dan menghasilkan biji kakao yang mutunya sedang atau *bulk cocoa* atau juga dikenal sebagai *ordinary cocoa*. Buahnya berwarna hijau dan kulitnya tebal. Bijinya tipis atau gepeng dan keping biji berwarna ungu pada saat basah.
3. Jenis *trinitario*, merupakan campuran atau keturunan dari jenis *criollo* dan jenis *forestero* secara alami, sehingga kakao jenis *trinitario* ini sangat heterogen. Kakao *trinitario* ada yang termasuk *fine flavour cocoa* dan ada yang termasuk *bulk cocoa*. Buahnya berwarna merah atau hijau dan memiliki bentuk yang bermacam-macam. Biji buahnya juga bermacam-macam dengan keping biji berwarna ungu muda sampai ungu tua pada waktu basah.

2.3.3. Deskripsi Botani Tanaman Kakao

Kakao termasuk tanaman kauliflori yang artinya bunga dan buah tumbuh pada batang dan cabang tanaman (Susanto, 1994).

a. Batang atau cabang

Habitat asli tanaman kakao adalah hutan tropis dengan curah hujan dan kelembaban yang tinggi sehingga tanaman tumbuh tinggi. Batang dari tanaman kakao muda memiliki batang yang lurus. Tetapi pada usia sekitar 10 bulan, batang tersebut akan terbentuk 3-6 cabang kipas (*fan branches*). Titik cabang tersebut disebut dengan *lorquette*. Tinggi batang pada umumnya sekitar 1-2 m dari permukaan tanah, tetapi jika batang sampai terbentuk *lorquette* ukurannya bervariasi (Sunanto, 1992).

b. Akar

Tanaman kakao yang berasal dari biji (generatif) mempunyai akar tunggang yang disertai akar serabut dan

berkembang disekitar permukaan tanah (Sunanto, 1992). Pertumbuhan akar kakao dapat mencapai 8 m ke arah samping dan 15 m ke arah bawah (Siregar *et al.*, 2010).

Perkembang akar sangat dipengaruhi oleh struktur tanah, air tanah dan aerasi dalam tanah. Pada tang yang drainasinya buruk dan permukaan air tanahnya tinggi, akar tunggangnya tidak bisa tumbuh lebih dari 45 cm. Hal yang sama juga terjadi apabila permukaan air tanah terlalu dalam. Permukaan air tanah yang baik untuk pertumbuhan akar bibit kakao adalah 25-64 cm (Siregar *et al.*, 2010).

c. Daun

Warna daun bervariasi mulai dari warna kecokelatan, coklat, coklat kemerahan, merah kecokelatan, merah, kemerahan, merah muda, merah tua, merah cerah dan kuning kemerahan. Apabila daun masih muda warnanya juga bervariasi mulai dari kuning, kuning cerah, coklat, merah kecokelatan, hijau kecokelatan, hijau kemerahan dan hijau. Panjang dari daun kakao ini antara 10-48 cm dan lebarnya antara 4-20 cm. Permukaan atas pada daun tua berwarna hijau dan bergelombang, sedangkan permukaan bawah pada daun tua berwarna hijau muda, kasar dan bergelombang (Bozoglu dan Karayel, 2006).

Daun kakao merupakan daun tunggal (*folium simplex*). Tangkai daun (*petiolus*) berbentuk silinder dan bersisik halus (tergantung dari tipenya), pangkal membulat, ujung runcing sampai meruncing dengan panjang \pm 25-28 mm dengan diameter 3-7,4 mm. Warna tangkai daun kakao ini juga bervariasi, mulai dari warna hijau, hijau kekuningan dan hijau kecoklatan. Bangun daunnya bulat memanjang (*oblongus*). Ujung daunnya (*apex folii*) meruncing (*acuminatus*) dan pangkal daunnya (*basis folii*) berbentuk runcing (*acutus*),

kedua tepi daun kanan dan kiri ibu tulang daun sedikit demi sedikit menuju keatas dan pertemuannya di puncak daun yang membentuk sudut lancip. Tepi daun (*margo filii*) rata (*integer*) sampai sedikit bergelombang, daging daun kakao tipis tetapi kuat. Susunan tulang daun kakao (*nervatio*) menyirip (*penninervis*), hanya memiliki satu ibu tulang daun yang berjalan dari pangkal ke ujung daun dan merupakan terusan dari ujung daun, alur tulang dari daun kakao ini tampak jelas (Bozoglu dan Karayel, 2006).



Gambar 2.6. Daun Kakao (<http://wikipedia.com>)

d. Bunga

Letak sebaran bunga, buah pada batang dan cabang bersifat cauliflora. Tanaman kakao ini berbunga sepanjang tahun dan tumbuh secara berkelompok pada bantalan bunga yang menempel pada batang, cabang dan ranting (Sunanto, 1992). Bunga kecil dan halus yang berwarna putih sedikit ungu kemerahan dan tidak berbau. Bunga tersebut memiliki diameter sekitar 1-2 m. Bunga kakao terdiri atas daun kelopak bunga (*calyx*) sebanyak 5 helai, sedangkan benang sari (*androecium*) sejumlah 10 helai. Panjang dari tangkai bunga tersebut 2-4 cm (Siregar *et al.*, 2010).

Daun kelopak bunga (*calyx*) berbentuk lanset, memiliki panjang 6-8 mm. Warna daun kelopak bunga tersebut putih kadang semakin ke ujung warnanya menjadi ungu kemerahan. Daun buah (*gynoecium*) terdiri atas 5 helai dengan tepi saling berlekatan membentuk bakal buah (ovarium) beruang satu. Daun mahkota bunga (*corolla*) memiliki bentuk cawan, dengan panjang 8-9 mm. Warna daun mahkota bunga putih kekuningan atau putih kemerahan. Benang sari (*androecium*) tersusun dalam dua lingkaran. Lingkaran pertama terletak dilekukan mahkota. Lingkaran kedua terletak di sebelah dalam, terdiri atas 5 helaian tidak mengandung tepung sari. Ukurannya panjang dan tumbuh keluar dari bunga (Siregar *et al.*, 2010).

e. Buah

Pada buah kakao memiliki dua variasi warna pada dasarnya, yaitu buah yang masih muda berwarna hijau putih dan bila matang akan berwarna kuning, dan buah muda yang berwarna merah setelah matang akan berwarna jingga (Susanto, 1994).

Pada buah muda akan cepat mengalami pengeringan (*cherelle wilt*) karena kompetisi energi atau karena pengurangan hormon yang dibutuhkan untuk pertumbuhan buah muda (Siregar *et al.*, 2010).



Gambar 2.7. Buah Kakao (<http://wikipedia.com>)

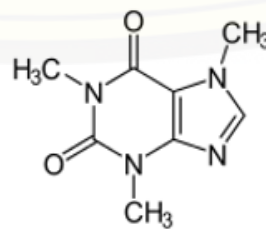
f. Biji

Dalam setiap buah kakao terdapat sekitar 20-50 butir biji. Biji dibungkus oleh daging buah atau *pulp* yang berwarna putih dan rasanya manis (Susanto, 1994). Ketika biji buah kakao tersebut muda, biji akan menempel pada bagian dalam kulit buah, tetapi bila buah telah matang, biji akan terlepas dari kulit buah. Buah yang telah matang, jika digoyang atau digoncang akan menimbulkan suara (Siregar *et al.*, 2010).

2.4. Daya Antijamur Daun Kakao (*Theobroma L*)

2.4.1. Kafein

Kafein ditemukan oleh seorang kimiawan Jerman Friedrich Runge (1819). Kafein (*1,3,7-trimethylxanthine*) merupakan senyawa aktif nitrogen. Kafein merupakan suatu alkaloid dari metil xantin yang memiliki rumus kimia $C_8H_{10}N_4O_2$ dan pH 6,9 (Janzen 2010). Kristal kafein mengikat satu molekul air dan dapat larut dalam air mendidih. Kafein mencair pada suhu $235^{\circ}C$ - $237^{\circ}C$ dan akan menyublim pada suhu $176^{\circ}C$. Selain dalam kopi, kafein juga terdapat dalam kakao (*cocoa*) dan produk-produk coklat (Ciptadi dan Nasution, 1985). Mekanisme aktivitas antijamur dari senyawa ini adalah dengan menghambat sintesis dinding sel yang menyebabkan sel jamur menjadi lisis dan berakhir dengan kematian sel. Kafein juga merupakan antioksidan kuat yang berperan sebagai pertahanan kimia intrinsik melawan jamur (Janzen, 2010).



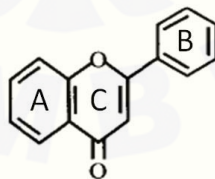
(1,3,7 Trimethyl xantine)

Gambar 2.8. Rumus bangun kafein (Sumber: Ciptadi dan Nasution, 1985)

2.4.2. Flavonoid

Flavonoid terdapat pada semua bagian tumbuhan hijau, seperti akar, daun, kulit kayu, benang sari, bunga, buah dan biji buah (Nugrahaningtyas *et al.*, 2005). Flavonoid yang merupakan bagian dari polifenol mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon, dimana dua cincin benzene (C₃) sehingga membentuk suatu susunan struktur kimia C₆-C₃-C₆ (Redha, 2010).

Flavonoid merupakan salah satu golongan senyawa fenol yang terdiri dari dua cincin aromatik yang terkait melalui tiga karbon yang biasanya membentuk heterosiklik oksigen (Bravo, 1998). Flavonoid mampu bereaksi dengan dinding sel dengan cara mengerutkan dinding sel (Permatasari *et al.*, 2016). Selanjutnya masuk kedalam inti sel dan membuat seluruh protein pada jamur mengalami denaturasi sehingga sel jamur menjadi rusak dan mati. Flavonoid merupakan senyawa aktif yang dapat digunakan sebagai antioksidan, antibakteri, antijamur dan antiinflamasi (Septianoor *et al.*, 2013). Sebagai antijamur, flavonoid mempunyai senyawa genestein yang berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur (Candrasari *et al.*, 2012).

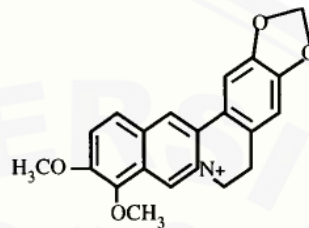


Gambar 2.9. Struktur kimia flavonoid

2.4.3. Alkaloid

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang paling banyak ditemukan di alam. Hampir seluruh senyawa alkaloid berasal dari

tumbuh-tumbuhan dan tersebar luas dalam berbagai jenis tumbuhan (Lenny, 2006). Fungsi spesifik alkaloid pada *C. albicans* adalah mampu untuk mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel sehingga menyebabkan lapisan dinding sel jamur tidak terbentuk secara utuh dan mengakibatkan kematian sel (Rahmawati *et al.*, 2013).



Gambar 2.10. Struktur kimia alkaloid.

2.5. Metode Ekstraksi

Ekstraksi merupakan kumpulan senyawa-senyawa dari berbagai golongan yang terlarut didalam pelarut yang sesuai, termasuk didalamnya senyawa-senyawa aktif atau tidak aktif (Sidik dan Mudahar, 2000). Simplisia yang diekstrak mengandung senyawa aktif yang dapat larut dan senyawa yang tidak dapat larut seperti serat, karbohidrat, protein dan sebagainya. Senyawa aktif yang terdapat dalam berbagai simplisia dapat digolongkan kedalam minyak atsiri, flavonoid dan alkaaloid, dengan diketahuinya senyawa aktif yang dikandung simplisia maka akan mempermudah pemisahan pelarut dan cara ekstraksi yang tepat (Ditjen POM, 2000).

Metode ekstraksi bahan alam dengan menggunakan pelarut dibedakan menjadi 2 cara, yaitu cara dingin (*cold processing*) dan cara panas (*heat processing*).

1. Cara dingin (*cold processing*)

Prinsip dari metode ini yaitu mengekstraksi bahan kering pada suhu kamar secara berturut-turut dengan pelarut yang kepolarannya semakin tinggi. Keuntungan menggunakan metode ini yaitu mudah

karena ekstrak tidak dipanaskan sehingga kemungkinan kecil bahan alam menjadi terurai. Penggunaan pelarut dengan peningkatan kepolaran bahan alam secara berurutan memungkinkan pemisahan bahan-bahan alam berdasarkan kelarutannya dan polaritasnya dalam pelarut ekstraksi. Hal ini dapat mempermudah proses isolasi. Ekstraksi dingin memungkinkan banyak senyawa terekstraksi. Berikut ini termasuk kedalam ekstraksi dingin (Heinrich *et al.*, 2004).

a. Maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi yang paling sederhana. Bahan simplisia yang dihaluskan sesuai dengan syarat farmakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) yang disatukan dengan bahan pengestraksi (Voight, 1995). Maserasi ini merupakan metode yang proses pengestrakan dengan menggunakan pelarut dan beberapa kali pengocokan atau pengadukan pada temperatur ruangan. Remaserasi berarti dilakukan pengulangan penambahan pelarut serta dilakukan penyaringan maserat dan seterusnya (Ditjen POM, 2000).

b. Perkolasi

Perlokasi merupakan ekstraksi dengan pelarut yang selalu baru sampai sempurna yang umumnya dilakukan pada temperatur ruangan. Serbuk simplisia yang akan diperkolasi tidak langsung dimasukkan kedalam bejana perkulator, tetapi dibasahi terlebih dahulu atau dimaserasi terlebih dahulu dengan cairan penyari sekurang-kurangnya selama 3 jam. Maserasi ini penting terutama pada serbuk simplisia yang keras dan mengandung bahan yang mudah mengembang. Apabila serbuk simplisia tersebut langsung dialiri dengan penyari, maka cairan penyari tidak dapat menembus keseluruhan sel dengan sempurna (Ditjen POM, 2000).

2. Cara panas (*heat processing*)

Metode ekstraksi cara panas merupakan metode ekstraksi menggunakan pelarut yang suhunya ditingkatkan.

a. Sokletasi

Sokletasi merupakan ekstraksi yang dilakukan dengan pelarut yang selalu baru yang umumnya dilakukan dengan menggunakan alat khusus sehingga terjadi ekstraksi kontinu dengan jumlah pelarut relatif konstan dengan adanya pendingin balik (Departemen Kesehatan RI, 2000).

b. Infus

Infus merupakan ekstraksi dengan pelarut air yang dipanaskan dengan menggunakan panci pemanas air dengan temperature air mencapai 100°C dan temperature uap mencapai 90°C selama 15 menit. Proses infus ini digunakan untuk mendapatkan zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati (Departemen Kesehatan RI, 2000).

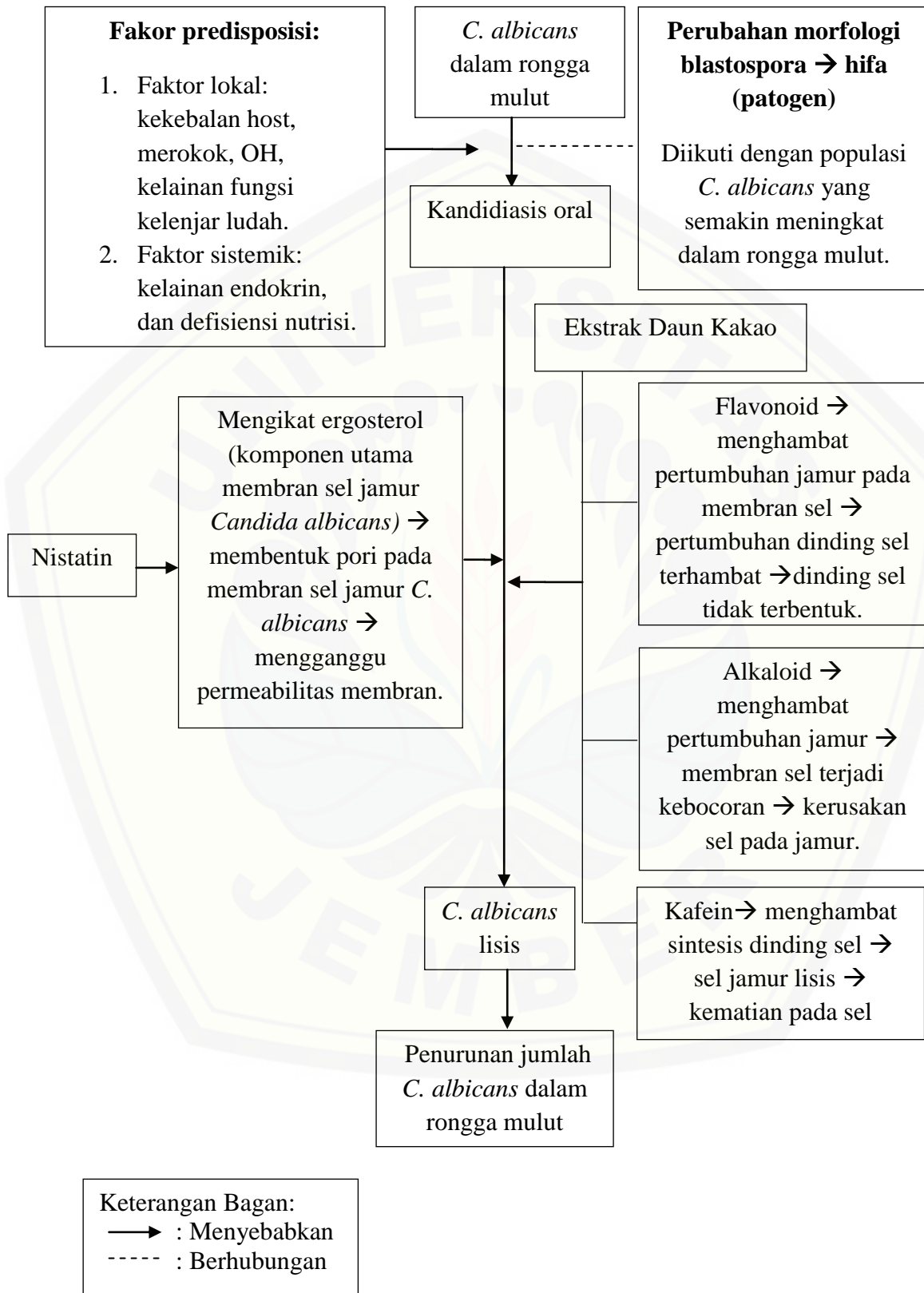
c. Refluks

Refluks merupakan ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik. Agar mendapatkan proses ekstraksi sempurna biasanya dilakukan pengulangan proses residu pertama 3-5 kali (Departemen Kesehatan RI, 2000).

d. Dekok

Dekok merupakan infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air, yaitu pada suhu 90°C sampai 100°C selama 30 menit. Metode ini dapat digunakan untuk simplisia yang mengandung bahan aktif dan tahan terhadap pemanasan (Departemen Kesehatan RI, 2000).

2.6. Kerangka Konsep



Gambar 2.11. Bagan Kerangka Konsep

2.7. Penjelasan Kerangka Konsep

Candida albicans merupakan anggota flora normal yang berada didalam rongga mulut tetapi bisa berubah menjadi mikroorganisme yang bersifat patogen apabila terdapat faktor pendukungnya (Grenbeerg, 2008). Adanya faktor predisposisi seperti faktor lokal dan faktor sistemik akan menyebabkan populasi *C. albicans* dalam rongga mulut meningkat dari flora normal rongga mulut menjadi mikroorganisme yang patogen. Dimana faktor lokal meliputi kebiasaan merokok, oral hygiene yang buruk, kekebalan host dan kelainan kelenjar ludah. Sedangkan untuk faktor sistemik bisa dari defisiensi nutrisi dan kelainan endokrin. Kondisi patogen ini juga diikuti dengan adanya perubahan blastospora menjadi hifa yang menyebabkan adanya virulensi.

Pengobatan kandidiasis salah satunya bisa menggunakan obat nistatin (Rautemaa dan Ramage, 2011). Nistatin merupakan obat oral kandidiasis dalam bentuk topikal golongan poliene. Tetapi jika penggunaan nistatin yang kurang tepat dapat menimbulkan efek samping berupa toksik, timbul mual, muntah dan diare (Syarif, 2007). Mekanisme kerja nistatis dalam menghambat pertumbuhan jamur yaitu dengan cara berikatan dengan ergosterol secara irreversible membran sel jamur sehingga mengakibatkan terganggunya permeabilitas membran sel jamur dan mekanisme transpornya. Sel jamur kehilangan banyak kation dan mekromolekul sehingga mengalami kematian (Fauziah, 2014).

Seiring dengan perkembangan zaman, pemakaian dan pendayagunaan obat-obat tradisional di Indonesia berkembang secara pesat. Obat tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan alami pastinya memiliki efek samping, tetapi tingkat resiko dan bahaya jauh lebih rendah daripada obat dengan bahan kimia. Salah satu tanaman yang memiliki daya antijamur adalah tanaman kakao yang mempunyai beberapa senyawa aktif yaitu flavonoid dan alkaloid. Dimana flavonoid bekerja dengan menghambat pertumbuhan jamur pada membran sel yang akan

terjadi pertumbuhan sel akan menjadi lambat sehingga dinding sel tidak terbentuk. Kerja dari senyawa aktif alkaloid yaitu dengan menghambat pertumbuhan jamur yang akan menyebabkan kebocoran pada membran sel sehingga sel pada jamur akan mengalami kerusakan (Rahmawati *et al.*, 2013). Akibatnya akan terjadi penurunan jumlah koloni jamur *C. albicans* pada sel host dan akan menyebabkan infeksi oral kandidiasis menurun.

2.8. Hipotesis

- 2.8.1. Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.
- 2.8.2. Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) konsentrasi 100% merupakan konsentrasi optimum dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

1.1. Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan jenis penelitian *experimental laboratories in vitro*. Pemilihan jenis penelitian ini dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya.

1.2. Rancangan Penelitian

Rancangan penelitian ini menggunakan metode *The Post Test Only Control Group Design*, yaitu suatu metode dengan cara melakukan pengamatan atau pengukuran setelah perlakuan dan hasilnya dibandingkan dengan kontrol (Notoatmodjo, 2010).

1.3. Tempat dan Waktu Penelitian

1.3.1. Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Biomedik Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember.

1.3.2. Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2018.

1.4. Variabel Penelitian

1.4.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini ada ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

1.4.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah hambat pertumbuhan jamur *C. albicans*.

1.4.3. Variabel Terkendali

- a. Suspensi *C. albicans*
- b. Suhu inkubasi 37°
- c. Waktu inkubasi 24 jam
- d. *Sabouraud dextrose agar*
- e. *Sabouraud dextrose broth*
- f. Kriteria daun kakao yaitu daun yang masih utuh (tidak dimakan ulat dan tidak busuk) dan daun dewasa atau berwarna hijau tua. Dikatakan daun dewasa yaitu daun nomer 5 sampai dengan nomer 8 dihitung dari pucuk daun (Supriyanto *et al.*, 2014).

1.5. Definisi Operasional Variabel

1.5.1. Ekstrak Daun Kakao (*Theobroma cacao L.*)

Ekstrak daun kakao merupakan sediaan zat pokok daun kakao yang diperoleh dari proses ekstrak dengan metode maserasi menggunakan etanol 96%. Setelah dimaserasi selama 3 hari kemudian disaring dan dilakukan penguapan untuk mendapat ekstrak daun kakao konsentrasi 100% dengan sediaan pekat. Penelitian ini menggunakan pengenceran dengan konsentrasi 25%, 50%, 75% dan 100%.

1.5.2. *Candida albicans*

Jamur *C. albicans* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember dan diidentifikasi di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

1.5.3. Hambat Pertumbuhan *Candida albicans*

Hambat pertumbuhan *C. albicans* adalah kemampuan suatu bahan dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan dan reproduksi jamur, yang diukur menggunakan diameter zona hambat.

1.5.4. Diameter Zona Hambat

Diameter zona hambat terhadap pertumbuhan jamur *C. albicans* adalah wilayah atau daerah yang tampak jernih disekeliling *disc* yang diukur menggunakan jangka sorong.

1.6. Sampel Penelitian

1.6.1. Besar sampel yang digunakan dalam penelitian ini berdasarkan rumus Federer sebagai berikut (Supranto, 2000):

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

Keterangan :

n = besar kelompok

t = jumlah sampel

Perhitungan jumlah sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

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

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

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

$$5t - 5 \geq 15$$

$$5t \geq 20$$

$$t \geq 4$$

Besar sampel minimal berdasarkan perhitungan tersebut adalah 4 sampel pada masing-masing kelompok. Sehingga jumlah keseluruhan sampel penelitian yang digunakan sebanyak 24 sampel.

1.6.2. Pembagian Kelompok Sampel

Sampel penelitian terbagi menjadi 6 sampel kelompok perlakuan, yaitu:

- Kelompok K+ : Nistatin (kontrol positif)
- Kelompok K- : Aquadest steril (kontrol negatif)
- Kelompok EDK 25 : Ekstrak daun kakao konsentrasi 25%

- d. Kelompok EDK 50 : Ekstrak daun kakao konsentrasi 50%
- e. Kelompok EDK 75 : Ekstrak daun kakao konsentrasi 75%
- f. Kelompok EDK 100 : Ekstrak daun kakao konsentrasi 100%

1.7. Alat dan Bahan Penelitian

1.7.1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah:

1. Masker (One-Med, Indonesia)
2. Sarung tangan atau handscoon
3. Pinset
4. *Mess* 50
5. Petridish (Pyrex, Germany)
6. Ose
7. Gigaskrin
8. Bunsen (Pyrex, Japan)
9. Tabung reaksi (Pyrex, Japan)
10. Timbangan atau neraca (Indonesia)
11. Tabung Erlenmeyer (Pyrex, Japan)
12. *Beaker glass*
13. Spatula kaca
14. *Syringe* (Terumo, Japan)
15. Jangka sorong (Inoki, Japan)
16. Spektrofotometer (Milton Roy, Spektronik 20⁺, Germany)
17. Mikropipet (Eppendorf, Germany)
18. *Laminar flow* (Super Clean Bench, HF-100, Korea)
19. *Thermolyne* (Maxi Mix II, tipe 37600 mixer, USA)
20. *Buncher*
21. *Rotary evaporator* (Heidolph, laborota 4000, Germany)
22. Inkubator (WTC Binder, Germany)
23. *Autoclave* (Hanshin Medical Co., Ltd., HS-85E, Korea)

24. Oven (Mettler GmbH + Co. KG, tipe 300, Germany)
 25. *Thermometer* (Isolab, Germany)
 26. Label
 27. Isolasi
 28. Gunting
 29. Gelas ukur (Pyrex, Japan)
 30. Corong kaca (Herma, Japan)
 31. Rak tabung reaksi
 32. *Aluminium foil*
 33. Kertas saring (Whatman No. 40, UK)
 34. Bolpoin
 35. *Blank disc*
 36. Kamera
- 1.7.2. Bahan Penelitian
1. SDA (*Saboroud Dextrose Agar*) (Merck, Germany)
 2. SDB (*Saboroud Dextrose Broth*) (Merck, Germany)
 3. Aquadest (Otsuka, Indonesia)
 4. Nistatin (Cazetin, Indonesia)
 5. Ekstrak Daun Kakao
 6. Biakan *C. albicans* (Laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember)
 7. Etanol 96%
 8. Spirtus

1.8. Prosedur Penelitian

1.8.1. Tahap Persiapan

a. Sterilisasi Alat

Semua alat yang terbuat dari kaca dibersihkan terlebih dahulu dan disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit. Sedangkan alat yang terbuat dari plastik dicuci sampai

bersih, kemudian dikeringkan dan disterilkan dengan menggunakan alkohol 70%.

b. Pembuatan ekstrak daun kakao

Pembuatan ekstrak daun kakao dilakukan di Laboratorium Fitokimia Fakultas Farmasi Universitas Jember. Daun kakao sebanyak $\frac{1}{2}$ kg dicuci dengan air mengalir hingga bersih kemudian didiamkan dan tidak boleh terpapar sinar matahari secara langsung. Daun kakao dipotong melintang dengan lebar $\frac{1}{2}$ cm kemudian dikeringkan pada oven. Setelah itu potongan melintang daun kakao dihaluskan menggunakan alat selep sampai menjadi serbuk atau bubuk. Sediaan ekstrak dibuat dengan metode maserasi, yaitu simplisia daun kakao ditimbang kemudian direndam pada pelarut etanol 96% sebanyak 1,5 L sesuai perbandingan 1: 7,5 b/v. Perendaman dilakukan selama 3 hari didalam wadah toples tertutup dan dilakukan pengadukan setiap hari. Rendaman simplisia daun kakao disaring menggunakan kertas saring dengan bantuan corong *buncher* sehingga menghasilkan filtrat. Setelah itu dilanjutkan dengan penguapan maserat menggunakan *rotary evaporator* dan didapatkan ekstrak dalam bentuk cair. Kemudian ekstrak daun kakao dipekatkan dengan dimasukkan kedalam oven dengan suhu 40-50°C untuk mendapatkan ekstrak daun kakao yang murni 100%.



(a)



(b)



(c)



Gambar 3.1 Pembuatan ekstrak daun kakao 100%

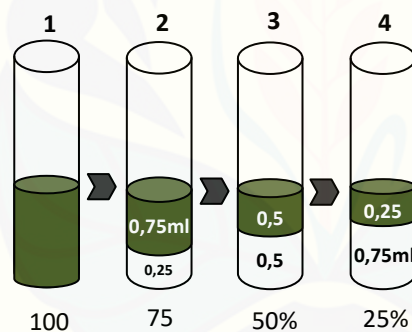
(a) Potongan melintang daun kakao kemudian dikeringkan dalam oven; (b) daun kakao diselep agar menjadi serbuk; (c) daun kakao menjadi serbuk halus; (d) simplisia direndam dengan pelarut etanol 96%; (e) larutan disaring dengan kertas saring dan corong *buchne*; (f) penguapan maserat dengan *rotary evaporator*; (g) ekstrak daun kakao dalam sediaan cair; (h) ekstrak daun kakao pekat.

c. Pengenceran ekstrak daun kakao


Pengenceran ekstrak daun kakao dilakukan untuk memperoleh konsentrasi 25%, 50% dan 75% dari ekstrak daun kakao konsentrasi 100%. Pengenceran ekstrak daun kakao dengan menggunakan aquadest steril dan dilakukan di dalam *laminar flow*. Hasil


pengenceran tersebut dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah diberi keterangan label konsentrasi 25%, 50% dan 75%. Pengenceran ekstrak daun kakao menggunakan rumus pengenceran volume $M1 \times V1 = M2 \times V2$. Sehingga didapatkan hasil sebagai berikut:

- 1) Ekstrak daun kakao 100%
- 2) Ekstrak daun kakao 75% diperoleh dari 0,75 ml ekstrak daun kakao 100% ditambah dengan 0,25 ml aquadest lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.
- 3) Ekstrak daun kakao 50% diperoleh dari 0,5 ml ekstrak daun kakao 100% ditambah dengan 0,5 ml aquadest lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.
- 4) Ekstrak daun kakao 25% diperoleh dari 0,25 ml ekstrak daun kakao 100% ditambah dengan 0,75 ml aquadest lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.



Keterangan :

 : Ekstrak daun kakao

 : Aquades steril

(a)



(b)

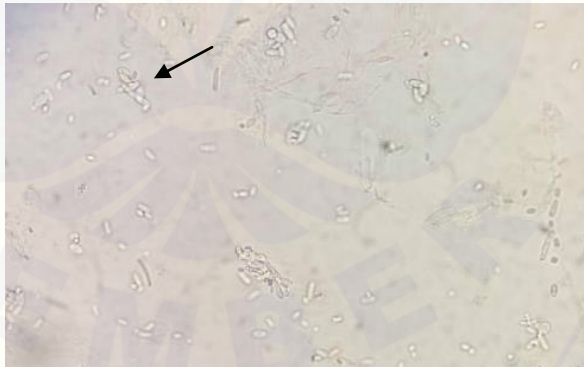
Gambar 3.2 (a) Alur proses pengenceran ekstrak daun kakao;

(b) Ekstrak daun kakao yang sudah diencerkan

d. Identifikasi *C. albicans*

Identifikasi isolat *C. albicans* dilakukan di laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember untuk memastikan bahwa jamur tersebut

benar *C. albicans*, tidak terkontaminasi dan siap digunakan untuk penelitian. Tahap identifikasi dimulai dengan cara pengambilan sampel darah vena perifer menggunakan *syringe* sebanyak 5 ml sebagai media pertumbuhan *C. albicans*. Kemudian di sentrifugasi selama 15 menit sehingga terpisah antara plasma dan hematokritnya. Plasma darah kemudian diambil dan dimasukkan kedalam tabung reaksi sebagai media pertumbuhan, lalu diberikan 1 ose biakan *C. albicans* kemudian diinkubasi selama 2,5 jam. Setelah 2,5 jam, *C. albicans* diidentifikasi dengan cara mengambil 1 ose biakan kemudian dibuat hapusan diatas *object glass* dengan gerakan memutar lalu ditutup dengan *deck glass*. Perlakuan ini dilakukan disamping apibunsen agar terhindar dari kontaminasi. Hapusan tersebut kemudian diamati dibawah mikroskop dengan perbesaran 400x terlebih dahulu, kemudian dilanjutkan dengan perbesaran 1000x dengan diberikan minyak emersi (Gunadi *et al.*, 2012). Hasil identifikasi menunjukkan bahwa biakan jamur adalah benar *C. albicans* karena tampak adanya bentukan bading sel, yang merupakan salah satu bentuk morfologi dari pertumbuhan *C. albicans*.



Gambar 3.3. Hasil Uji Identifikasi (pembesaran 1000x)

e. Membuat media cair *Saboraud Dextrose Broth* (SDB)

Media SDB terbuat dari tiga gram SDB dan aquadest steril 100 mL kemudian diaduk hingga homogen diatas *hotplate*. Campuran yang terbentuk di sterilkan dengan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian media diinkubasi selama 24 jam.

f. Membuat suspensi *C. albicans*

C. albicans yang digunakan dalam penelitian ini adalah galur murni yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. *C. albicans* sebelumnya dilakukan uji identifikasi jamur menggunakan mikroskop *inverted*, setelah itu dilakukan kultur pada temperatur 37°C selama 24 jam pada media SDA. Selanjutnya dibuat suspensi dengan cara diambil koloni *C. albicans* dengan 1 ose mata steril dan dikultur dalam 2 ml media SDB dalam tabung reaksi, kemudian diinkubasi pada temperatur 37°C selama 24 jam, kemudian dicocokkan dengan standar Mc. Farland 1.

g. Membuat media cair *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)

Ukuran standar 13 gram bubuk SDA dan membutuhkan aquadest steril 200 mL, kemudian diaduk hingga homogen di atas *hotplate*. Media tersebut di sterilkan dengan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit. Kemudian media diinkubasi dengan suhu 37 °C selama 24 jam.

1.8.2. Tahap Perlakuan

a. Pemberian kode label perlakuan pada *petridish*

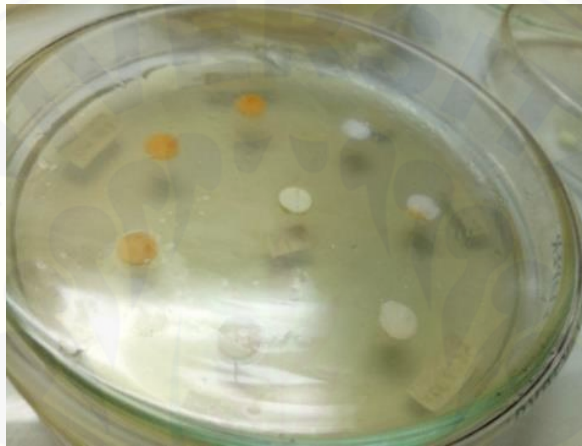
Pada bagian bawah *petridish* diberi kertas label agar bisa membedakan. Kertas label tersebut bertuliskan kelompok K+ Nistatin (kontrol positif, kelompok K- aquadest steril (kontrol negatif), kelompok EDK 25: ekstrak daun kakao 25%, kelompok EDK 50: ekstrak daun kakao 50%, kelompok EDK 75: ekstrak daun kakao 75% dan kelompok EDK 100: ekstrak daun kakao 100%. Untuk membedakan *petridish*, maka pada bagian tengah masing-masing *petridish* diberi kertas label nomor *petridish* 1 sampai 4.

b. Inokulasi suspensi *C. albicans*

Media SDA yang sudah hangat dituangkan kedalam *petridish* yang sudah disterilkan. Kemudian suspensi *C. albicans* diinokulasikan pada media dan diratakan menggunakan *thermolyne shaker* agar suspensi dapat menyebar secara merata dan ditunggu sampai agar tersebut memadat.

c. Peletakan *paper disk* pada media

Pada setiap *petridish* yang telah diinokulasikan *C. albicans*, dibagi menjadi 6 lokasi pada media SDA untuk ditempati *paper disk* yang telah ditetesi larutan kontrol dan ekstrak daun kakao. Paper disk yang digunakan adalah *oxoix* dengan diameter 0,5 mm. 6 lokasi tersebut diberi kertas label di atas *petridish* yang bertuliskan K+, K-, EDK 25, EDK 50, EDK 75 dan EDK 100.

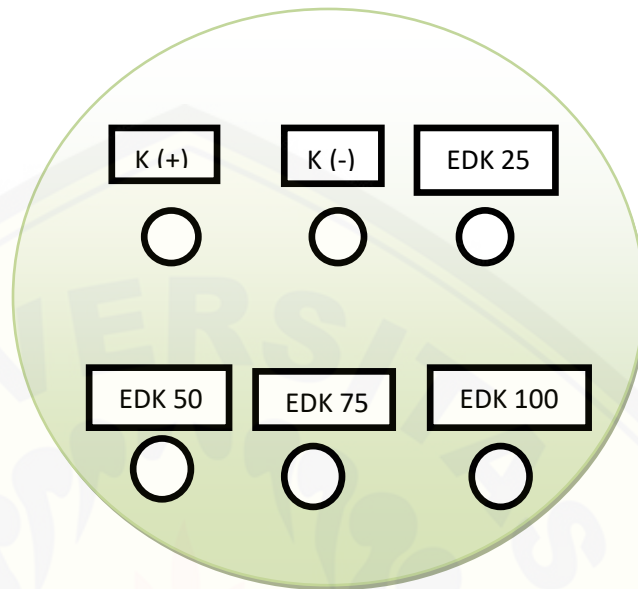


Gambar 3.4 Pemberian paper disk yang telah diberi perlakuan pada media SDA

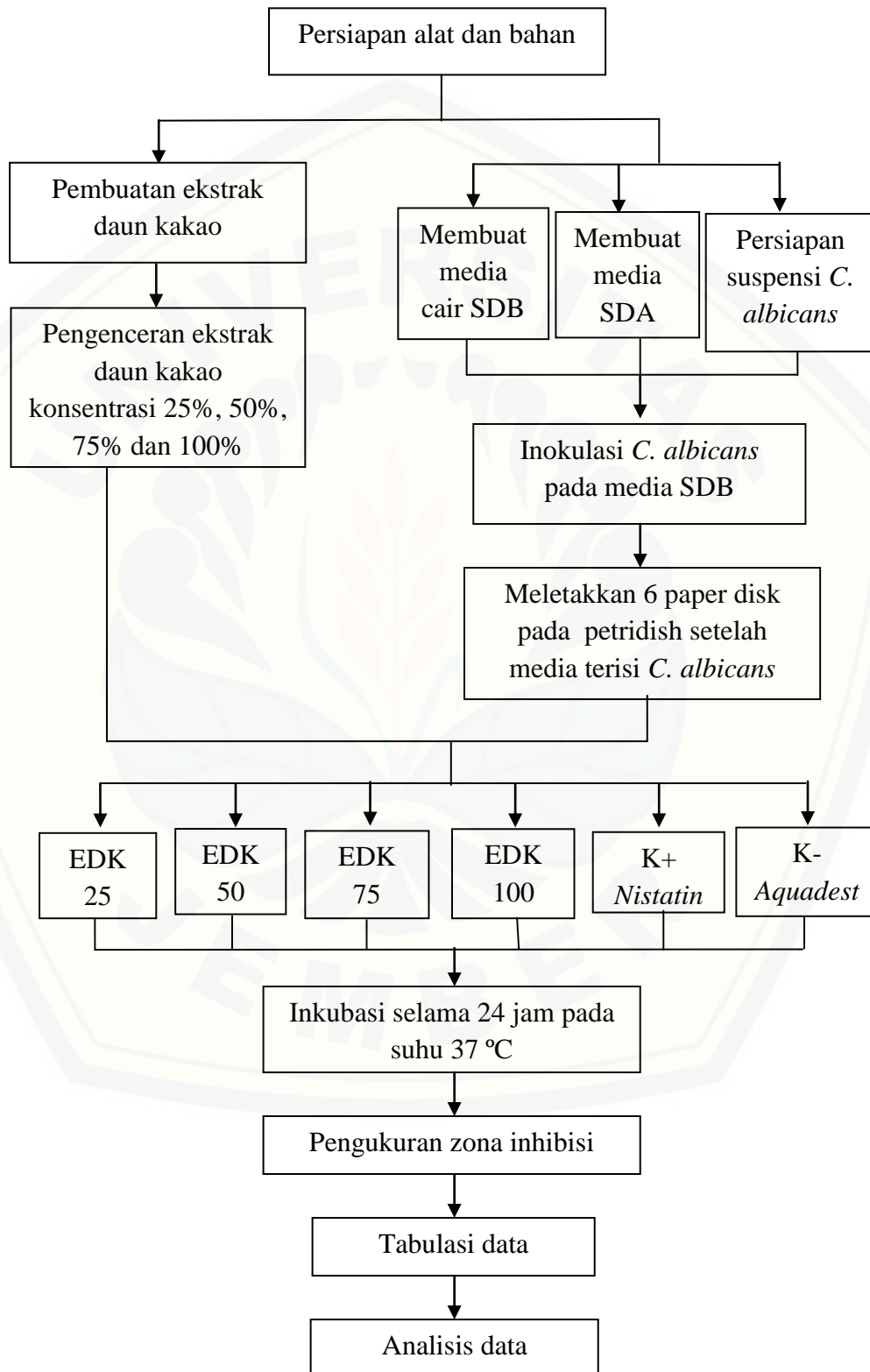
3.8.3 Tahap Pengukuran Diameter Zona Inhibisi

Pada tahap ini dilakukan pengamatan dan pengukuran dengan cara *petridish* dibalik agar zona hambat lebih terlihat jelas. Zona hambat ditunjukkan dengan terlihatnya daerah jernih disekeliling paper disk. Pengukuran zona hambat ini menggunakan jangka sorong. Cara pengukurannya yaitu diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) bersebrangan dengan melewati pusat paper disk dan dilakukan secara tegak lurus. Apabila terdapat diameter zona hambat pendek (a mm) dan panjang (b mm) maka keduanya dijumlah kemudian dibagi dua $x = \frac{(a+b)}{2}$. Pengukuran dilakukan sebanyak 3 kali oleh 3 orang pengamat yang berbeda yang sebelumnya telah diberikan

penjelasan untuk menyamakan persepsi dalam menghitung zona hambat, kemudian hasil pengukuran diambil rata-rata.



1.9. Alur Penelitian



Gambar 3.5. Diagram Alur Penelitian

3.10. Analisis Data

Setelah data terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisis data menggunakan program SPSS. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Kolmogorov-Smirnov* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Jika pada kedua uji tersebut menunjukkan data terdistribusi normal dan homogen ($p > 0,05$) maka dilanjutkan dengan uji parametrik, yaitu *Independent One Way ANOVA* dan dilakukan uji lanjut dengan *LSD (Least Square Differences)*. Tetapi jika data tidak terdistribusi normal atau tidak homogen ($p < 0,05$), maka dilanjutkan dengan uji statistik nonparametrik, yaitu *Kruskal-Wallis* yang dilanjutkan dengan uji *Mann-Whitney* untuk mengetahui apakah ada perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

- 5.1.1 Ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *Candida albicans*
- 5.1.2 Konsentrasi terbesar pada ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* adalah konsentrasi 100%.

5.2 Saran

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat diberikan saran sebagai berikut:

- 5.2.1 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai daya hambat ekstrak daun kakao (*Theobroma cacao L.*) terhadap mikroflora lain pada rongga mulut.
- 5.2.2 Perlu dilakukan uji biokompatibilitas sebelum digunakan sebagai bahan alternatif terapi kandidiasis oral secara *in vivo* untuk mengetahui efek samping yang ditimbulkan.
- 5.2.3 Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa antijamur (flavonoid, alkaloid dan kafein) dalam ekstrak daun kakao yang memiliki kemampuan paling efektif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Ajizah, A., 2004. Sensitivitas *Salmonella typhimurium* terhadap Ekstrak Daun *Psidium Guajava L.* *Bioscientiae*, 1 (1), 31-8.
- Akpan, A, Morgan,R. 2014. *Oral Candidiasis. Postgrad Med J*;78:455–459
- Ariyanti, Ni Kadek, I. B Gede Darmayasa dan S. K Sudirga. 2012. Daya Hambat Ekstrak Kulit Daun Lidah Buaya (*Aloe Barbadensis Miller*) Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dan *Escherichia coli* ATCC 25922. *Jurnal Biologi XVI*. (1): 1 – 4
- Babic M. dan Hukic M. *Candida albicans* and Non-albicans Species as Etiological Agent of Vaginitis in Pregnant and Non-Pregnant Women. Institute for Clinical Microbiology. *Bosnian Journal of Basic Medical Sciences*. Sarajevo. 2010;10 (1): 92-7
- Bozoglu, H., dan Karayel, R. (2006). Investigation of stomata densities in pea (*Pisum sativum L.*) lines cultivars. *Journal of Biological Sciences*, 6, 56-61.
- Bravo, L. 1998. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. *Nutr. Rev.*56 (11): 317-333.
- Candrasari, A., M.A. Romas, M. Hasbi, dan O.R. Astuti. 2012. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum Ruiz dan Pav.*) terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Escherichia coli* ATCC 11229 dan *Candida albicans* ATCC 10231 secara In Vitro. *Biomedika* 4(1): 9-16.
- Ciptadi, W. dan Nasution, M.Z. 1985. Pengolahan Kopi. Fakultas Teknologi Institut Pertanian Bogor.

- Dalle, F.. 2010. Cellular interactions of *Candida albicans* with human oral epithelial cells and enterocytes cells. *Microbiol.* Vol. 12: 248–271.
- Dangi, Y. S., Soni, M.L dan Namdeo. 2010. Oral Candidiasis: A Review. *International Journal Of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences.* Vol. 2(4): 36-39
- David WW dan Stout TR. Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay. 1971. *Appl Microbiol.* 22(4):659-65.
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta : Depkes RI
- Departemen Perindustrian. 2007. *Gambaran Sekilas Industri Kakao.* Departemen Perindustrian, Jakarta. Hal. 5-8.
- Dewi, F. K. 2010. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) terhadap Bakteri Pembusuk Daging Segar. *Skripsi.* Surakarta: Universitas Sebelas Maret.
- Ditjen POM. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.* Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Ermayanti, A. 2014. Pengaruh Pemberian Profilaksis Nistatin Terhadap Kandidiasis Oral Pada Neonatus Di HCU Neonatus. *Tesis.* Surakarta: Program Pascasarjana Universitas Sebelas Maret.
- Fauziah, G. F. 2014. Perbedaan Potensi Antijamur Ekstrak Etanolik Kulit Manggis (*Garcinia Mangostana L.*) Dengan Nistatin Terhadap *C. albicans* In Vitro. *Skripsi.* Yogyakarta: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Gadjah Mada.
- Febrianto, N.A. (2013). Hidrolisat protein asal bungkil kakao dan ampas kopi. *Warta Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia.*, 25(3), 20-23.

Filler, S. G. dan Sheppard, D. C. 2006. Fungi Invasion of Normally Non Phagocytic Host Cells. *PLos Pathog.* Vol. 2: 129.

Gow, Neil AR Hube dan Bernhard. 2012. Importance of the *Candida albicans* Cell Wall During Comensalism and Infection. *Current Opinion in Microbiology.* Vol. 15: 406-412.

Grenbeerg, M.S., M. Glick, dan J.A. Ship. 2008. *Burket's Oral Medicine.* 11th Edition. Canada: BC Decker Inc Hamilton

Gunadi, Praharani, Fatmawati, Wulandari, Lestari, dan Ernawati. 2012. *Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi.* Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Heddy, S. 1990. Biologi Pertanian: Tinjauan Singkat tentang Anatomi, Fisiologi, Sistematika, dan Genetika Dasar Tumbuh-tumbuhan. Rajawali Press. Jakarta. 282 hlm

Heinrich, M., Barnes, J., Gibbons S. dan Williamso, E. M. 2004. *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapy.* Hungari : Elsevier.

Henriques MCR. 2007. *Candida dubliniensis versus C.albicans adhesion and biofilmformation.* Departemen of biological engineering (dissertation). University of Minho department of biological engirecrly.

Hiller, E., Zavrel, M., Hauser, N., Sohn, K., Kentinscher, A. B., Lemuth, K. dan Rupp, S. 2011. Adaptation, Adhesion and Invasion during Interaction of *Candida albicans* with The Host: Focus on The Function of Cell Wall Proteins. *International Journal of Medical Microbiology.* Vol. 301: 384-389.

<https://id.wikipedia.org/wiki/KakaoTalk>

J. Supranto, 2000, Statistik (Teori dan Aplikasi), Edisi Keenam, Jakarta, Erlangga.

- Jainkittivong. 2007, Candidiasis in OLP patients undergoing topical steroid therapy. *Triple O*. Vol. 104: 61-66
- Janzen, S. Oestreich. 2010. *Chemistry of Coffe*. Hamburg: Elsevier.
- Kementrian Pertanian. 2008. Penanaman Kakao. [Internet]. <http://cybex.deptan.go.id/category/bidang/perkebunan/tanaman-rempah-dan-penyegar/kakao?page=1>
- Kicklighter, S. D. 2002. Antifungal Agents and Fungal Prophylaxis in The Neonate. *Neo Reviews*. 3:249-54
- Klis, Frans. M. 2009. Covalently linked cell wall proteins of *Candida albicans* and their role in fitness and virulence. *FEMS Yeast Res*. 1-16.
- Komariah, dan R. Sjam. 2012. Kolonisasi *Candida* dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI XXVIII*(1): 39-47.
- Lenny, Sovia. 2006. Senyawa Flavonoida, Fenilpropanoida, dan Alkaloida. Tidak Diterbitkan. Karya Ilmiah. Departemen Kimia Fakultas MIPA Universitas Sumatra Utara. Medan: USU Repository.
- Lorenz, M.C., Bender, J.A., dan Fink, G.R. 2004. Transcriptional Response Of *Candida Albicans* Upon Internalization By Macrophages. *Eukaryot Cell*. Vol. 3:1076–1087.
- Maharani, Setiawati. 2012. SKRIPSI: Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. Semarang: Universitas Diponegoro Press. Hal: 10-12.
- Maharani, S. dan O. Santoso. 2012. Pengaruh Pemberian Larutan Ekstrak Siwak (*Salvadora persica*) Pada Berbagai Konsentrasi Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Jurnal PDGI* 61(2):61-64.

- Michel, G. W. *Analytical profiles of drug substances*. New Jersey: Academic Press, 1972.
- Netea, Mihai G., Brown, Gordon D., Kullberg, Bart J., dan Gow, Neil A. R. 2008. An Integrated Model of the recognition of *Candida albicans* by Immune System. *Microbiology*. Vol. 6: 67-78.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta : Rineka Cipta
- Nugrahaningtyas, K, D., Sabirin, M. dan Tutik, D, W., 2005, Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dalam Rimpang Temu Ireng (*Curcuma aeruginosa* Roxb.) *Biofarmasi*, 3 (1), 32-38 cit Harborne, J.B. 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, Penerjemah: Padmawinata, K. Terbitan kedua. Bandung: Penerbit ITB
- Osman, H., Nasarudin, R. dan Lee, S.L. (2004). Extracts of cocoa (*Theobroma cacao* L) leaves and their antioxidant potential. *Food Chemistry* 86: 41-46.
- Permatasari, D., L, Y. Budiarti, dan M. L. Apriasari. 2016. Efektivitas Antifungi Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (*Musa acuminata*) dan *Chlorhexidine gluconate* 0,2% terhadap *Candida albicans*. *Dentino Jurnal Kedokteran* I(1): 10-14.
- Phan, Q.T. 2007. Als3 is a *Candida albicans* Invasin That Binds To Cadherins And Induces Endocytosis By Host Cells. *PLoS Biol*. Vol. 5(6).
- Rahmawati W., Winarsih S. dan Nurdiana. 2013. Pengaruh Ekstrak Etanol Daun Kopi Robusta terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* secara *invitro*.
- Rautemaa R, Ramage G. Oral candidosis clinical challenges of a biofilm disease. *Critical reviews in microbiology*. 2011; 37(4): 328 – 336.
- Redha, A. 2010. Flavonoid: Struktur, Sifat Antioksidatif dan Peranannya dalam Sistem Biologis. *Jurnal Belian* 9(2):196-202.

- Ryan K.J. 1994. Sherris medical microbiology an introduction to infectious diseases. *Appleton & Lange*. Vol. 3 : 591-597.
- Samarayanake, L.P., *Essential Microbiology for Dentistry*, Second Edition, Edinburgh Et Al.: Churchill Livingstone, 2002: 142-147.
- Scully C. oral and maxillofacial medicine. The Basic of Diagnostic and Treatment. 2nd ed. Endinburgh: Churchill livingston Elsevier; 2008. 191-204.
- Segal dan Bavin. 1994. *Pathogenic Yeast and Yeast Infection*. *Library of Congress Cataloging in Publication Data*, hal 12. Tokyo: CRC Press Inc.
- Septianoor, M. H., A. N. Carabelly, dan M. L. Apriasari. 2013. Uji Efektivitas Antifungi Ekstrak Metanol Batang Pisang Mauli (*Musa sp*) terhadap *Candida albicans*. *Jurnal PDGI* 62(1): 7-10.
- Sidik dan Mudahar, H., 2000, Ekstraksi tumbuhan obat, metode dan faktor-faktor yang mempengaruhi mutunya, Makalah pada seminar sehari Perhipba Komariat, Jakarta : Universitas 17 Agustus 1945, Jakarta.
- Siregar. 2005. Atlas Berwarna Saripati Penyakit Kulit. Jakarta : EGC
- Siregar, T.H.S., Riyadi, S., Nuraeni, L. 2010. *Budi Daya Cokelat*. Jakarta: Penebar Swadya
- Soraya, R. K. 2015. Identifikasi Senyawa Kimia Dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Sebagai Antifungi *C. albicans*. *Skripsi*. Purwokerto: Fakultas Ilmu-Ilmu Kesehatan Universitas Jendral Soedirman.
- Sudbery, P., Gow, N., dan Berman, J. 2004. The Distinct Morphogenic States of *Candida albicans*. *TRENDS in Microbiology* [serial on

line].http://www.cbs.umn.edu/sites/default/files/public/downloads/Sudbery_04_TrendsMicrobio.pdf. [12 April 2016].

Sudbery, Peter E. 2011. Growth of *Candida albicans* Hyphae. *Nature Reviews Microbiology*. Vol. 9: 737:748.

Sulistiawati, D. dan Mulyati, S. 2009. Uji Antijamur Infusa Daun Jambu Mete (*Anacardium occidentale*) terhadap *Candida albicans*. *Biomedica*. 2(1): 337-339.

Sulistyowati, E., A.W. Susilo, A. Prawoto, dan E. Mufrihati. 2004. Pengendalian terpadu hama penggerek buah kakao (PBK, *Conopomorpha cramerella* Snell). hlm. 112–130. Prosiding Simposium Kakao, Yogyakarta, 4-5 Oktober 2004. Pusat Penelitian Kopi dan Kakao Indonesia, Jember.

Sunanto, H. 1992. *Cokelat Pengolahan Hasil dan Aspek Ekonominya*. Yogyakarta: Kanisius.

Sunanto, H. 1994. *Cokelat- Budidaya, Pengolahan Hasil dan Aspek Ekonominya*. Jakarta: Kanisius

Supriyanto, Purnama Darmaji, Iik Susanti. 2014. Studi Pembuatan Teh Tanaman Daun Kakao (*Thebroma cacao L.*) Sebagai Minuman Penyegar. Fakultas Teknologi Pertanian: UGM.

Susanto, FX. 1994. *Tanaman Kakao Budidaya dan Pengolahan Hasil*. Yogyakarta: Kanisius.

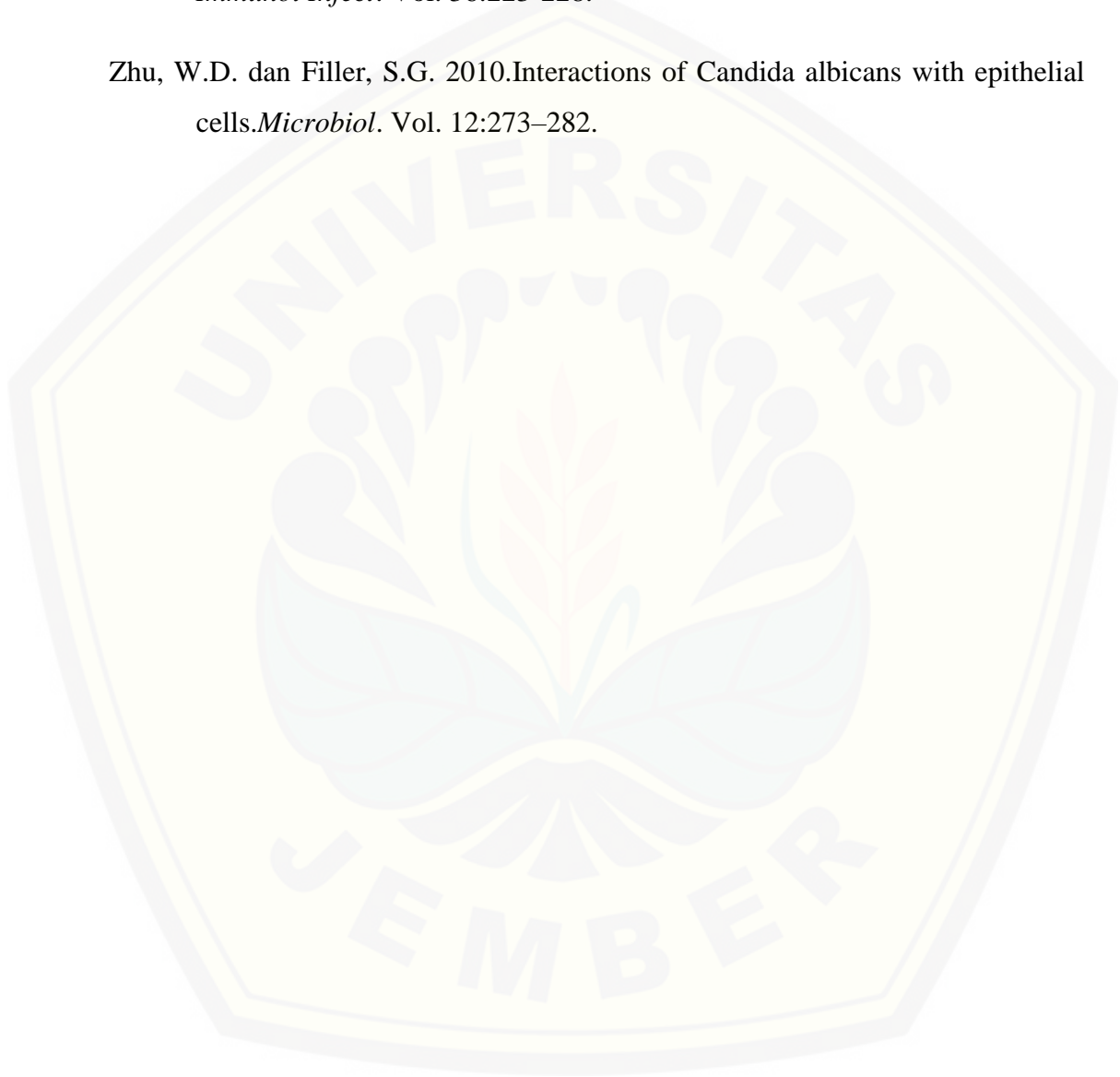
Syarif A., 2007. Farmakologi dan terapi. Gaya Baru: Jakarta. Vol. 5: 571.

Tjitrosoepomo, G. (1988). Taksonomi tumbuhan (Spermathophyta). Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada.

Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*, Diterjemahkan oleh Soendani N. S., Yogyakarta : UGM Press.

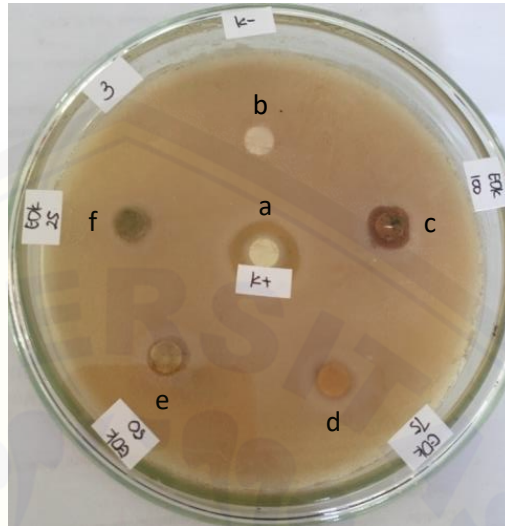
Yun, Liang Yang. 2003. Virulence Factors of Candida Species. *Journal Microbiol Immunol Infect.* Vol. 36:223-228.

Zhu, W.D. dan Filler, S.G. 2010. Interactions of Candida albicans with epithelial cells. *Microbiol.* Vol. 12:273–282.

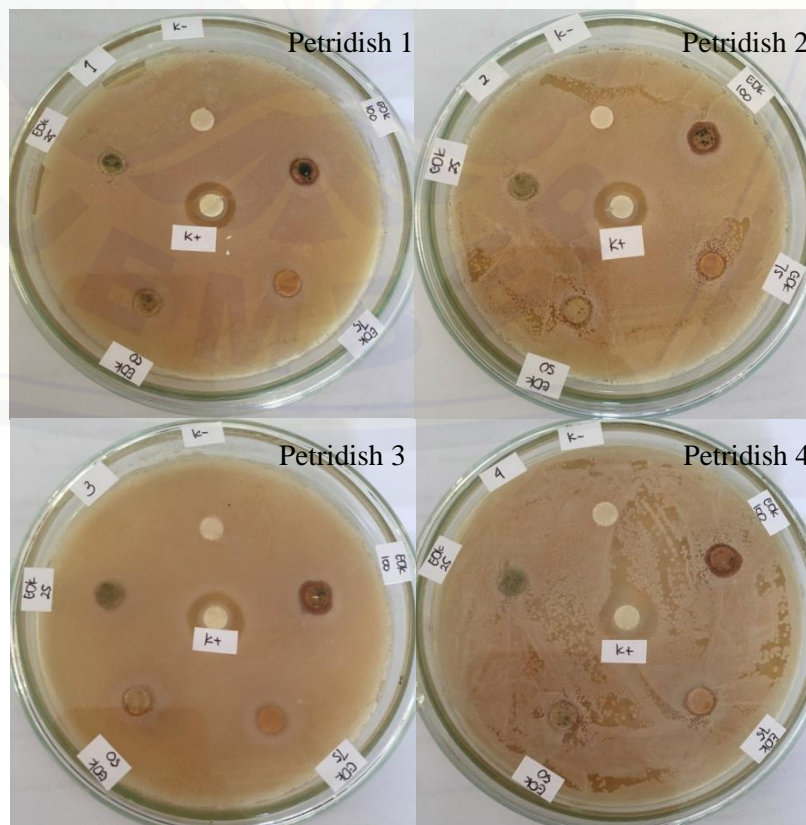


LAMPIRAN

A. Foto Hasil Penelitian

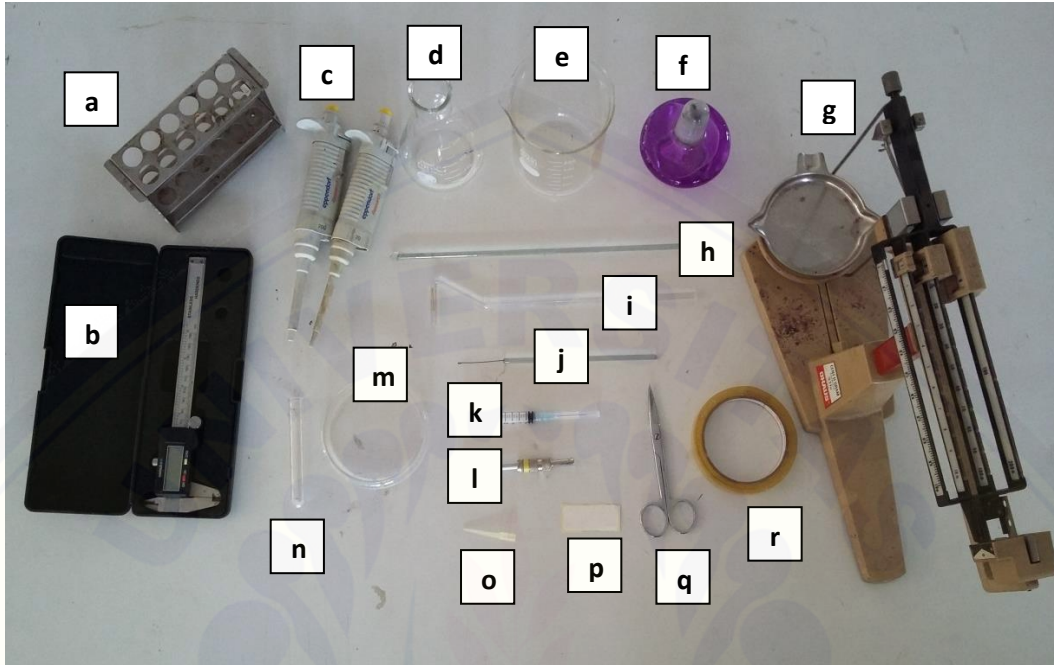


Zona hambat ekstrak daun kakao (*Thebroma cacao L.*) terhadap pertumbuhan *C. albicans*. (a) Zona hambat K⁺ (Nistatin), (b) Zona hambat K⁻ (Aquadest), (c) Zona hambat ekstrak daun kakao konsentrasi 100%, (d) Zona hambat ekstrak daun kakao konsentrasi 75%, (e) Zona hambat ekstrak daun kakao konsentrasi 50%, (f) Zona hambat ekstrk daun kakao konsentrasi 25%.



B. Foto Alat Penelitian dan Bahan Penelitian

B.1 Alat Penelitian



Keterangan :

- | | |
|--------------------------|------------------------------------|
| a. Rak tabung reaksi | j. Ose |
| b. Jangka sorong digital | k. <i>Syringe</i> |
| c. Mikropipet | l. <i>Borer stainless steel</i> |
| d. Tabung erlenmeyer | m. <i>Petridish</i> tidak bersekat |
| e. <i>Beaker glass</i> | n. Tabung reaksi |
| f. Bunsen | o. <i>Phenotype</i> |
| g. Neraca | p. Label |
| h. Spatula kaca | q. Gunting |
| i. Gigaskrin | r. Isolasi |



Timbangan digital



Corong kaca



Alumunium foil



Kertas saring



Incubator



Oven



Autoclave



Laminar flow



Thermolyne

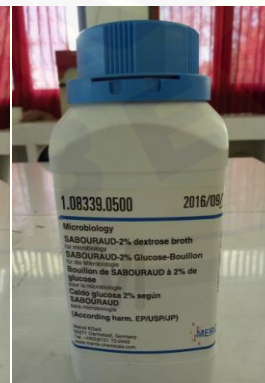
B.2 Bahan Penelitian



Daun Kakao



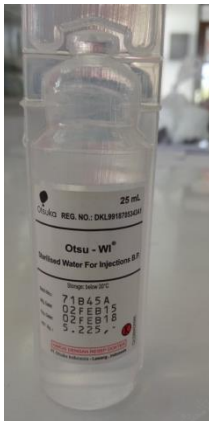
SDA



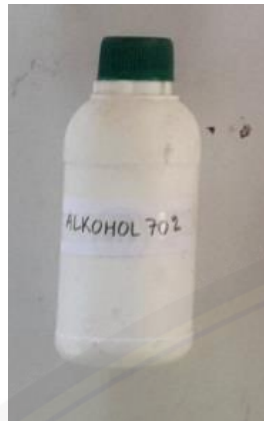
SDB



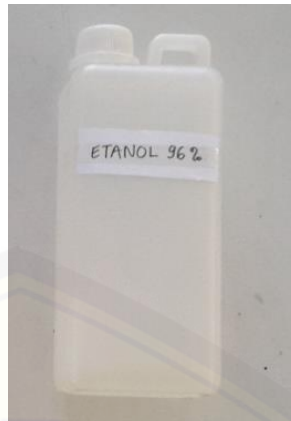
Nistatin



Aquades



Alkohol 70%



Etanol 96%



Candida albicans

C. Analisis Data

C.1 Hasil Uji Normalitas Data Menggunakan Kolmogorov-Smirnov

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Kontrol Positif (Nistatin)	Kontrol Negatif (Aquadest)	EDK 100 (Konsentrasi 100%)	EDK 75 (Konsentrasi 75%)	EDK 50 (Konsentrasi 50%)	EDK 25 (Konsentrasi 25%)
N		4	4	4	4	4	4
Normal Parameters ^a	Mean	1,2675	,0000	,7975	,6300	,0000	,0000
	Std. Deviation	,10595	,00000 ^c	,06185	,04967	,00000 ^c	,00000 ^c
Most Extreme Differences	Absolute	,406		,266	,250	,250	
	Positive	,247		,198	,250		
	Negative	-.406		-.266	-.210		
Kolmogorov-Smirnov Z		,812		,532	,500		
Asymp. Sig. (2-tailed)		,525		,940	,964		
a. Test distribution is Normal.							

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

C.2 Hasil Uji Homogenitas Data Menggunakan Levene-Statistic

Test of Homogeneity of Variances

Hamb

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
4.957	5	18	.005

C.3 Hasil Uji Non-Parametrik Menggunakan Kruskal-Wallis

	Hamb
Chi-Square	22.657
Df	5
Asymp. Sig.	.000

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kel

C.4 Hasil Uji Non-Parametrik Menggunakan Mann-Whitney

C.4.1 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 25%:50%

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	Konsentrasi 50%	4	4.50	18.00
	Konsentrasi 25%	4	4.50	18.00
	Total	8		

	DayaHambat
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: EDK

C.4.2 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 25%:75%**Ranks**

EDK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat Konsentrasi 75%	4	6.50	26.00
Konsentrasi 25%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.3 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 25%:100%**Ranks**

EDK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat Konsentrasi 100%	4	6.50	26.00
Konsentrasi 25%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.4 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 25%:Kontrol Negatif (Aquadest)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K- (Aquades)	4	4.50	18.00
	Konsentrasi 25%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.5 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 25%:Kontrol Positif (Nistatin)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K+ (Nistatin)	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 25%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: EDK

C.4.6 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 50%:75%**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	Konsentrasi 75%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 50%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.7 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 50%:100%**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	Konsentrasi 100%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 50%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.8 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 50%:Kontrol Negatif (Aquadest)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K- (Aquadest)	4	4.50	18.00
	Konsentrasi 50%	4	4.50	18.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.9 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 50%:Kontrol Positif (Nistatin)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K+ (Nistatin)	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 50%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: EDK

C.4.10 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 75%:100%**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	Konsentrasi 100%	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.11 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 75%:Kontrol Negatif (Aquades)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K- (Aquades)	4	2.50	10.00
	Konsentrasi 75%	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.12 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 75%:Kontrol Positif (Nistatin)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K+ (Nistatin)	4	6.50	26.00
	Konsentrasi 75%	4	2.50	10.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: EDK

C.4.13 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 100%:Kontrol Negatif (Aquadest)**Ranks**

EDK		N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat	K- (Aquades)	4	2.50	10.00
	Konsentrasi 100%	4	6.50	26.00
	Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
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: EDK

C.4.14 Ekstrak Daun Kakao Konsentrasi 100%:Kontrol Positif (Nistatin)

Ranks

EDK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat K+ (Nistatin)	4	6.50	26.00
Konsentrasi 100%	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.323
Asymp. Sig. (2-tailed)	.020
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: EDK

C.4.15 Kontrol Negatif (Aquadest):Kontrol Positif (Nistatin)

Ranks

EDK	N	Mean Rank	Sum of Ranks
DayaHambat K+ (Nistatin)	4	6.50	26.00
K- (Aquadest)	4	2.50	10.00
Total	8		

Test Statistics^b

	DayaHambat
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	10.000
Z	-2.477
Asymp. Sig. (2-tailed)	.013
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.029 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: EDK