



**DAYA HAMBAT EKSTRAK MINYAK ATSIRI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix DC.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Candida albicans***

SKRIPSI

Oleh

Ananda Regina Putri Darna

NIM 161610101014

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**



**DAYA HAMBAT EKSTRAK MINYAK ATSIRI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix DC.*) 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

Ananda Regina Putri Darna

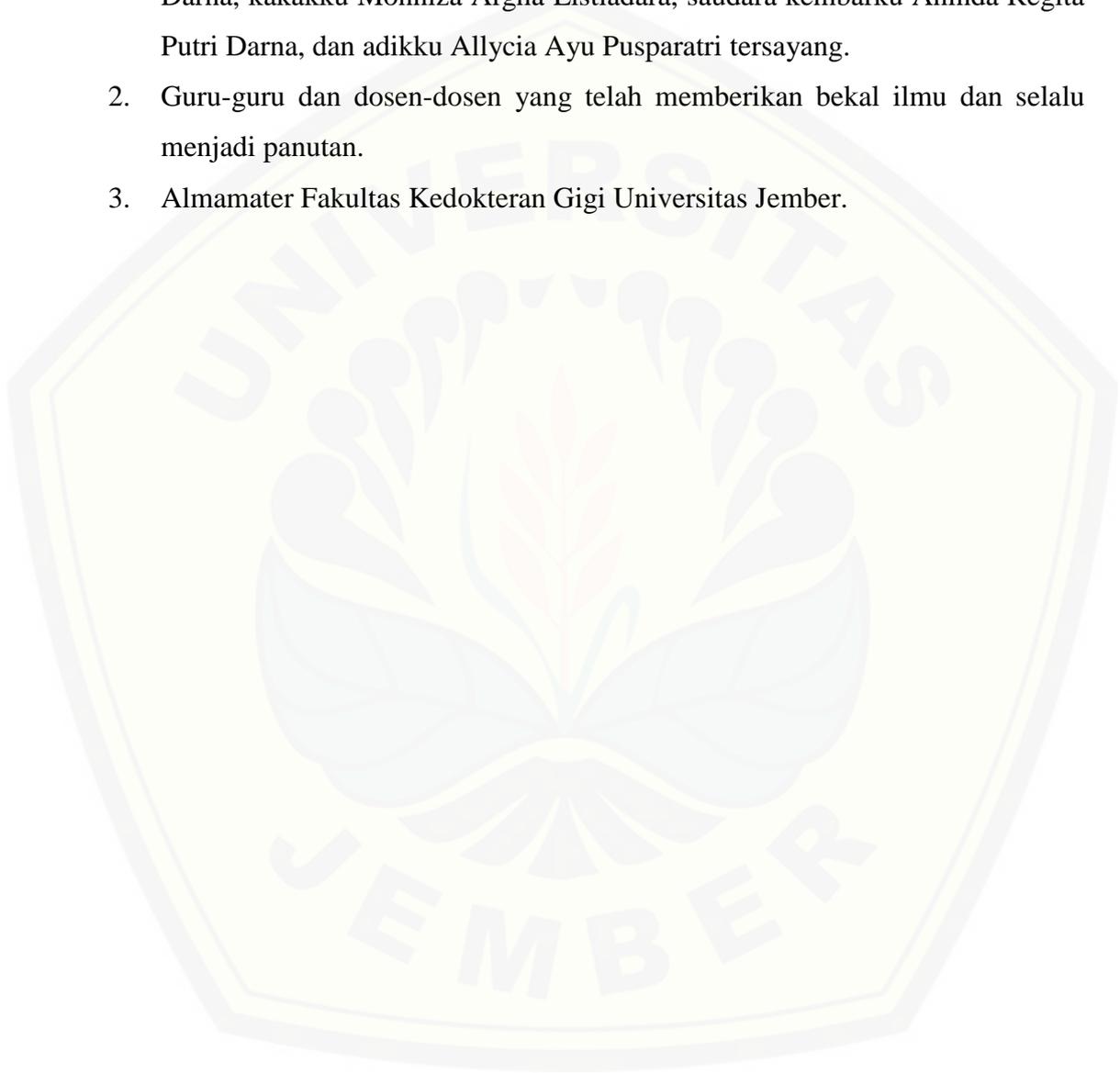
NIM 161610101014

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER
2020**

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Keluarga tercinta saya, Ibu Ema Yulistiani dan Bapak Andi Susanto Budi Darna, kakakku Monniza Argha Listiadara, saudara kembarku Aninda Regita Putri Darna, dan adikku Allycia Ayu Pusparatri tersayang.
2. Guru-guru dan dosen-dosen yang telah memberikan bekal ilmu dan selalu menjadi panutan.
3. Almamater Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.



MOTTO

“Berdoalah (mintalah) kepadaKu, niscaya Aku kabulkan untukmu.”

(Q.S Al-Mukmin : 60)*

“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)*

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

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ananda Regina Putri Darna

NIM : 161610101014

Menyatakan dengan sesungguhnya bahwa karya ilmiah yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*” adalah benar-benar hasil karya saya sendiri, kecuali kutipan yang sudah saya sebutkan sumbernya, belum pernah diajukan pada institusi manapun, serta 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 manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata di kemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 28 Februari 2020

Yang menyatakan,

Ananda Regina Putri Darna

NIM. 161610101014

SKRIPSI

**DAYA HAMBAT EKSTRAK MINYAK ATSIRI DAUN JERUK
PURUT (*Citrus hystrix DC.*) TERHADAP PERTUMBUHAN
*Candida albicans***

Oleh

Ananda Regina Putri Darna

NIM 161610101014

Dosen Pembimbing

Dosen Pembimbing Utama : Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes

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

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*” telah diuji dan disahkan pada:

Hari, tanggal : Jumat, 28 Februari 2020

Tempat : Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember

Dosen Penguji Ketua

Dosen Penguji Anggota

drg. Pudji Astuti, M.Kes

drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes

NIP. 196810201996012001

NIP. 197608092005012002

Dosen Pembimbing Utama

Dosen Pembimbing Pendamping

Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes

drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM

NIP. 197512022003122001

NIP. 19841221200912200

Mengesahkan

Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember,

drg. Rahardyan Parnaadji, M.Kes.,Sp.Pros

NIP. 196901121996011001

RINGKASAN

Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix* DC.) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*; Ananda Regina Putri Darna; 161610101014; 2020; 81 halaman; Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Candida albicans merupakan jamur komensal yang normal terdapat di mukosa rongga mulut individu sehat. *C. albicans* dapat menjadi patogen pada kondisi tertentu sehingga dapat menyebabkan infeksi yang disebut *candidiasis*. Obat antijamur topikal yang sering digunakan adalah nistatin. Nistatin dapat memberikan efek gangguan saluran pencernaan sehingga perlu dicari alternatif lain untuk pengobatan *oral candidiasis*.

Minyak atsiri yang terkandung dalam daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) diketahui memiliki bioaktivitas sebagai antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*, dan menganalisis konsentrasi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix* DC.) yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

Jenis penelitian ini adalah eksperimental laboratoris secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *the post test only group design*. Uji aktivitas antijamur menggunakan metode *disk-diffusion*. Jumlah keseluruhan sampel pada penelitian ini adalah 28 buah sampel yang dibagi menjadi 7 kelompok penelitian yaitu kelompok kontrol terdiri dari K+ (nistatin) dan K- (DMSO 10%+tween 80 0,5%) dan kelompok perlakuan terdiri dari ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Setiap kelompok penelitian diambil sebanyak 20 µl dan diteteskan pada *paper disk*. *Paper disk* diletakkan di atas permukaan media SDA yang telah diinokulasi *C. albicans* dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong digital.

Data hasil penelitian ditabulasi dan didapatkan nilai rata-rata diameter zona hambat kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% (22,29 mm), 50% (18,74 mm), 25% (12,68 mm), 12,5% (9,82 mm), 6,25% (8,12 mm), K+ (nistatin) (10,68 mm), dan K- (DMSO 10% + tween 80 0,5%) (0,00

mm). Hasil uji normalitas *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas *Levene* menunjukkan data penelitian berdistribusi normal dan homogen, selanjutnya dilakukan uji statistik parametrik *One-Way ANOVA*. Hasil uji *One-Way ANOVA* diperoleh nilai signifikansi 0,000 ($\alpha < 0,05$) yaitu terdapat perbedaan pada seluruh kelompok penelitian. Hasil uji LSD menunjukkan terdapat perbedaan bermakna antar kelompok penelitian kecuali antara kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25% dengan K+ (nistatin), kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 12,5% dengan konsentrasi 6,25% dan K+ (nistatin).

Kesimpulan penelitian ini yaitu ekstrak minyak atsiri ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*, dan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) konsentrasi 100% memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

PRAKATA

Puji syukur ke hadirat Allah SWT atas segala anugrah dan rahmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan dan bimbingan berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Allah SWT atas limpahan nikmat, karunia dan hidayahNya sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
2. drg. R. Rahardyan Parnaadji, M.Kes., Sp.Pros selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dan Dr. drg. Masniari Novita, M.Kes, Sp.Of. (K) selaku Wakil Dekan I Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
3. Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan saran dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
4. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan, saran, dan memotivasi dengan menceritakan pengalaman dalam menyusun skripsi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
5. drg. Pudji Astuti, M.Kes selaku Dosen Penguji Ketua dan drg. Pujiana Endah Lestari, M.Kes selaku Dosen Penguji Anggota yang telah berkenan menguji dengan memberikan kritik yang membangun, saran dan motivasi pada penulisan skripsi ini.
6. drg. Ari Triwanodyo Handayani, M.Kes selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah memberikan bimbingan, motivasi dan semangat selama menjadi mahasiswa di Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

7. Pak Gigih, Bu Yuyuk, Bu Wenny, dan seluruh staff akademik yang telah membantu perizinan penelitian sehingga skripsi ini dapat terselesaikan
8. Kedua orang tua tercinta, Ibu Ema Yulistiani dan Bapak Andi Susanto Budi Darna yang memberikan kasih sayang sepanjang masa, tak kenal lelah mendoakan, memberi dukungan, perhatian, dan peluh yang tak ternilai lagi demi masa depan.
9. Kakakku Monniza Argha Listiadara, saudara kembarku Aninda Regita Putri Darna, dan adikku Allycia Ayu Pusparatri yang selalu mendoakan, saling memberi semangat, motivasi, dan bersedia mendengarkan seluruh keluh kesah selama ini.
10. Kakek, nenek serta keluarga besar tersayang yang senantiasa mendoakan dan memberi dukungan.
11. Novrian Wahyu Hariaji yang senantiasa mendoakan, memberi dukungan dan semangat berupa apapun dan selalu mendengarkan keluh kesah selama ini.
12. Saudara seperjuangan Nia Nurmayanti dan Dheamira Rosida yang selalu ada dalam segala situasi.
13. Teman seperjuangan skripsi, Oksalani Cahya Rana dan Lifia Mufida yang ikut serta dalam melakukan penelitian uji daya hambat.
14. Sahabat-sahabat Tutorial 2 dan keluarga KKN 264 yang saling mendoakan, memberikan semangat dan motivasi sehingga skripsi ini dapat terselesaikan.
15. Sahabat-sahabat seperjuangan di Fakultas Kedokteran Gigi angkatan 2016.
16. Bu Nur (teknisi Bagian Biomedik Laboratorium Fisiologi, Fakultas Kedokteran Gigi), Bu Indri (teknisi Bagian Biomedik Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi), Pak Mistar (teknisi Laboratorium Rekayasa Ilmu Pangan Fakultas Teknologi Pertanian), dan semua teknisi yang telah turut membantu dalam penelitian saya.
17. Semua pihak yang turut terlibat baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu, terima kasih untuk kalian semua.

Jember, 28 Februari 2020

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN	v
HALAMAN PEMBIMBINGAN	vi
HALAMAN PENGESAHAN	vii
RINGKASAN	viii
PRAKATA	x
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR TABEL	xvi
DAFTAR LAMPIRAN	xvii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
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
2.1.4 Patogenesis <i>C. albicans</i>	8
2.2 Oral Candidiasis	10
2.3 Mekanisme Agen Antijamur	10
2.3.1 Penghambatan Dinding Sel Jamur	11
2.3.2 Gangguan Membran Sel Jamur.....	11
2.3.3 Penghambatan Biosintesis Ergosterol.....	11
2.3.4 Penghambatan Sintesis Protein Jamur	12

2.3.5. Penghambatan Mitosis Jamur	12
2.4 Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix DC.</i>)	12
2.4.1 Klasifikasi Tanaman Jeruk Purut	12
2.4.2 Morfologi Tanaman Jeruk Purut	13
2.4.3 Kandungan Daun Jeruk Purut	14
2.5 Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut	14
2.6 Metode Ekstraksi	17
2.7 Metode Uji Aktivitas Antijamur	18
2.8 Kerangka Konsep Penelitian	21
2.9 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian	22
2.10 Hipotesis	22
BAB 3. METODE PENELITIAN	23
3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian	23
3.1.1 Jenis Penelitian	23
3.1.2 Rancangan Penelitian	23
3.2 Waktu dan Tempat Penelitian	23
3.2.1 Waktu Penelitian	23
3.2.2 Tempat Penelitian	23
3.3 Variabel Penelitian	23
3.3.1 Variabel Bebas	23
3.3.2 Variabel Terikat	24
3.3.3 Variabel Terkendali	24
3.4 Definisi Operasional	24
3.4.1 <i>Candida albicans</i>	24
3.4.2 Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut	24
3.4.3 Daya Hambat Pertumbuhan <i>C. albicans</i>	25
3.4.4 Media Biakan <i>C. albicans</i>	25
3.4.5 Suspensi <i>C. albicans</i>	25
3.4.6 Alat ukur	25
3.5 Sampel Penelitian	26
3.5.1 Jumlah Sampel	26

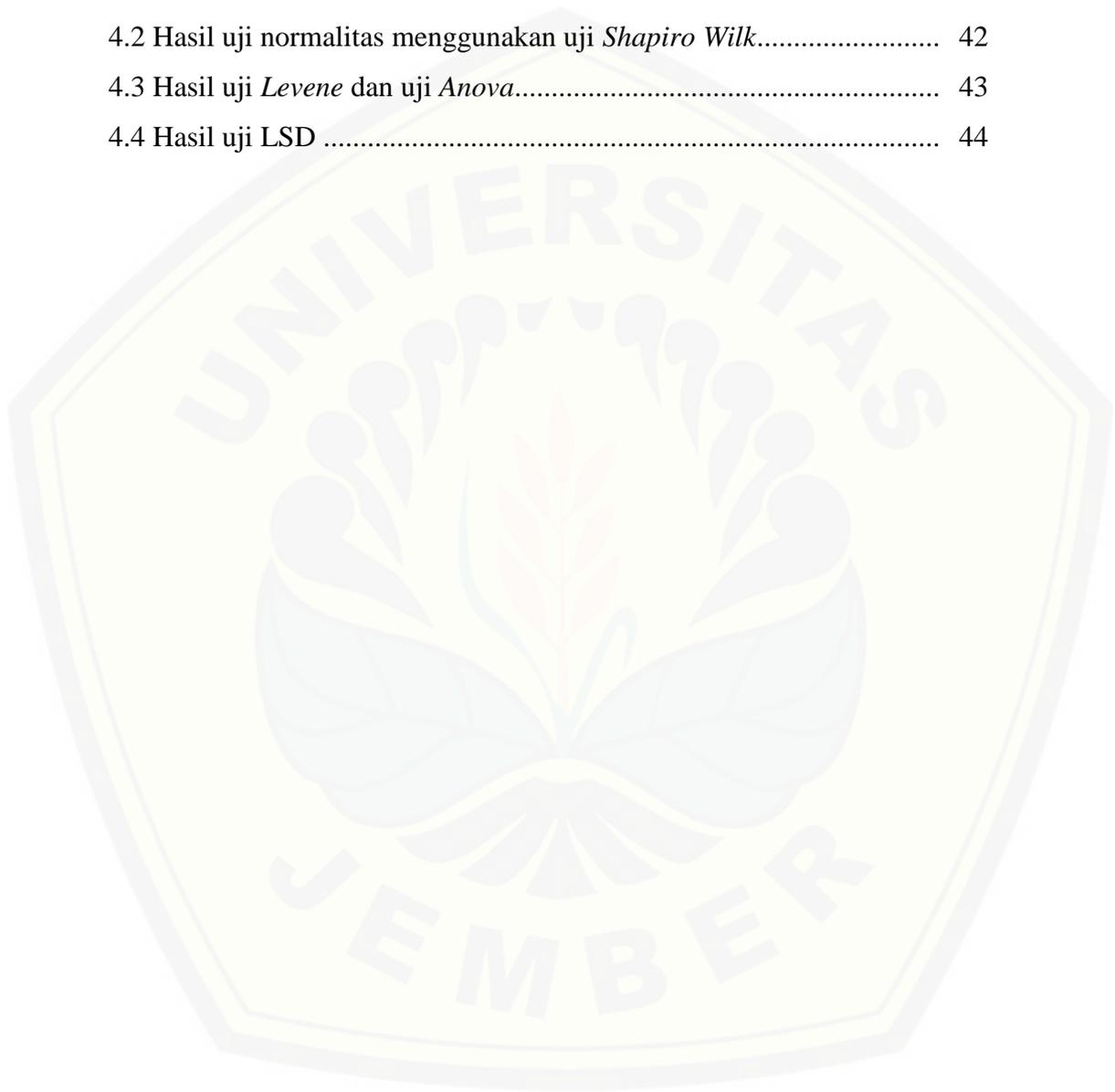
3.5.2 Pengelompokkan Sampel.....	26
3.5.3 Kriteria Daun Jeruk Purut	27
3.6 Alat dan Bahan Penelitian	27
3.6.1 Alat Penelitian.....	27
3.6.2 Bahan Penelitian	28
3.7 Prosedur Penelitian.....	28
3.7.1 Tahap Persiapan	28
3.7.2 Tahap Perlakuan	35
3.7.3 Tahap Pengukuran Zona Hambat	36
3.8 Analisis Data.....	37
3.9 Alur Penelitian	38
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	39
4.1 Hasil Penelitian.....	39
4.2 Analisis Data.....	41
4.3 Pembahasan.....	44
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN	48
5.1 Kesimpulan.....	48
5.2 Saran	48
DAFTAR PUSTAKA	49
LAMPIRAN.....	55

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
2.1 Gambaran mikroskop elektron sel ragi <i>C.albicans</i>	5
2.2 Gambaran mikroskop elektron pseudohifa <i>C.albicans</i>	6
2.3 Gambaran mikroskop elektron hifa <i>C.albicans</i>	6
2.4 Ilustrasi komponen penyusun dinding sel <i>C.albicans</i>	7
2.5 Gambaran skematik patogenesis <i>C.albicans</i>	9
2.6 Gambaran mikroskop elektron biofilm <i>C.albicans</i>	9
2.7 <i>Oral candidiasis</i>	10
2.8 Tanaman Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix DC.</i>)	13
2. 9 Rantai kimia komponen utama minyak atsiri daun jeruk purut	16
2.10 Bagan kerangka konsep penelitian.....	21
3.1 Daun jeruk purut segar	27
3.2 Pedoman pengukuran diameter zona hambat.....	37
3.3 Diagram alur penelitian.....	38
4.1 Pengukuran diameter zona hambat	39
4.2 Histogram nilai rata-rata diameter zona hambat	41

DAFTAR TABEL

	Halaman
2.1 Komposisi minyak atsiri tanaman jeruk purut (<i>Citrus hystrix DC.</i>)	16
4.1 Nilai rata-rata diameter zona hambat dan standar deviasi	40
4.2 Hasil uji normalitas menggunakan uji <i>Shapiro Wilk</i>	42
4.3 Hasil uji <i>Levene</i> dan uji <i>Anova</i>	43
4.4 Hasil uji LSD	44



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
A. Alat dan Bahan Penelitian	55
A. 1 Alat Penelitian	55
A. 1 Bahan Penelitian.....	57
B. Dokumentasi Penelitian.....	58
B. 1 Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut.....	58
B. 2 Pengenceran Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut.....	61
B. 3 Pembuatan Media dan Inokulasi Suspensi <i>C. albicans</i>	62
B. 4 Perlakuan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat	63
C. Foto Hasil Penelitian	64
D. Data Hasil Penelitian.....	69
E. Hasil Analisis Data	70
E. 1 Uji Normalitas Shapiro Wilk.....	70
E. 2 Uji Homogenitas <i>Levene Test</i>	70
E. 3 Uji ANOVA.....	70
E. 4 Uji LSD.....	71
F. Surat Keterangan.....	73
F. 1 Surat Izin Penelitian	73
F. 2 Surat Izin Identifikasi Tumbuhan	74
F. 3 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan	75
F. 4 Surat Izin Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut	76
F. 5 Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri	77
F. 6 Surat Keterangan Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>	79
F. 7 Foto Hasil Identifikasi Jamur <i>Candida albicans</i>	80

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Candida albicans merupakan jamur komensal yang normal terdapat di mukosa rongga mulut individu sehat. Jumlah jamur ini mencapai 50-60% dari populasi biofilm polimikrobial di rongga mulut pada kondisi normal dan tidak menimbulkan gejala (Zhou *et al.*, 2017). *C. albicans* dapat menjadi patogen pada kondisi tertentu sehingga dapat menyebabkan infeksi yang disebut *candidiasis* (Wibawa, 2012). *Oral candidiasis* adalah penyakit yang disebabkan oleh infeksi jamur *C. albicans* di rongga mulut (Millsop dan Fazel, 2016).

Sekitar 85-95% kasus *oral candidiasis* disebabkan oleh jamur *C. albicans* (Newman *et al.*, 2019). Prevalensi *oral candidiasis* dengan isolasi dominan *C. albicans* dilaporkan sebesar 45% pada neonatus, 45-65% pada anak-anak, 30-45% pada orang dewasa yang merokok, 50-65% pada kasus pemakaian gigi tiruan jangka panjang, 90% pada pasien yang menjalani kemoterapi, dan 95% pada pasien HIV (Rathod *et al.*, 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan selama 8 bulan (pada 1 Maret 2016 sampai 1 November 2016) di Klinik Penyakit Mulut Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember didapatkan data sebanyak 154 pasien didiagnosis *oral candidiasis* dari 766 orang pasien yang berobat ke klinik tersebut. Dari data yang diperoleh menunjukkan bahwa *oral candidiasis* menempati urutan ketiga dengan prevalensi sebesar 18,8% setelah *recurrent aphthous stomatitis* dan *angular cheilitis* dari sembilan kelompok kasus pasien yang datang dan dilakukan perawatan di Klinik Penyakit Mulut Rumah Sakit Gigi dan Mulut Universitas Jember (Setyowati *et al.*, 2017). *Oral candidiasis* ditandai dengan adanya lapisan putih yang melekat pada mukosa, menimbulkan rasa yang tidak nyaman, sensasi terbakar, rasa sakit pada lidah, mukosa pipi, dan palatum, serta rasa nyeri saat menelan yang menyebabkan penurunan nafsu makan (Dangi *et al.*, 2010). Adanya gejala klinis tersebut, diperlukan upaya pengobatan *oral candidiasis*.

Pengobatan *Oral candidiasis* dilakukan dengan mengeliminasi faktor predisposisi dan menggunakan obat antijamur (Martins *et al.*, 2014). Terapi

antijamur topikal adalah pengobatan lini pertama yang direkomendasikan untuk *oral candidiasis* tanpa komplikasi (Akpan dan Morgan, 2002). Obat antijamur topikal yang sering dipakai adalah nistatin dalam sediaan suspensi dengan tingkat keberhasilan 79,6-87,5% (Nur'aeny *et al.*, 2017). Nistatin memberikan efek gangguan saluran pencernaan seperti mual, muntah, dan diare (Garcia *et al.*, 2014). Adanya efek samping tersebut, perlu dicari alternatif lain untuk pengobatan *oral candidiasis*, misalnya dengan memanfaatkan tanaman sebagai obat herbal yang diduga efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur, memiliki efek samping minimal, harganya murah, dan mudah diperoleh di lingkungan sekitar.

Indonesia memiliki sekitar 30.000 jenis tanaman dan 9.600 diantaranya dilaporkan memiliki khasiat obat (Jumiarni dan Komalasari, 2017). Bagian tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat yaitu umbi, akar, batang, daun, bunga, biji, dan sebagainya (Mabel *et al.*, 2016).

Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) merupakan salah satu tanaman berkhasiat obat dari genus *Citrus*. Tanaman hortikultura ini dikenal oleh masyarakat sebagai aromaterapi, *flavor* alami pada berbagai produk makanan dan minuman di negara-negara Asia (Khasanah *et al.*, 2015). Berdasarkan penelitian tentang telaah fitokimia ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*), didapatkan hasil bahwa ekstrak daun jeruk purut positif mengandung senyawa metabolit sekunder antara lain minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan alkaloid (Arfania, 2017).

Minyak atsiri tanaman jeruk purut merupakan salah satu jenis minyak atsiri yang dikembangkan di Indonesia dengan produksi mencapai 2-3 ton per tahun (Yurisa dan Wibowo, 2019). Bioaktivitas minyak atsiri tanaman jeruk purut dilaporkan cukup luas, antara lain sebagai antibakteri, antijamur, antioksidan, insektisida dan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker (Warsito *et al.*, 2017).

Bioaktivitas minyak atsiri tanaman jeruk purut sebagai antibakteri telah dibuktikan pada penelitian uji aktivitas minyak atsiri jeruk purut dari daun, ranting, dan kulit buah terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus* (Yurisa dan Wibowo, 2019). Hasil penelitian karakterisasi, identifikasi dan uji

aktivitas antijamur minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Aspergillus sp.* menunjukkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut memiliki daya hambat terhadap jamur *Aspergillus sp* (Yanti *et al.*, 2017).

Bagian tanaman jeruk purut yang digunakan pada penelitian ini adalah daunnya, karena daun jeruk purut mudah ditemukan dan pertumbuhannya tidak terpengaruh musim. Pada penelitian ini daun jeruk purut diekstrak menggunakan metode destilasi uap air. Pertimbangan pemilihan metode destilasi uap air antara lain menghasilkan uap dan panas yang stabil dengan tekanan uap yang konstan, uap dapat berpenetrasi secara merata ke dalam bahan, suhu dapat dipertahankan sampai 100°C, sehingga waktu destilasi dapat lebih cepat dan mengurangi kemungkinan rusaknya komponen senyawa kimia yang terkandung dalam ekstrak, serta rendemen yang didapat lebih banyak yaitu 2,38% dibandingkan metode destilasi uap (0,6%) maupun destilasi air (0,35-0,37%) (Nugraheni *et al.*, 2016).

Berdasarkan hasil beberapa penelitian yang telah dilakukan menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi suatu bahan antimikroba maka semakin menghambat pertumbuhan mikroba, sehingga menghasilkan zona hambat yang besar. Hasil penelitian Melani (2016) tentang uji daya hambat minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum* menggunakan konsentrasi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut sebesar 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25% disimpulkan bahwa minyak atsiri daun jeruk purut mempunyai daya antijamur dan konsentrasi 100% adalah konsentrasi yang menghasilkan diameter zona hambat terbesar terhadap pertumbuhan jamur *Fusarium oxysporum*.

Fenomena adanya potensi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* belum pernah diteliti. Berdasarkan latar belakang di atas maka peneliti akan melakukan penelitian tentang daya hambat ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*?
- 1.2.2 Berapa konsentrasi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *C. albicans*?

1.3 Tujuan Penelitian

- 1.3.1 Membuktikan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 1.3.2 Menganalisis konsentrasi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) yang memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

1.4 Manfaat Penelitian

- 1.4.1 Memberikan informasi dan sebagai bahan pertimbangan bagi masyarakat tentang kemampuan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*.
- 1.4.2 Memberikan informasi kepada masyarakat dan tenaga kesehatan khususnya dalam mendukung upaya kesehatan gigi dan mulut dengan memanfaatkan bahan herbal daun jeruk purut.
- 1.4.3 Digunakan sebagai acuan bagi penelitian lebih lanjut.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

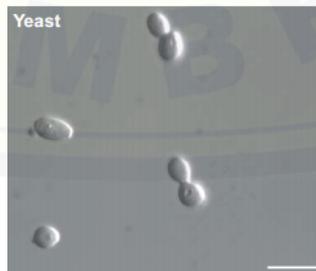
2.1.1 Klasifikasi *C. albicans*

Taksonomi *C. albicans* adalah sebagai berikut (Komariah, 2012) :

Kingdom : Fungi
Phylum : Ascomycota
Subphylum : Saccharomycotina
Class : Saccharomycetes
Ordo : Saccharomycetales
Family : Saccharomycetaceae
Genus : *Candida*
Spesies : *Candida albicans*

2.1.2 Morfologi *C. albicans*

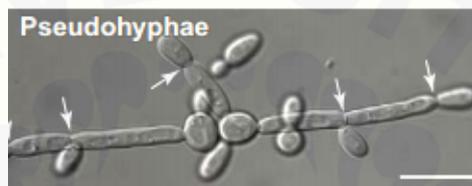
C. albicans adalah jamur polimorfik yang hidup secara komensal. Jamur ini merupakan salah satu flora normal pada saluran pencernaan, mukosa rongga mulut, dan vagina (Sabila *et al.*, 2017). *C. albicans* dapat tumbuh dalam tiga bentuk morfologi berbeda, yaitu dalam bentuk sel ragi (blastospora), pseudohifa, dan hifa. *Scanning* mikroskop elektron pada sel ragi menunjukkan bentuk bulat, lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran 2-5 μm x 3-6 μm hingga 2-5,5 μm x 5-28 μm (Gambar 2.1). Koloni jamur *C. albicans* memiliki permukaan sedikit cembung, halus, licin, dan berwarna putih kekuningan (Komariah, 2012).



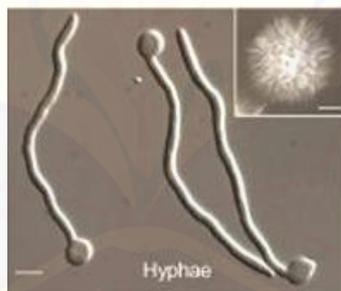
Gambar 2.1 Gambaran mikroskop elektron sel ragi *C. albicans* (Sudbery *et al.*, 2011).

Jamur ini memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk filamen yang tidak melepaskan diri yang disebut

pseudohifa dan hifa. Hasil *scanning* mikroskop elektron menunjukkan bahwa pseudohifa tampak sangat mirip dengan hifa, yang membedakan adalah adanya penyempitan pada setiap septum dan pada leher sel induk dengan tunasnya (Gambar 2.2). 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 berbentuk filamen bercabang dan tidak bercabang yang memiliki satu atau lebih septum dan tidak ada penyempitan pada leher sel induk dan septum (Gambar 2.3) (Sudbery *et al.*, 2011).



Gambar 2.2 Gambaran mikroskop elektron pseudohifa *C. albicans* (Sudbery *et al.*, 2011).



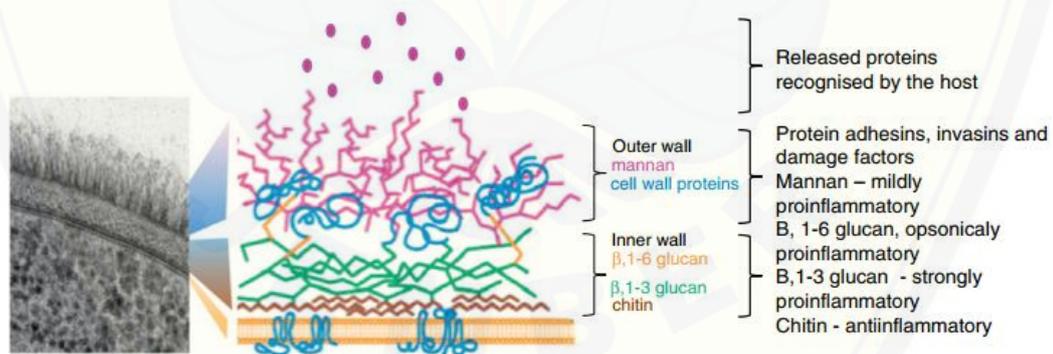
Gambar 2.3 Gambaran mikroskop elektron hifa *C. albicans* (Sudbery *et al.*, 2011).

Perbedaan bentuk morfologi *C. albicans* dipengaruhi oleh kondisi lingkungan. Sel ragi (blastospora) tumbuh baik pada pH 4 dan suhu kurang dari 30°C. Pada lingkungan dengan pH 6 dan suhu 35°C, sel jamur *C. albicans* akan tumbuh dalam bentuk pseudohifa. Pada beberapa laporan penelitian menunjukkan bahwa lingkungan dengan konsentrasi fosfat tinggi (hingga 600 mM) dapat menginduksi sinyal perubahan morfologi menjadi pseudohifa. Transisi morfologi dari bentuk ragi menjadi hifa dirangsang oleh suhu antara 37-40°C dan pH yang relatif netral (Sudbery *et al.*, 2011).

2.1.3 Dinding Sel *C. albicans*

Dinding sel *C. albicans* adalah komponen yang berperan penting pada virulensi karena merupakan bagian yang berinteraksi langsung dengan sel hospes dan mampu berperan sebagai imunomodulator. Imunomodulator adalah kemampuan potensial *Candida* merangsang sistem imun hospes, dengan jalan meningkatkan atau menurunkan reaksi imun pejamu (Komariah, 2012).

Dinding sel *C. albicans* terdiri dari 90% karbohidrat dan 10% protein. Secara umum, karbohidrat mendominasi kekebalan sel dan protein berperan dalam interaksi perlekatan sel dengan permukaan sel hospes dan sebagai antigen jamur. Ergosterol merupakan komponen pada jamur yang menjadikan jamur sebagai target utama bagi obat antijamur. Ergosterol (*ergosta-5,7,22-trien-3 β -ol*) adalah 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 Ilustrasi komponen penyusun dinding sel *C. albicans* (Gow *et al.*, 2012).

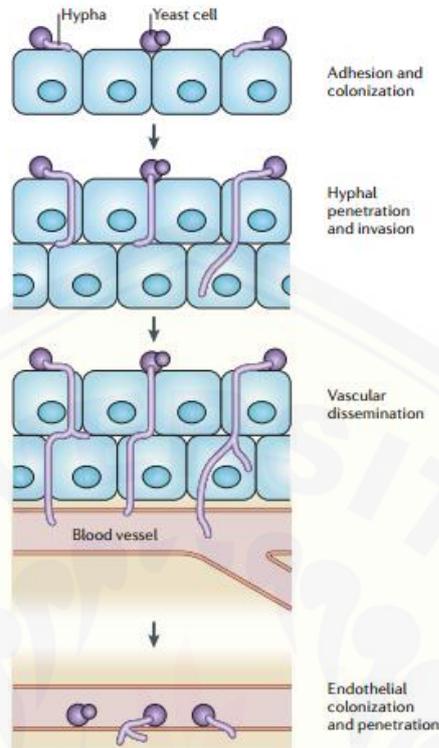
Dinding sel dibentuk dari komponen polisakarida berupa *mannan*, β -glukan, dan kitin (Gambar 2.4) (Mutiawati, 2016). Mannan terdapat bebas di luar struktur dinding sel sehingga *C. albicans* dapat dikenali oleh sel hospes. β -glukan terdiri dari β -1,3-glukan dan β -1,6-glukan. β -1,3-glukan dan kitin adalah struktur polisakarida di dalam dinding sel yang mendukung kekuatan dan bentuk 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 (Sabila *et al.*, 2017).

2.1.4 Patogenesis *C. albicans*

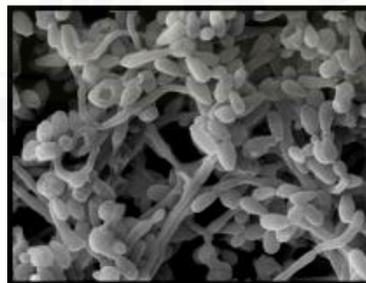
Jamur *C. albicans* dapat menyebabkan penyakit infeksi *candidiasis* dan menyerang sistem pertahanan hospes karena memiliki beberapa faktor virulen yang terlibat dalam patogenesisnya. Salah satu karakteristik utama pada virulensi *C. albicans* adalah perubahan morfologi dari ragi menjadi hifa. Kedua morfologi tersebut memiliki perbedaan dinamika pertumbuhan, struktur seluler, pola ekspresi gen, molekul permukaan sel, penyebarluasan, dan potensi invasi (Sudbery *et al.*, 2011). *C. albicans* yang pada awalnya berbentuk ragi dapat berkembangbiak dengan blastospora dan akan memulai melakukan perlekatan (adhesi) pada mukosa melalui glikoprotein yang terdapat pada dinding sel *C. albicans*. Proses adhesi merupakan proses awal dari kolonisasi dan infeksi (Mayer *et al.*, 2013).

Perlekatan *C. albicans* pada mukosa dibantu oleh enzim Als1p, Als5p, Int1p dan Hwp1p. Glikoprotein tersebut berikatan dengan matriks ekstra selular dinding sel inang seperti fibrinogen, laminin dan kolagen. Setelah *C. albicans* berhasil melekat maka jamur ini akan melakukan kolonisasi, kemudian tahap selanjutnya adalah invasi. *C. albicans* dapat melakukan penetrasi ke dalam epitel dengan merusak permukaan epitel, selanjutnya *C. albicans* dalam bentuk ragi berubah bentuk menjadi hifa. Hifa *C. albicans* memiliki enzim *aspartyl proteinase* yang dapat melisiskan lapisan epitel jaringan sehingga epitel rusak dan jamur dapat menginvasi lapisan epitel lebih dalam ke jaringan inang. Apabila penetrasi *C. albicans* terus berlanjut maka akan terjadi diseminasi vaskular, yaitu penetrasi hifa pada pembuluh darah dan penyemaian sel ragi dalam aliran darah sehingga terjadi kolonisasi dan penetrasi hifa dalam lapisan endotel selama penyebarluasan infeksi (Gambar 2.5) (Hidayat *et al.*, 2016).



Gambar 2.5 Gambaran skematik patogenesis *C. albicans* (Gow *et al.*, 2012).

Kemampuan invasi *C. albicans* didukung oleh beberapa faktor virulensi diantaranya adalah *C. albicans* memiliki kemampuan untuk membentuk lapisan biofilm (Gambar 2.6). Biofilm dapat tumbuh pada permukaan abiotik maupun biotik di dalam rongga mulut. Contoh permukaan abiotik adalah daerah di bawah gigi tiruan, sedangkan permukaan biotik adalah mukosa. Biofilm dapat membantu *C. albicans* mempertahankan patogenitas dengan mengganggu mekanisme kekebalan inang, resisten terhadap antijamur, dan bertahan terhadap persaingan dari mikroorganisme lain (Sardi *et al.*, 2013).



Gambar 2.6 Gambaran mikroskop elektron biofilm *C. albicans* (Sardi *et al.*, 2013).

2.2 Oral Candidiasis

Candidiasis adalah infeksi yang disebabkan oleh pertumbuhan *C. albicans* yang berlebih (Hakim dan Ramadhian, 2015). Infeksi *C. albicans* dapat dikelompokkan menjadi tiga meliputi; *superficial candidiasis*, *mucocutan candidiasis*, dan *systemic candidiasis* (Samarayanake, 2012). *Oral candidiasis* merupakan *acute mucocutan candidiasis* yang ditandai oleh munculnya bintik-bintik kecil atau papula putih pada lidah, mukosa pipi dan palatum dan membentuk lapisan *creamy* yang melekat pada mukosa dan dapat dikerok (Gambar 2.7) (Martins *et al.*, 2014). *Oral candidiasis* menimbulkan rasa yang tidak nyaman, sensasi terbakar, rasa sakit pada lidah, mukosa pipi, dan palatum, serta rasa nyeri saat menelan yang menyebabkan penurunan nafsu makan (Dangi *et al.*, 2010).

Oral candidiasis biasanya dijumpai pada pasien dengan gangguan sistem kekebalan tubuh, pasien yang mengonsumsi obat immunosupresif, pengguna gigi tiruan, pasien yang menerima kemoterapi untuk perawatan kanker, dan pasien yang terinfeksi HIV. *Oral candidiasis* juga dapat dijumpai pada anak-anak yang disebut *oral thrush* (Martins *et al.*, 2014).



Gambar 2.7 *Oral candidiasis* (Krishnan, 2012).

2.3 Mekanisme Agen Antijamur

Agen antijamur dapat digunakan secara topikal dan sistemik. Keberhasilan agen antijamur topikal tergantung pada waktu kontak antara agen dan mukosa oral. Durasi pengobatan bervariasi dari 7-14 hari, dengan terapi berlanjut minimal selama 2-3 hari setelah tanda dan gejala klinis infeksi jamur terakhir. Agen topikal pada dosis terapeutik memiliki sedikit efek samping karena kurangnya absorpsi

agen pada gastrointestinal. Agen antijamur sistemik memiliki kelebihan yaitu dosis konsumsi sehari sekali dan dapat mengobati secara bersamaan infeksi jamur pada beberapa bagian tubuh. Namun, antijamur ini memiliki lebih banyak efek samping dan memerlukan pertimbangan penting terhadap interaksi obat (Dangi *et al.*, 2010).

Agen antijamur diklasifikasikan menjadi empat golongan, yaitu azol, polien, pirimidin, dan ekinokandin. Setiap golongan antijamur memiliki mekanisme berbeda dalam membunuh atau menghambat pertumbuhan jamur patogen (Sardi *et al.*, 2013). Mekanisme antijamur antara lain:

2.3.1 Penghambatan Sintesis Dinding Sel Jamur

Dinding sel jamur tersusun dari mannan, glukukan, dan kitin. Agen antijamur yang memiliki target terhadap dinding sel jamur adalah antijamur golongan enkinokandin. Antijamur ini bertindak sebagai inhibitor nonkompetitif dari enzim kompleks β -1,3-glukan dan secara spesifik menargetkan subunit enzim FsK1 yang menyebabkan gangguan struktur dinding sel, kemudian terjadi ketidakstabilan osmotik mengakibatkan kematian sel jamur. Contoh antifungi: kaspofungin, mikafungin, dan anidulafungin (Campoy *et al.*, 2016).

2.3.2 Gangguan Membran Sel Jamur

Ergosterol merupakan komponen sterol pada membran sel jamur yang sangat penting dan sangat mudah diserang oleh antijamur turunan polien. Struktur amfifilik polien menyebabkan molekulnya dapat berikatan dengan lipid bilayer dan terjadi ikatan kompleks antara polien dan ergosterol sehingga membentuk pori pada membran sel jamur. Pembentukan pori menyebabkan kebocoran membran sehingga semua komponen esensial dalam sitoplasma keluar dan terjadi kerusakan oksidatif mengakibatkan kematian sel. Contoh antifungi: nistatin, amfoterisin B dan natamisin (Campoy *et al.*, 2016).

2.3.3 Penghambatan Biosintesis Ergosterol

Ergosterol adalah komponen utama membran sel jamur dan berkontribusi pada berbagai fungsi seluler seperti fluiditas, integritas membran, dan ketepatan enzim terikat membran. Mekanisme ini disebabkan oleh senyawa turunan

imidazol yang mampu menimbulkan ketidakteraturan membran sitoplasma jamur dengan cara mengubah permeabilitas membran dan mengubah fungsi membran dalam proses pengangkutan senyawa-senyawa esensial yang dapat menyebabkan terjadinya ketidakseimbangan metabolic sehingga menghambat biosintesis ergosterol dalam sel jamur. Contoh antifungi: ketokonazol, klortimazol, mikonazol, itrakonazol, dan flukonazol (Campoy *et al.*, 2016).

2.3.4 Penghambatan Sintesis Protein Jamur

Mekanisme ini disebabkan oleh antijamur golongan pirimidin. Efek antijamur terjadi karena senyawa antijamur ini berperan sebagai fungistatik yang mampu melakukan metabolisme dalam sel jamur sehingga menghambat sintesis DNA jamur. Contoh antijamur: Flusitosin (Campoy *et al.*, 2016).

2.3.5 Penghambatan Mitosis Jamur

Penghambatan ini terjadi karena senyawa antijamur griseofulvin yang mampu berikatan dengan tubulin, mengganggu perakitan mikrotubulus jamur dan menghambat mitosis sehingga menghambatan pertumbuhan sel jamur (Campoy *et al.*, 2016).

2.4 Tanaman Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*)

2.4.1 Klasifikasi Tanaman Jeruk Purut

Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*) adalah salah satu jenis jeruk yang berasal dari genus *Citrus*. Jeruk purut dalam perdagangan internasional dikenal sebagai *kaffir lime*, sementara beberapa nama lainnya adalah *truc* (Vietnam), dan *ma kruut* (Thailand). Jeruk purut merupakan tanaman yang telah dikenal masyarakat memiliki banyak kegunaan. Hampir setiap bagian dari jeruk perut dapat dimanfaatkan mulai dari daun, kulit buah dan rantingnya. Umumnya jeruk purut digunakan sebagai *flavour* alami pada berbagai produk makanan dan minuman (Jamaluddin *et al.*, 2017). Kedudukan tanaman jeruk purut dalam taksonomi tumbuhan berdasarkan hasil identifikasi tumbuhan oleh Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Balai Konservasi Tumbuhan, Kebun Raya Puwodadi (2019), diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom : *Plantae*
Division : *Magnoliophyta*
Class` : *Magnoliopsida*
Subclass : *Rosidae*
Ordo : *Sapindales*
Family ; *Rustaceae*
Genus : *Citrus*
Species : *Citrus hystrix DC.*

2.4.2 Morfologi Tanaman Jeruk Purut



Gambar 2.8 Tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) (Astuti, 2011).

Jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) adalah tanaman berupa pohon rendah atau perdu yang tingginya dapat mencapai sekitar 5-12 m. Batang tegak, asimetris, percabangan simpodial dekat dengan permukaan tanah, kulit batangnya hijau gelap kecoklatan. Tata letak tajuk tanaman tidak beraturan dan bercabang rapat. Dahan dan ranting bersudut tajam, berwarna hijau tua dan berbintik (Gambar 2.8). Duri muncul di ketiak daun, pendek, keras, panjang 0,2-1 cm, berwarna hijau di bagian bawah dan kecoklatan di ujungnya (Astuti, 2011).

Daun majemuk sederhana, terdiri dari dua sayap, sayap bagian atas ujungnya runcing-membulat, pangkalnya membulat-runcing, panjang 2,1-4,8 cm, lebar 1,6-3,2 cm, sayap bagian bawah berukuran lebih kecil sama dengan sayap atas, ujungnya membulat, pangkalnya melancip, panjang 1,7-4,3 cm, lebar 2,1-3

cm. Tangkai daun panjangnya 0,3 cm. Bunga muncul di ketiak daun atau di bagian ujung, terdiri dari 1-5 kuntum bunga. Bunga kecil, harum, berwarna putih. Buah menggantung, berbentuk bulat telur terbalik dengan ujung elips, permukaan kulit buahnya berkerut, rasa asam dan berbau segar. Biji buah berbentuk bulat kecil dengan ukuran kurang lebih 5 mm dan berwarna putih (Astuti, 2011).

2.4.3 Kandungan Daun Jeruk Purut

Tanaman mampu mensintesis berbagai metabolit sekunder dengan struktur dan kerangka karbon yang kompleks dan unik. Metabolit sekunder merupakan salah satu sumber keanekaragaman struktur kimia dan aktivitas biologi. Metabolit sekunder dapat disintesis oleh organ-organ tertentu tumbuhan, seperti akar, daun, bunga, buah, dan biji (Anggraito *et al.*, 2018). Senyawa metabolit sekunder dapat diekstraksi langsung dan disintesis untuk mendapatkan senyawa kimia atau turunannya (Tando, 2018). Sekitar 14-28% ekstrak tanaman tingkat tinggi digunakan sebagai obat-obatan, dan 74% diantaranya diketahui mempunyai fungsi medisinal setelah melalui proses etnomedik atau penggunaan sebagai obat tradisional (Dalimunthe dan Rachmawan, 2017).

Daun jeruk purut mengandung senyawa kimia yang merupakan metabolit sekunder seperti minyak atsiri, saponin, flavonoid, dan alkaloid (Arfania, 2017). Kandungan metabolit sekunder pada daun jeruk purut telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan, antimikrobia, dan antiinflamasi (Zuhra *et al.*, 2014).

2.5 Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Minyak atsiri yang dikenal sebagai minyak eteris (*aetheric oil*) merupakan metabolit sekunder hasil proses metabolisme yang kompleks, terutama melalui jalur mevalonat yang menghasilkan molekul bersifat volatil monoterpen hidrokarbon dan monoterpen ter-oksigenasi serta sesquiterpen atau jalur sikimat yang menghasilkan senyawa fenol. Produksi minyak atsiri terjadi di bagian glandular trikoma, struktur sekresi lainnya dan jaringan sekresi khusus yang mendifusikan ke permukaan organ tanaman (Warsito *et al.*, 2017).

Minyak atsiri merupakan cairan hidrofobik pekat yang diperoleh dari berbagai bagian tanaman seperti bunga, tunas, biji, daun, ranting, kulit kayu, kayu,

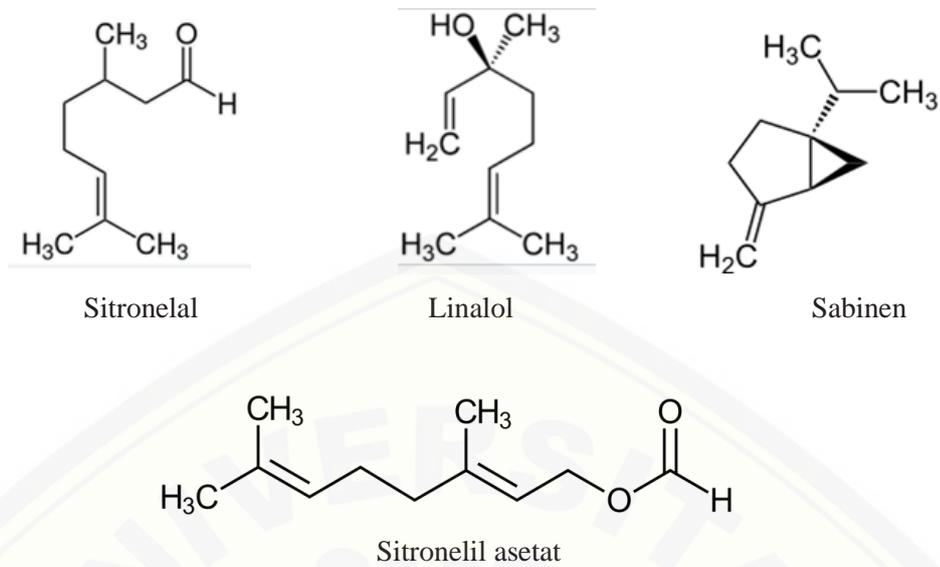
buah dan akar yang memiliki sifat mudah menguap (volatil) karena memiliki titik didih yang rendah (Mbatu *et al.*, 2018).

Minyak atsiri dalam keadaan segar dan murni umumnya tidak berwarna. Namun, penyimpanan minyak atsiri dalam waktu yang lama akan mudah menguap pada suhu kamar dan membentuk resin sehingga terjadi perubahan warna menjadi lebih gelap. Perubahan warna dapat dicegah dengan menyimpan minyak atsiri dalam bejana gelas berwarna gelap agar terlindungi dari pengaruh cahaya, diisi penuh dan ditutup rapat sehingga tidak memungkinkan minyak atsiri berhubungan dengan oksigen, serta disimpan di tempat yang kering dan sejuk (Gunawan dan Mulyani, 2010).

Minyak atsiri memberikan aroma tertentu dan khas pada tumbuhan. Senyawa metabolit sekunder bagi tanaman berfungsi untuk melindungi tanaman dari mikroorganisme patogen, mengusir serangga yang merupakan vektor wabah dan memberikan rasa tidak enak pada tanaman sehingga mengurangi nafsu makan beberapa herbivora. Saat ini minyak atsiri sudah digunakan sebagai parfum, kosmetik, antioksidan, antibakteri, antijamur, insektisida, imunostimulan, mengurangi stres, dan terapi bagi penyakit ringan (Pratiwi dan Utami, 2018).

Aktivitas antijamur minyak atsiri diperankan oleh molekul hidrofobik penyusun minyak atsiri. Molekul hidrofobik tersebut akan menyerang ergosterol pada membran sel jamur menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan kerusakan membran yang akhirnya molekul-molekul sel jamur *C. albicans* akan keluar sehingga menyebabkan kematian sel jamur (Risnawati *et al.*, 2017).

Tanaman dari genus *Citrus* merupakan salah satu kelompok tanaman yang banyak mengandung minyak atsiri. Penelitian yang dilakukan Jamaluddin (2017) menyatakan minyak atsiri daun jeruk purut memiliki komponen utama sitronelal (85,07%), linalol (3,46%), sabinen (2,79%), dan sitronelil asetat (2,77%) (Tabel 2.1) dengan rantai kimia sebagai berikut (Gambar 2.9) (Warsito, 2018):



Gambar 2.9 Rantai kimia komponen utama minyak atsiri daun jeruk (Warsito, 2018).

Tabel 2.1 Komposisi minyak atsiri tanaman jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*)

No.	Nama Senyawa	% Komponen		
		MKP-R	MJP-D	MJB-KB
1.	Pelladhrene	-	-	0,10
2.	α -Pinene	-	-	1,26
3.	Sabinene (s)	5,91	2,79	9,21
4.	β -Pinene (s)	1,24	0,33	21,44
5.	β -Mycrene	1,27	1,04	1,98
6.	Cimene	0,80	-	-
7.	α -Terpinene	-	-	1,23
8.	Limonene (s)	0,90	0,13	12,59
9.	β -Ocimene	1,56	0,44	-
10.	γ -Terpinene (s)	0,51	-	2,29
11.	Linalool epoxyde	0,69	0,70	3,29
12.	Linalool oxide	-	0,33	1,57
13.	α -Terpenilene	-	-	0,62
14.	Linalool	13,11	3,46	4,23
15.	Sitronellal	46,40	85,07	20,91
16.	Isopulegol	1,57	-	-
17.	Terpinene-4- ol	1,52	-	11,93
18.	α -Terpeniol	0,93	-	5,16
19.	Rodinol	0,59	-	0,46
20.	Citronellol	11,03	-	-
21.	Lynallil Oxide	1,86	-	-
22.	Citronelyl acetate	6,76	2,77	-
23.	Geranyl acetate	0,77	0,61	0,43

24.	Cyclo-Germacrene	-	0,3	-
25.	Copaene	-	-	0,18
26.	Caryophyllene	1,48	1,77	0,24
27.	Cadinene	-	0,22	0,23
28.	Nerodinol	1,11	-	-

Keterangan:

MJP-R : minyak atsiri jeruk purut pada ranting

MJP-D : minyak atsiri jeruk purut pada daun

MJP-KB: minyak atsiri jeruk purut pada kulit buah (Jamaluddin *et al.*, 2017).

2.6 Metode Ekstraksi

Ekstraksi adalah salah satu cara untuk menarik satu atau lebih zat dari bahan asal dengan menggunakan pelarut. Tujuan utama ekstraksi adalah untuk mendapatkan atau memisahkan sebanyak mungkin zat-zat yang memiliki khasiat pengobatan (Najib, 2018). Efektivitas ekstraksi sangat bergantung pada kondisi-kondisi percobaan yang digunakan seperti waktu ekstraksi, sampel-pelarut, dan jenis pelarut. Metode ekstraksi akan menentukan banyaknya zat yang dapat tersari (Sa'adah *et al.*, 2017).

Ekstraksi minyak atsiri dapat dilakukan dengan beberapa cara seperti pengepresan dingin, menggunakan bahan pelarut, maupun dengan destilasi. Cara yang sederhana dan mudah dilakukan adalah dengan metode destilasi. Destilasi atau penyulingan adalah suatu metode pemisahan komponen-komponen campuran dari dua atau lebih cairan berdasarkan perbedaan tekanan uap atau kemudahan menguap (volatilitas) setiap komponen tersebut (Iryani dan Agustina, 2018). Tujuan dari destilasi adalah memperoleh minyak atsiri dari tanaman aromatik yang memiliki kandungan minyak atsiri yang sulit untuk diekstrak pada kondisi lingkungan normal (Widiastuti, 2012).

Tanaman yang akan dilakukan destilasi harus dirajang terlebih dahulu. Perajangan bertujuan untuk membuka kelenjar minyak pada tanaman, sehingga memudahkan penguapan minyak atsiri yang terkandung pada tanaman saat proses destilasi berlangsung (Wulandari dan Mustofa, 2017).

Teknik ekstraksi untuk mendapatkan minyak atsiri terdiri dari destilasi air, destilasi uap dan destilasi uap air. Destilasi air dilakukan dengan merebus langsung simplisia yang digunakan dengan air yang mendidih. Kelebihan metode

ini adalah alat yang digunakan sederhana, tetapi tidak cocok untuk bahan yang tidak tahan uap panas dan kualitas hasil penyulingan tidak sebaik uap dan air. Destilasi uap dilakukan dengan memasukkan simplisia ke dalam bejana. Prinsip dari metode ini adalah uap air yang dihasilkan oleh *steam generator* akan mengalir ke wadah simplisia dan membawa minyak atsiri bersama dengan uap air tersebut. Destilasi uap merupakan destilasi yang paling baik yang dapat menghasilkan minyak atsiri dengan kualitas yang tinggi, namun membutuhkan waktu yang lama (Iryani dan Agustina, 2018).

Destilasi uap air dilakukan dengan merebus simplisia menggunakan air mendidih namun tidak kontak langsung dengan air, diberi sekat antara air dan simplisia dengan loyang berlubang. Prinsip dari metode ini adalah air mendidih dan uap yang timbul akibat pemanasan air akan mengalir melalui lubang-lubang loyang dan terus mengalir melewati bahan sambil membawa minyak. Partikel minyak atsiri untuk dialirkan ke kondensator kemudian ke alat pemisah secara otomatis. Minyak dan air akan terpisah karena terdapat perbedaan berat jenis sehingga minyak berada di atas dan air dibawah. Lapisan minyak kemudian diambil menggunakan pipet dan dimasukkan dalam botol berwarna gelap. Penyimpanan sebaiknya dilakukan di dalam lemari es karena memiliki suhu rendah dan terhindar dari paparan sinar matahari (Iryani dan Agustina, 2018).

2.7 Metode Uji Aktivitas Antijamur

Metode uji aktivitas antijamur merupakan suatu metode yang dilakukan untuk mengetahui respon mikroorganisme terhadap suatu senyawa antijamur yang diberikan, sehingga dapat dilakukan pengobatan yang efektif dan efisien. Saat ini terdapat dua metode untuk mendeteksi aktivitas antijamur, yaitu metode dilusi dan difusi. Metode dilusi merupakan metode kuantitatif yang dapat menentukan konsentrasi hambat minimal dari suatu produk alam yang mengandung senyawa antijamur, sedangkan metode difusi merupakan metode kualitatif yang memberikan kepastian ada atau tidaknya zat antijamur (Sagita, 2017).

Metode dilusi digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum dan kadar bunuh minimum dari bahan antimikroba. Prinsip dari metode dilusi

menggunakan tabung reaksi yang diisi medium cair dan sejumlah tertentu sel jamur yang diuji. Selanjutnya masing-masing tabung diisi dengan bahan antijamur yang telah diencerkan secara serial, kemudian tabung diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam, kemudian diamati terjadinya kekeruhan konsentrasi terendah bahan antijamur pada tabung yang ditunjukkan dengan hasil biakan yang mulai tampak jernih yang artinya tidak ada pertumbuhan jamur dan merupakan konsentrasi hambat minimum. Biakan dari semua tabung yang jernih ditumbuhkan pada medium agar padat, diinkubasi selama 24 jam dan diamati ada tidaknya koloni jamur yang tumbuh. Konsentrasi terendah bahan antijamur pada biakan medium padat yang ditunjukkan dengan tidak adanya pertumbuhan jamur merupakan konsentrasi bunuh minimum bahan antijamur terhadap jamur (Mutammima, 2017).

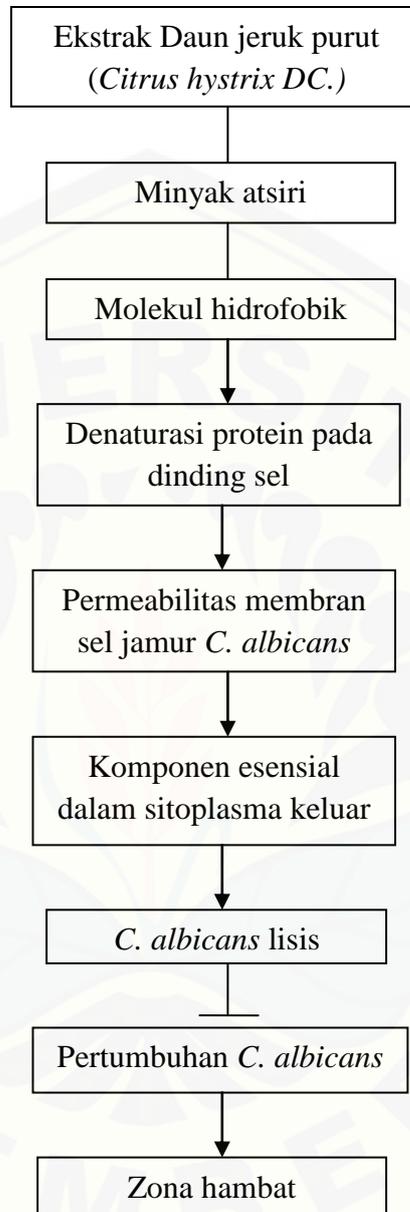
Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan dalam uji antijamur. Metode difusi dapat dilakukan dengan dua cara yaitu metode sumuran dan cakram kertas. Metode sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan jamur. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan kebutuhan penelitian, kemudian lubang diisi dengan bahan antijamur yang akan diuji. Metode cakram kertas yaitu meletakkan kertas cakram yang telah ditetesi bahan antijamur di atas *petridish* steril dan ditunggu hingga tidak ada cairan bahan antijamur yang menetes, kemudian menempelkan kertas cakram tersebut di atas media padat yang telah diinokulasi dengan jamur (Mutammima, 2017).

Metode yang digunakan untuk mengetahui daya hambat ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap *C. albicans* dalam penelitian ini adalah metode *disk diffusion*. *National Committee for Clinical Laboratory Standards* (NCCLS) telah menetapkan metode difusi cakram (*disk diffusion*) sebagai standar laboratorium mikrobiologi dalam menguji sensitifitas jamur *Candida spp* terhadap agen antifungi (Alastruey *et al.*, 2015). Aktivitas antifungi diperoleh dengan mengukur diameter zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram pada media yang padat yang telah diinokulasi jamur *C. albicans*. Metode *disk diffusion* memiliki sensitivitas tinggi dalam menguji kepekaan bahan antijamur

dan merupakan metode yang paling cocok untuk menguji daya antijamur dari suatu bahan yang berbentuk cair. Zat-zat yang terkandung dalam suatu bahan akan lebih mudah berdifusi melewati media agar, dapat dilakukan pengujian secara lebih banyak dalam satu kali kegiatan dan tidak terlalu memerlukan tenaga yang banyak. (Haryati *et al.*, 2017).



2.8 Kerangka Konsep Penelitian



Keterangan :

→ : Menyebabkan, meningkatkan

— : Memiliki kandungan

—| : Menghambat

Gambar 2.10 Bagan kerangka konsep penelitian

2.9 Penjelasan Kerangka Konsep Penelitian

Ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) memiliki beberapa senyawa aktif yang berperan sebagai antijamur. Masing-masing senyawa aktif yang dikandungnya memiliki mekanisme kerja dalam menghambat pertumbuhan jamur. Salah satu senyawa aktif pada daun jeruk purut yang berperan sebagai antijamur adalah minyak atsiri. Aktivitas antijamur minyak atsiri daun jeruk purut diperankan oleh molekul hidrofobik penyusun minyak atsiri. Molekul hidrofobik dapat mendenaturasi protein pada dinding sel, kemudian menyerang ergosterol pada membran sel *C. albicans* menyebabkan peningkatan permeabilitas membran dan kerusakan membran sel jamur. Kerusakan membran sel jamur menyebabkan komponen esensial dalam sitoplasma sel jamur akan keluar dan akhirnya mengakibatkan kematian sel jamur *C. albicans* (Risnawati *et al.*, 2017).

Berdasarkan uraian tersebut, minyak atsiri yang terkandung dalam daun jeruk purut diduga memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat berupa area jernih di sekitar *paper disk* yang telah ditetesi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut.

2.10 Hipotesis

- 2.10.1 Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 2.10.2 Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) konsentrasi 100% memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Rancangan Penelitian

3.1.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian eksperimental laboratoris secara *in vitro* yaitu penelitian yang dilakukan dengan mengadakan manipulasi terhadap variabel bebas untuk melihat pengaruhnya terhadap variabel terikat pada suatu media kultur. Jenis penelitian ini dipilih karena baik sampel maupun perlakuan lebih terkontrol, terukur dan pengaruh perlakuan lebih dapat dipercaya (Hermawan dan Yusran, 2017).

3.1.2 Rancangan Penelitian

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

3.2 Waktu dan Tempat Penelitian

3.2.1 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober sampai November 2019.

3.2.2 Tempat Penelitian

- a. Identifikasi tanaman daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dilakukan di LIPI Kebun Raya Purwodadi UPT Balai Konservasi Tumbuhan, Pasuruan.
- b. Pembuatan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Hasil Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember.
- c. Uji aktivitas antijamur dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi, Universitas Jember.

3.3 Variabel Penelitian

3.3.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dengan konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

3.3.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah zona hambat ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

3.3.3 Variabel Terkendali

Variabel terkontrol dalam penelitian ini antara lain:

- a. Metode pembuatan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*)
- b. Suspensi *C. albicans*
- c. Suhu inkubasi 37°C
- d. Waktu inkubasi 48 jam
- e. Metode pengukuran zona hambat
- f. Media biakan *C. albicans*

3.4 Definisi Operasional

3.4.1 *Candida albicans*

Suspensi *C. albicans* dengan standar 1 Mc Farland yang diinokulasikan dengan metode *spread plate* pada media SDA (*Sabouroud Dextrose Agar*) memperlihatkan koloni yang bergabung secara merata berwarna putih kekuning-kuningan, berbau ragi, dan menonjol dari permukaan medium. Apabila diencerkan sampai membentuk koloni terpisah maka morfologi koloni berbentuk bulat atau oval, halus, licin, dan memiliki permukaan sedikit cembung. *C. albicans* yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember, dan dilakukan identifikasi di laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.

3.4.2 Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) adalah hasil ekstraksi daun jeruk purut dengan metode destilasi uap air (*water steam*) dan

didapatkan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100%, kemudian dilakukan pengenceran menggunakan larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% untuk mendapatkan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%.

3.4.3 Daya Hambat Pertumbuhan *C. albicans*

Daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans* adalah kemampuan suatu zat dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans* yang ditandai dengan terbentuknya zona hambat pada media pembiakan jamur. Zona hambat merupakan area jernih yang terdapat di sekitar *paper disk* pada masing-masing kelompok penelitian diukur menggunakan jangka sorong digital. Diameter zona hambat diukur dari tepi ke tepi zona hambat yang berseberangan melewati pusat *paper disk*. Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar *paper disk*, maka dikatakan nilai diameter zona hambat sebesar 0,00 mm. Pengukuran dilakukan sebanyak tiga kali oleh orang yang berbeda yang sebelumnya dilakukan penyamaan persepsi dan hasilnya diambil rata-rata.

3.4.4 Media Biakan *C. albicans*

Media biakan *C. albicans* adalah suatu media yang digunakan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan jamur. Pada penelitian ini, digunakan media *Sabouroud Dextrose Agar* (SDA) yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. Media yang telah steril dituangkan pada petridish hingga ketebalan 4 mm.

3.4.5 Suspensi *C. albicans*

Suspensi *C. albicans* adalah sediaan cair yang terbuat dari *Sabouroud Dextrose Broth* (SDB) lalu ditambahkan koloni *C. albicans*. *C. albicans* dalam penelitian ini menggunakan standar 1 Mc Farland.

3.4.6 Alat Ukur

Alat ukur adalah alat yang digunakan untuk mengetahui besaran suatu benda. Alat ukur yang akan digunakan pada penelitian ini adalah jangka sorong

digital dengan ketelitian 0,01 mm untuk mengukur besar zona hambat yang terbentuk pada media SDA yang telah diinokulasi *C. albicans*.

3.5 Sampel Penelitian

3.5.1 Jumlah Sampel

Jumlah sampel dari tiap kelompok perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus Federer. Penelitian ini dilakukan sekaligus pada 7 kelompok perlakuan.

Rumus Federer:

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

Keterangan:

n = jumlah sampel tiap kelompok

t = jumlah kelompok perlakuan

Perhitungan jumlah sampel setiap kelompok perlakuan dalam penelitian ini adalah:

$$(n - 1) (7 - 1) \geq 15$$

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \approx 4$$

Jadi, besar sampel minimal berdasarkan perhitungan tersebut adalah 4 sampel pada setiap kelompok penelitian. Kelompok penelitian berjumlah 7 kelompok. Sehingga jumlah keseluruhan sampel penelitian yang digunakan sebanyak 28 sampel.

3.5.2 Pengelompokkan Sampel

Sampel penelitian terbagi menjadi 7 kelompok penelitian yaitu :

- a. Kelompok kontrol positif (K+): nistatin 100.000 IU
- b. Kelompok kontrol negatif (K-): DMSO 10% + tween 80 0,5%
- c. E100 : kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100%
- d. E50 : kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50%
- e. E25 : kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25%

- f. E12,5 : kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 12,5%
- g. E6,25 : kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 6,25%

3.5.3 Kriteria Daun Jeruk Purut

Kriteria sampel daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun jeruk purut segar yang dipetik pada pagi hari ketika proses fotosintesis berlangsung optimal pada pukul 09.00-10.00 WIB, daun ke-5, ke-6, ke-7, dan ke-8 dari pucuk tanaman dan berwarna hijau tua berkaitan dengan kualitas dan kuantitas maksimal senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada daun, utuh, tidak lubang dimakan hama (Gambar 3.1) (Saifudin, 2014). Sampel daun jeruk purut berasal dari daerah Kecamatan Sumbersari, Jember.



Gambar 3.1 Daun jeruk purut segar (Koleksi pribadi, 2019).

3.6 Alat dan Bahan

3.6.1 Alat Penelitian

- a. Masker dan *handscoon* (Sensi, Indonesia)
- b. Oven (Binder FED 720, *Germany*)
- c. Timbangan digital
- d. Tabung destilasi
- e. Tabung pendingin balik
- f. Botol kaca gelap bertutup
- g. *Petridish* (Pyrex, *Japan*)
- h. Tabung reaksi (Pyrex, *Japan*)
- i. Tabung *erlenmeyer* (Pyrex, *Japan*)

- j. Inkubator (WTC Binder BD 53, *Germany*)
- k. *Thermolyne shaker* (Maxi Mix II, *USA*)
- l. *Autoclave* (Mettler, *Germany*)
- m. *Laminar flow* (Super Clean Bench HF-100, *China*)
- n. *Paper disk* (Oxoid, *England*)
- o. Jangka sorong digital (Inoki, *Japan*)
- p. *Hotplate*
- q. Mikropipet
- r. Ose
- s. Pinset
- t. Spatula kaca
- u. Swab steril
- v. *Spectrofotometer* (Milton Roy. *Hongkong*)
- w. Tip Kuning
- x. *Syringe* (One Med, *Indonesia*)
- y. *Centrifuge*
- z. Mikroskop (Nikon, *Japan*)

3.6.2 Bahan Penelitian

- a. Daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*)
- b. SDA (Merck KGaA, *Germany*)
- c. SDB (Merck KGaA, *Germany*)
- d. Isolat *C. albicans* ATCC 10231
- e. *Aquadest* steril (Otsu-WI, *Indonesia*)
- f. DMSO 10%
- g. Tween 80 0,5%
- h. Nistatin (Nymiko, *Indonesia*)
- i. Alkohol 70%

3.7 Prosedur Penelitian

3.7.1 Tahap Persiapan

- a. Identifikasi daun jeruk purut

Daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) yang akan digunakan untuk penelitian dilakukan diidentifikasi terlebih dahulu. Proses identifikasi dilakukan di LIPI Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi, Pasuruan.

b. Sterilisasi alat

Semua alat yang terbuat dari kaca atau logam dapat disterilkan dengan sterilisator uap tekanan tinggi menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit, atau disterilkan dengan sterilisator panas kering menggunakan oven dengan suhu 170°C selama 60 menit (Hendrawati dan Utomo, 2017). Sedangkan alat yang terbuat dari plastik dicuci sampai bersih, kemudian dikeringkan dan disterilkan dengan menggunakan alkohol 70% (Andriani, 2016).

c. Pembuatan kontrol negatif

Kontrol negatif yang digunakan pada penelitian ini adalah larutan DMSO 10% + tween 80 0,5%. Larutan DMSO pada konsentrasi 10% dan tween 80 0,5% tidak menghambat pertumbuhan mikroorganisme, serta digunakan sebagai larutan emulsifier pada saat pengenceran minyak atsiri (David *et al.*, 2016).

Larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% dibuat berdasarkan perhitungan berikut ini:

$$\begin{aligned} \text{a. Volume DMSO 10\%} &= \frac{10}{100} \times 4000 \mu\text{l} \\ &= 400 \mu\text{l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{b. Volume tween 80 0,5\%} &= \frac{0,5}{100} \times 4000 \mu\text{l} \\ &= 20 \mu\text{l} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{c. Volume aquadest steril yang dibutuhkan} &= 4000 \mu\text{l} - (\text{Volume DMSO 10\%} + \text{volume tween 80 0,5\%}) \\ &= 4000 \mu\text{l} - (400 \mu\text{l} + 20 \mu\text{l}) \\ &= 3580 \mu\text{l} \end{aligned}$$

d. Pembuatan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut

Pembuatan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dilakukan di Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Hasil Pangan, Fakultas Teknologi Pertanian, Universitas Jember. Daun jeruk purut segar

sebanyak 1000 gram dicuci bersih dengan menggunakan air mengalir. Daun jeruk purut dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat teduh selama 24 jam sehingga diperoleh 500 gram daun jeruk purut kering. Daun jeruk purut yang telah kering dipotong kecil-kecil, proses pengecilan ukuran ini bertujuan agar kelenjar minyak dapat terbuka sebanyak mungkin. Tabung destilasi diisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ tinggi tabung destilasi yaitu 6 liter. Daun jeruk purut yang telah dipotong kecil-kecil diletakkan di atas loyang berlubang dalam tabung destilasi yang telah berisi air, lalu tabung ditutup rapat agar menghindari kebocoran. Kemudian tabung destilasi dihubungkan dengan kondensator dan tabung pendingin balik. Lalu kompor dinyalakan dan diatur besar kecilnya api pemanasan. Pendingin balik dialiri air kran secara terus menerus sampai proses destilasi selesai. Proses destilasi ini berjalan selama 5 sampai 6 jam. Selanjutnya uap yang timbul akibat pemanasan air akan mengalir melalui lubang-lubang loyang dan terus mengalir melewati bahan sambil membawa minyak. Kemudian uap akan dikondensasi atau dibawa ke pendingin balik agar kembali menjadi cair sehingga minyak dan air dapat dipisahkan. Hasil minyak atsiri diambil dan dimasukkan ke tabung corong pemisah, air berada pada bagian bawah dan minyak berada di bagian atas, kran corong dibuka kecil agar airnya dikeluarkan terlebih dahulu. Setelah air habis, didapatkan minyak atsiri sebanyak 10 ml dan ditampung dalam botol gelap yang tertutup rapat kemudian disimpan dalam lemari es (Iryani dan Agustina, 2018).

e. Pengenceran ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut

Pengenceran konsentrasi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut dengan menggunakan larutan DMSO 10% + tween 80 0,5% yang dilakukan di dalam *laminar flow*. Hasil pengenceran tersebut dimasukkan pada tabung reaksi diberi keterangan label konsentrasi 100%, 50%, 25%, 12,5%, dan 6,25%. Pengenceran menggunakan rumus persamaan (Sagita, 2017):

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

Keterangan:

M_1 = Konsentrasi ekstrak 100%

V_1 = Volume konsentrasi ekstrak 100% (ml)

M_2 = Konsentrasi ekstrak yang diinginkan (%)

V_2 = Volume konsentrasi ekstrak yang diinginkan (ml)

Perhitungan pengenceran ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut adalah sebagai berikut:

- 1) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50% sebanyak 1 ml:

$$100\% \times V_1 = 50\% \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{50\%}{100\%}$$

$$V_1 = 0,50 \text{ ml}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1 \text{ ml} - 0,50 \text{ ml}$$

$$= 0,50 \text{ ml DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Jadi, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50% diperoleh dari 0,50 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,50 ml DMSO 10% + tween 80 0,5% lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.

- 2) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 25% sebanyak 1 ml:

$$100\% \times V_1 = 25\% \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{25\%}{100\%}$$

$$V_1 = 0,25 \text{ ml}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1 \text{ ml} - 0,25 \text{ ml}$$

$$= 0,75 \text{ ml DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Jadi, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25% diperoleh dari 0,25 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,75 ml DMSO 10% + tween 80 0,5% lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.

- 3) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 12,5% sebanyak 1 ml:

$$100\% \times V_1 = 12,5\% \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{12,5\%}{100\%}$$

$$V_1 = 0,125 \text{ ml}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1 \text{ ml} - 0,125 \text{ ml}$$

$$= 0,875 \text{ ml DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Jadi, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 12,5% diperoleh dari 0,125 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,875 ml DMSO 10% + tween 80 0,5% lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.

- 4) Untuk memperoleh ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut dengan konsentrasi 6,25% sebanyak 1 ml:

$$100\% \times V_1 = 6,25\% \times 1 \text{ ml}$$

$$V_1 = \frac{6,25\%}{100\%}$$

$$V_1 = 0,0625 \text{ ml}$$

Volume pelarut yang ditambahkan adalah:

$$V_2 - V_1 = 1 \text{ ml} - 0,0625 \text{ ml}$$

$$= 0,9375 \text{ ml DMSO } 10\% + \text{tween } 80 \text{ } 0,5\%$$

Jadi, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 6,25% diperoleh dari 0,0625 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,9375 ml DMSO 10% + tween 80 0,5% lalu dihomogenkan dengan *thermolyne*.

f. Identifikasi *C. albicans*

Isolat *C. albicans* yang berasal dari laboratorium Mikrobiologi FK Universitas Brawijaya diidentifikasi di laboratorium Mikrobiologi FKG Universitas Jember dengan menggunakan uji *germ tube*. 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 dengan *syringe* 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* lalu ditutup dengan *deck glass*. Perlakuan ini dilakukan di dalam *laminar flow* 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). Dari hasil identifikasi dapat diinterpretasikan bahwa biakan tersebut presumtif *C. albicans* karena tampak adanya bentukan *germ tube* (Gambar 3.2).

g. Persiapan Media Cair SDB (*Saboroud Dextrose Broth*)

Media SDB dibuat dengan mencampur 3 gram SDB dan *aquadest* steril sebanyak 100 ml kemudian diaduk hingga homogen di atas *hotplate*. Campuran tersebut kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* pada suhu 121°C selama 15 menit (Putri *et al.*, 2017). Media SDB kemudian diinkubasi selama 24 jam. Media SDB yang steril akan tetap berwarna jernih dan tidak muncul kekeruhan setelah diinkubasi.

h. Pembuatan suspensi *C. albicans*

Biakan murni *C. albicans* yang digunakan didapatkan dari laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. *C. albicans* yang akan digunakan pada penelitian ini dalam stok bentukan agar slant yang diawetkan pada suhu 4°C dalam lemari es. Cara membuat suspensi *C. albicans* adalah dengan mencampur 2 ml larutan SDB steril ke tabung reaksi lalu ditambahkan 1 ose *C. albicans*. Tabung reaksi kemudian ditutup dan diinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 24 jam. Pertumbuhan *C. albicans* ditandai dengan adanya kekeruhan pada media. Setelah 24 jam suspensi *C. albicans* dalam tabung reaksi tersebut divibrasi menggunakan *thermolyne*. Setelah itu, dilakukan pengukuran absorbansi dengan standar 1 Mc Farland

yang setara dengan 3×10^8 CFU/ml dan panjang gelombang 560 nm dengan menggunakan *spectrofotometer* (Sagita, 2017).

i. Pembuatan Media SDA (*Saboroud Dextrose Agar*)

Pembuatan media SDA dilakukan dengan mencampur 13 gram SDA dan 200 ml *aquadest* steril ke dalam tabung *erlenmeyer*. Campuran tersebut diaduk dan dipanaskan di atas *hotplate* sampai homogen. Media agar tersebut ditutup kapas kemudian disterilkan dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit (Putri *et al.*, 2017). Media SDA kemudian diinkubasi selama 24 jam untuk dilakukan uji sterilisasi. Setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Media SDA yang steril akan tetap jernih.

j. Inokulasi Suspensi *C. albicans* pada Media SDA

Media SDA kemudian dituangkan ke dalam *petridish* steril dengan volume masing-masing sebanyak 25 ml dengan ketebalan 4 mm. Media SDA dibiarkan pada suhu ruang hingga memadat sekitar 30 menit. Kemudian 0,5 ml suspensi *C. albicans* diinokulasikan pada media SDA dan diratakan dengan *swab* steril dengan gerakan *streaking* agar suspensi tercampur secara merata pada permukaan media. (Getas *et al.*, 2014).

k. Pemberian Kode pada *Petridish*

Pemberian kode pada *petridish* dilakukan menggunakan *permanent marker* berwarna hitam. Untuk membedakan *petridish*, maka pada bagian tepi masing-masing *petridish* diberi kode nomor urut *petridish* dari 1 sampai 4. Pada setiap *petridish* yang telah diinokulasi *C. albicans*, dibagi tujuh bagian pada media untuk ditempati *paper disk* yang telah ditetesi larutan kontrol dan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut kemudian diberi label pada bagian bawah masing-masing *petridish*. Kode K- untuk kontrol negatif (DMSO 10% + tween 80 0,5%), K+ untuk kontrol positif (nistatin), E100 untuk ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100%, E50 untuk ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50%, E25 untuk ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25%, E12,5 untuk ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 12,5%, dan E6,25 untuk ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 6,25%.

3.7.2 Tahap Perlakuan

Metode uji daya hambat yang digunakan adalah metode difusi kertas cakram. Semua perlakuan dilakukan di dalam *laminar flow* untuk menghindari kontaminasi. Setelah pemberian label pada *petridish* selesai, dilanjutkan dengan pemberian kontrol negatif, kontrol positif, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100%, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50%, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25%, ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 12,5%, dan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 6,25% pada setiap *paper disk* menggunakan mikropipet yang diberi tip dengan ketentuan sebagai berikut:

- a. *Paper disk* dengan keterangan K- ditetesi dengan DMSO 10% + tween 80 0,5% sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 1. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 1.
- b. *Paper disk* dengan kode K+ sebagai kontrol positif ditetesi dengan nistatin sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 2. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 2.
- c. *Paper disk* dengan kode E100 sebagai perlakuan ditetesi dengan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 3. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 3.
- d. *Paper disk* dengan kode E50 sebagai perlakuan ditetesi dengan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50% sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 4. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 4.
- e. *Paper disk* dengan kode E25 sebagai perlakuan ditetesi dengan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25% sebanyak 20 μ L menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 5. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 5.

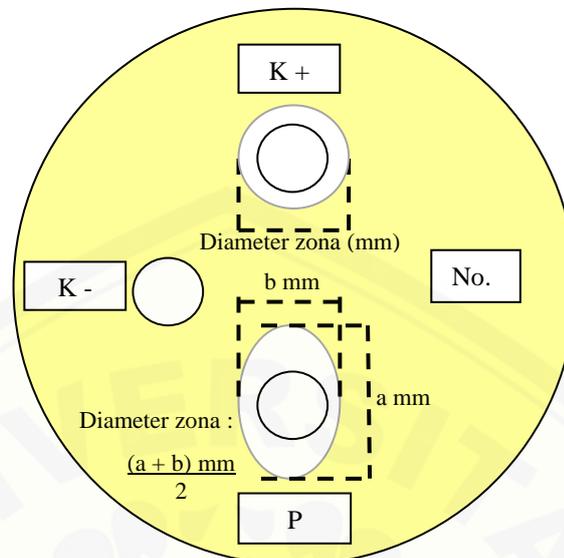
- f. *Paper disk* dengan kode E12,5 sebagai perlakuan ditetesi dengan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 12,5% sebanyak 20 μL menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 6. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 6.
- g. *Paper disk* dengan kode E6,25 sebagai perlakuan ditetesi dengan ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 6,25% sebanyak 20 μL menggunakan mikropipet dengan tip kuning nomor 7. Hal yang sama dilakukan pada *petridish* nomor 2 hingga nomor 4 dengan tip kuning 7.

Seluruh *petridish* yang telah diberi perlakuan dimasukkan ke dalam inkubator untuk diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam.

3.7.3 Tahap Pengukuran Zona Hambat

Setelah dilakukan inkubasi selama 48 jam, kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat di sekitar *paper disk* pada masing-masing kelompok penelitian dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran diameter zona hambat pada *petridish* dilakukan pada posisi terbalik. Diameter zona hambat diukur dari tepi (*break point*) ke tepi (*break point*) zona hambat yang berseberangan melewati pusat *paper disk* (Rahmah *et al.*, 2017). Jika tidak terdapat zona hambat di sekitar *paper disk*, maka dapat dikatakan bahwa nilai diameter zona hambat sebesar 0,00 mm, yang berarti suatu bahan tersebut sama sekali tidak memiliki aktivitas antimikroba.

Jika terdapat zona hambat yang saling tumpang tindih antar kelompok penelitian, maka zona hambat diukur dari pusat *paper disk* ke tepi zona hambat sehingga didapatkan jari-jari zona hambat, kemudian pengukuran dikalikan dua untuk menentukan diameter zona hambat. Jika terdapat zona hambat yang berbentuk lonjong, maka pengukuran dilakukan pada diameter vertikal (misalnya a mm) dan diameter horizontal (misalnya b mm), kemudian keduanya dijumlah dan dibagi dua (Gambar 3.3) (Handajani, 2012). Pengukuran diameter zona hambat dilakukan sebanyak tiga kali oleh orang yang berbeda dan diambil rata-rata. Tiga orang yang melakukan pengukuran, sebelumnya dilakukan penyamaan persepsi dan diberi penjelasan tentang bagaimana cara mengukur zona hambat.



Keterangan:

○ = Paper disk

◌ = Zona hambat

a = Diameter vertikal zona hambat (mm)

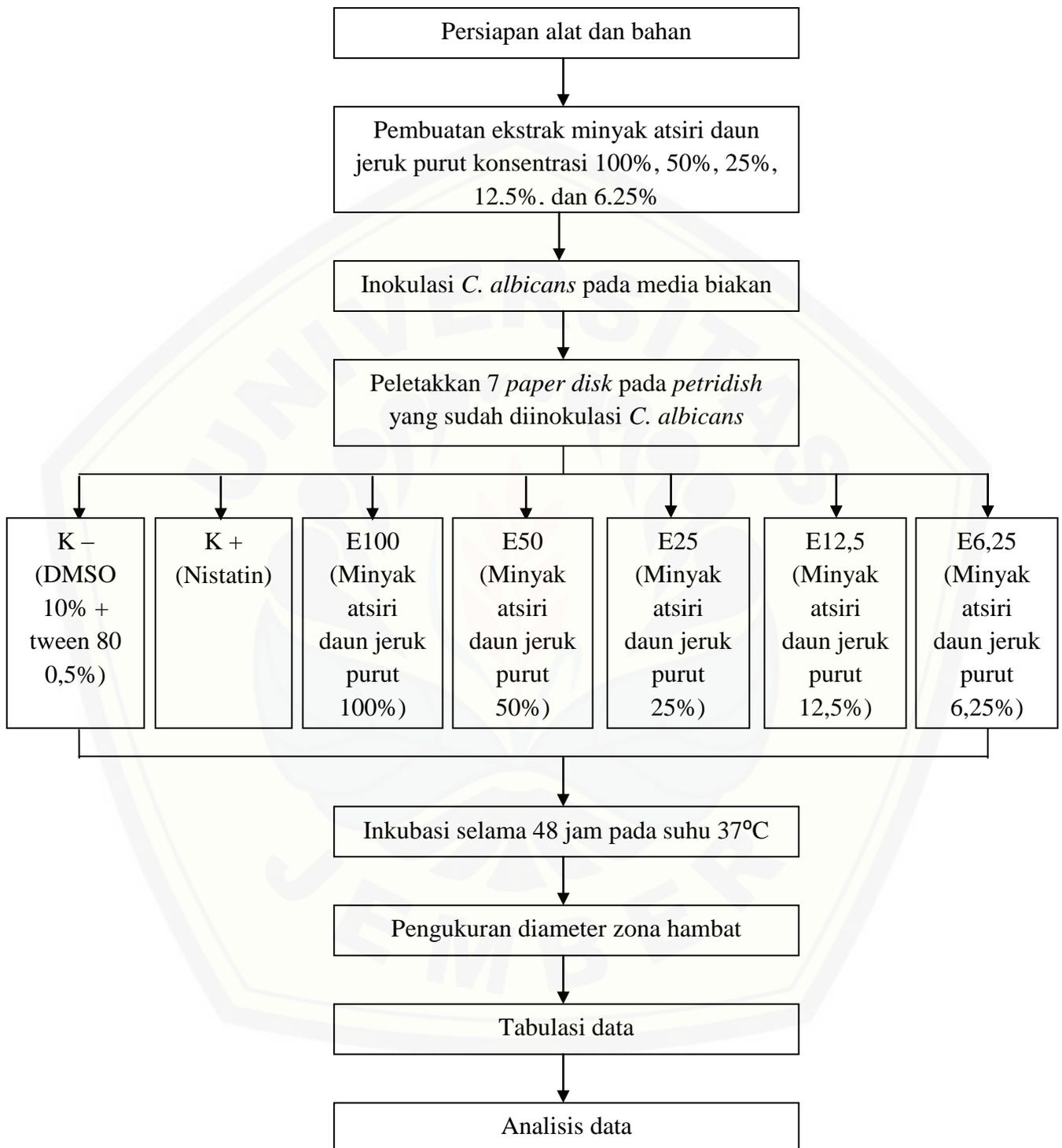
b = Diameter horizontal zona hambat (mm)

Gambar 3.2 Pedoman pengukuran diameter zona hambat

3.8 Analisis Data

Setelah data terkumpul dan disusun dalam bentuk tabel, selanjutnya dilakukan analisa data menggunakan program SPSS versi 26. Data yang diperoleh dilakukan uji normalitas menggunakan uji *Shapiro Wilk* dan uji homogenitas menggunakan *Levene Test*. Data berdistribusi normal dan homogen ($\alpha > 0,05$) dilanjutkan dengan uji statistik parametrik, yaitu *One-Way ANOVA* ($\alpha < 0,05$) untuk mengetahui adanya perbedaan pada setiap kelompok. Selanjutnya dilakukan uji *LSD (Least Significant Differences)* ($\alpha < 0,05$) untuk mengetahui adanya perbedaan yang bermakna antar kelompok penelitian.

3.9 Alur Penelitian



Gambar 3.3 Diagram alur penelitian.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

- 5.1.1 Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan *C. albicans*.
- 5.1.1 Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) konsentrasi 100% memiliki daya hambat terbesar terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

5.2 Saran

Saran yang diperoleh dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Perlu dilakukan uji daya hambat ekstrak daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap pertumbuhan *C. albicans* dengan metode ekstraksi yang berbeda.
2. Perlu dilakukan uji kadar hambat minimal (KHM) dan uji daya bunuh minimal (KBM) ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap *C. albicans* pada rongga mulut.
3. Perlu dilakukan uji biokompatibilitas, toksisitas, dan efektivitas minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap jaringan rongga mulut.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggraito, Y. U., R. Susanti, R. S. Iswari, A. Yuniastuti, Lisdiana, W. H Nugrahaningsih, N. A. Habibah, S. H. Bintari. 2018. *Metabolit Sekunder dari Tanaman Aplikasi dan Produksi*, Semarang: Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
- Akpan, A., dan R. Morgan. 2002. Oral candidiasis: a review. *Postgrad Med J.* 78: 455-459.
- Alastruey, A. I., M. S. C. Melhem, L. X. Bonfietti, J.L.R. Tudela. 2015. Susceptibility test for fungi: clinical and laboratorial correlations in medical mycology. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo.* 57(19): 27-64.
- Andriani, R. 2016 Pengenalan alat-alat laboratorium mikrobiologi untuk mengatasi keselamatan kerja dan keberhasilan praktikum. *Jurnal Mikrobiologi.* 1(1): 1-7.
- Arfania, M. 2017. Telaah fitokimia ekstrak etanol daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) di Kabupaten Karawang. *PharmaXplore Jurnal Ilmu Farmasi.* 2(2): 131- 135.
- Astuti, I. P. 2011. Studi kasus status taksonomi *Citrus hystrix DC*. koleksi Kebun Raya Bogor. *Berk. Penel. Hayati Edisi Khusus.* 7A: 87–89.
- Campoy, S., J. Adrio. 2016. Antifungals. *Biochemical Pharmacology.* 133: 86-96.
- Castro, E. S., L. A. Bastida, J. Verran. D. William. 2018. Antifungal activity of essential oils and biocides against *Candida albicans*. *Pathogens Journal.* 1(2):1-15.
- Dalimunthe, C. I., dan A. Rachmawan. 2017. Prospek pemanfaatan metabolit sekunder tumbuhan sebagai pestisida nabati untuk pengendalian pathogen pada tanaman karet. *Warta Per karetan.* 36(1): 15-28.
- Dangi, Y. S., M. L. Soni, K. P Namdeo. 2010. Oral candidiasis: a review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2(4): 36-41.
- David, A. R., D. J. Rokke, P. G. Paul, H. S. Lee, B. S. Vazinko, A. V. Cormick. 2016. Dispersion of oil into water using lecithin-Tween 80 blends: The role of spontaneous emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science.*
- Davis, W. W., Stout T. R. 2014. Disc plate method of microbiological antibiotic. *Appl Microbiol.* 22(4):64-69.

- Djuardi, E., T. Nugraha. 2017. Aktivitas antibakteri dari desain mikroemulsi minyak atsiri kayu manis. *Agrointek*. 11(1): 21-26.
- Garcia, C. C., M. G. S. Perez, J. V. Bagán. 2014. Current treatment of oral candidiasis: a literature review. *J Clin Exp Dent*. 6(5):e576-82.
- Getas, I. W., I. B. R. Wiadnya, L. A. Waguriani. 2014. Pengaruh penambahan glukosa dan waktu inkubasi pada media SDA (*Sabaroud Dextrose Agar*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. *Media Bina Ilmiah*. 8(1): 51-56.
- Gunadi, Praharani, Fatmawati, Wulandari, Lestari, dan Ernawati. 2012. *Buku Petunjuk Praktikum Mikrobiologi*. Jember: Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Gunawan, D., dan S. Mulyani. 2010. *Ilmu Obat Alam (Farmakognosi)*. Jilid I. Jakarta: Penerbit Penebar Swadaya.
- Gow, Neil A. R., F. L. Veerdonk, A. J. P. Brown, dan M. G. Netea. 2012. *Candida albicans* morphogenesis and host defence: discriminating invasion from colonization. *Macmillan Publishers Limited*. 15: 112-122.
- Hakim, L., dan M. R. Ramadhian. 2015. Kandidiasis oral. *Majority*. 4(9): 53-57.
- Halawa, C. W. D. J., P. M. Ester, Y. Lubis. 2019. Uji efektivitas antijamur ekstrak kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dan *Candida albicans* secara *in vitro*. *Jurnal Biosains*. 5(1): 38-44.
- Handajani, J. 2012. Efek antimikroba pasta gigi kandungan ekstrak daun teh 2% (*Camellia sinensis*) terhadap *A. actinomycetemcomitans*. *Majalah Kedokteran Gigi*. 19(1): 9-12.
- Haryati, S. D., S. Darmawati, W. Wilson. 2017. Perbandingan Efek Ekstrak Buah Alpukat (*Persea americana Mill*) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dengan Metode Disk dan Sumuran. *Prosiding Seminar Nasional Publikasi Hasil-Hasil Penelitian dan Pengabdian Masyarakat*. 30 September 2017. *Univesitas Muhammadiyah Semarang*: 348-352.
- Hendrawati, T. Y., dan S. Utomo. 2017. Optimasi suhu dan waktu sterilisasi pada kualitas susu segar di Kabupaten Boyolali. *Jurnal Teknologi*. 9(2): 97-102.
- Hermawan, A., dan H. L. Yusran. 2017. *Penelitian Bisnis Pendekatan Kuantitatif*. Depok: Kencana.
- Hidayat, W., N. Nur'aeny, T. Dewi, E. Herawati. I. Suasani. 2016. Profil kandidiasis oral di Bagian Penyakit Mulut Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Bandung Periode 2010-2014. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 2(2): 112.

- Iryani, A. S., dan D. Agustina. 2018. Pembuatan minyak atsiri dari kulit jeruk purut (*Citrus hystrix*) dengan metode ekstraksi. *Prosiding Seminar Hasil Penelitian (SNP2M)*: 159-161.
- Jamaluddin, N., M. H. Pulungan, Warsito. 2017. Aktivitas antibakteri minyak atsiri jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap *Klebsiella pneumonia ATCC*. *Industria: Jurnal Teknologi dan Manajemen Agroindustri*. 6 (2): 61-66.
- Jumiarni, W. O., dan O. Komalasari. 2017. Eksplorasi jenis dan pemanfaatan tumbuhan obat pada masyarakat Suku Muna di permukiman Kota Wuna. *Traditional Medicine Journal*. 22(1): 45-56.
- Khasanah, L. U., Kawiji, R. Utami, Y. M. Aji. 2015. Pengaruh perlakuan pendahuluan terhadap karakteristik mutu minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*. 4(2): 48-55.
- Komariah, R. S. 2012. Kolonisasi *Candida* dalam rongga mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*. 28(1): 39-47.
- Krishnan, P. A. 2012. Fungal infection of the oral mucosa. *Indian Journal of Dental Research*. 23(5): 650-659.
- Lima, M. I., A. C. A. Medeiros, K. V. S. Silva, G. N. Cardoso, F. O. Pereira. 2017. Investigation of the antifungal potential of linalool against clinical isolates of fluconazole resistant *Trichophyton rubrum*. *Journal de Mycologie Médicale*. 4(2): 1-8.
- Mabel, Y., H. Simbala, R. Koneri. 2016. Identifikasi dan pemanfaatan tumbuhan obat Suku Dani di Kabupaten Jayawijaya Papua. *Jurnal MIPA Unsrat Online*. 5(2): 103-107.
- Martins, N., I. C. F. R. Firrera, L. Barros, S. Silva, M. Henriques 2014. Candidiasis: predisposing factor, diagnosis, and alternative treatment. *Mycopathologia*. 177(6): 223-240.
- Mayer, F. L., D. Wilson, B. Hube. 2013. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Landes Bioscience*. 4(2): 119-128.
- Mbatu, R. S. T., I. P. B. Kenanda, I.D. Y. Suharta, W. S. Rita. 2018. Aktivitas minyak atsiri daun cengkeh sebagai antijamur terhadap *Candida albicans*. *Jurnal Media Sains*. 2(1): 61-65.
- Melani, P. S. 2016. Uji Daya Hambat Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix*) terhadap Pertumbuhan Jamur *Fusarium oxysporum*. *Skripsi*. Padang: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Andalas.
- Millsop, J. W. dan N. Fazel. 2016. *Oral candidiasis: clinics in dermatology*. California: The International Academy of Cosmetic Dermatology.

- Mutammima, N. 2019. Uji Aktivitas Antijamur, Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) Serta KLT Bioautografi Ekstrak Etanol Daun Plethekan (*Ruellia Tuberosa* L.) terhadap *Candida albicans*. Skripsi. Malang: Fakultas Kedokteran UIN Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Mutiawati, V. K., 2016. Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*. 16(1): 53-63.
- Najib, A. 2018. *Ekstraksi Senyawa Bahan Alam*. Yogyakarta: Deepublish.
- Newman, M. G., H. H. Takei, P. R. Klokkevold, F. A. Carranza. 2019. *Clinical Periodontology 13th Ed*. Philadelphia: Elsevier.
- Notoatmodjo, S. 2012. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugraheni, K. S., L. U. Khasanah., R. Utami., B. K. Ananditho. 2016. Pengaruh perlakuan pendahuluan dan variasi metode destilasi terhadap karakteristik mutu minyak atsiri daun kayu manis (*C. Burmanii*). *Jurnal Teknologi Hasil Pertanian*. 9(2): 51-64.
- Nur'aeny, N., W. Hidayat, T. S. Dewi, E. Herawati, I. S. Wahyuni. 2017. Profil oral candidiasis di bagian Ilmu Penyakit Mulut RSHS Bandung periode 2010-2014. *Majalah Kedokteran Gigi Indonesia*. 3(1): 23-28.
- Pratiwi, A., L. dan B. Utami. 2018. Isolasi dan analisis kandungan minyak atsiri pada kembang lesan. *Bioeksperimen*. 4(1): 42-47.
- Putri, D. C. A., R. Dwiastuti, S. H. Tuliani. 2017. Pengaruh suhu dan durasi sterilisasi metode panas kering terhadap viskositas dan daya sebar basis gel alginat. *Pharmaceutical Journal of Indonesia*. 2(2): 57-61.
- Rahmah, R. P. A., M. Bahar, Y. Harjono. 2017. Uji daya hambat filtrat zat metabolit *Lactobacillus plantarum* terhadap pertumbuhan *Shigella dysenteriae* secara in vitro. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. 5(1): 34-41.
- Rathod, P., R. Punga, V. Dalal, D. Rathod. 2015. Oral candidiasis widely prevalent and frequently missed. *International Journal of Scientific Study*. 3(6): 193-198.
- Risnawati, L. Nurliana, D. Kurniawati. 2017. Mikroenkapsulasi minyak atsiri dari tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth) sebagai antijamur *Candida albicans*. *Ind. J. Chem*. 4(2): 386-393.
- Sabila, A. A., A. K. A. Ismail, R. Mujayanto. 2017. Oral hygiene buruk pasien rawat inap tidak berkaitan dengan pertumbuhan oral candidiasis. *Odonto Dental Journal*. 4(1): 56-60.

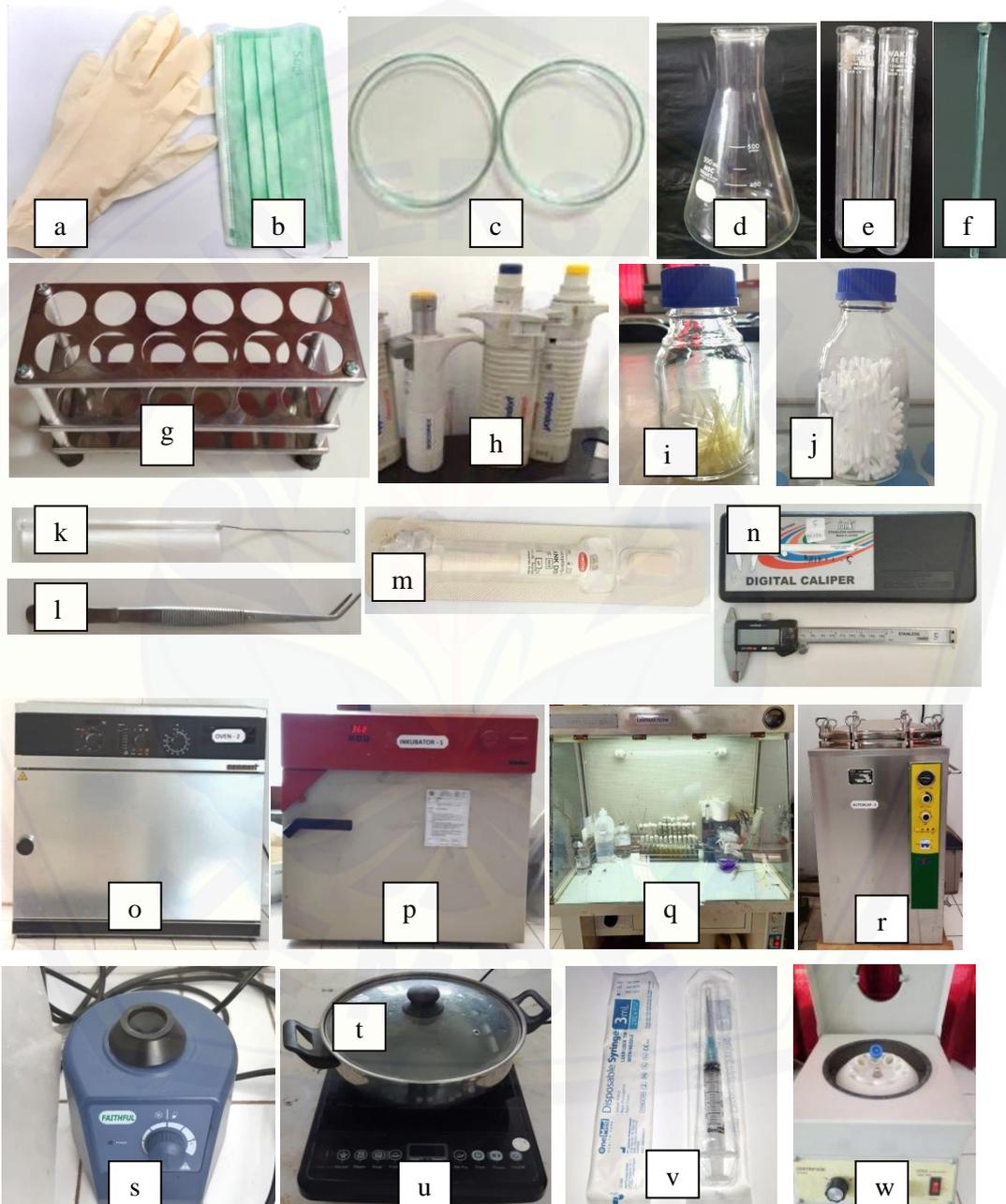
- Sagita, Y. A. 2017. Kemampuan Inhibisi Seduhan Biji Kopi Robusta (*Coffea canephora*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*. *Skripsi*. Jember: Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian*. Yogyakarta: Penerbit Deepublish.
- Samarayanake, L.P., 2012. Essential Microbiology for Dentistry, Fourth Edition, *Edinburgh Et Al. Churchill Livingstone*. 1(1): 142-147.
- Sardi, J. C. O., L. Scorzoni, T. Bernardi, A. M. F. Almeida, dan M. J. S. M. Giannini. 2013. *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology* 62: 10-24.
- Saudah, I. 2016. Pengaruh Pemberan Ekstrak Etanol Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara in vitro. *Skripsi*. Semarang: Fakultas Kedokteran Unissula.
- Sa'adah, H., H. Nurhasnawati, V. Permatasari. 2017. Pengaruh metode ekstraksi terhadap kadar flavonoid ekstrak etanol umbi bawang dayak (*Eleutherine palmifolia* (L.) Merr) dengan metode spektrofotometri. *Jurnal Borneo of Pharmascientech*. 1(1): 1-9.
- Setyowati, D. I., L. R. Dewi., A. M. Prihanti. 2017. Insiden *Recurrent Aphthous Stomatitis* dengan Riwayat Keluarga di Klinik Oral Medicine Rumah Sakit Gigi dan Mulut Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember. *Proceeding the 4th Dentistry Scientific Meeting of Jember*. 1 April 2017. *UPT Penerbitan Universitas Jember*: 75-83.
- Singh, S., Z. Fatima, S. Hameed. 2016. Citronellal-induced disruption of membrane homeostasis in *Candida albicans* and attenuation of its virulence attributes. *Rev Soc Bras Med Trop*. 49(4): 465-472.
- Sudbery, P., N. Gow., J. Berman. 2011. Growth of *Candida albicans* hyphae. *Nature Reviews Microbiology*. 9(10): 737:748.
- Tando, E. 2018. Review: Potensi senyawa metabolit sekunder dalam sirsak (*Annona murricata*) dan srikaya (*Annona squamosa*) sebagai pestisida nabati untuk pengendalian hama dan penyakit pada tanaman. *Jurnal Biotropika*. 6(1): 21-27.
- Warsito, N. Hidayat, A. Y. Putri. 2017. Uji aktivitas minyak jeruk purut dari daun, ranting, dan kulit buah terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Bacillus cereus*. *Jurnal Kimia dan Pendidikan Kimia*. 2(3): 126-132.
- Warsito, Noorhamdani. Sukardi, Suratno. 2018. Aktivitas antioksidan dan antimikroba minyak jeruk purut (*Citrus hystrix DC.*) dan komponen

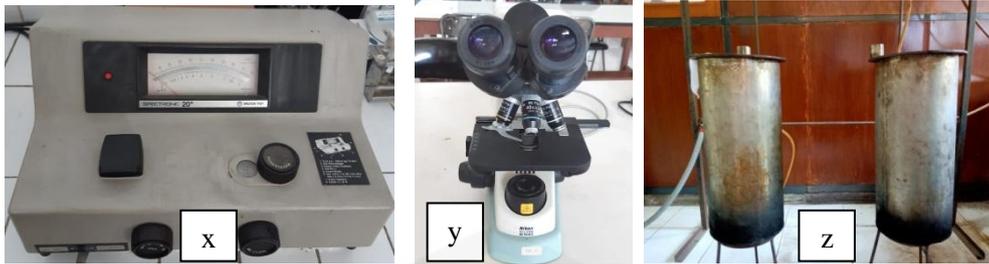
- utamanya. *Journal of Environmental Engineering & Sustainable Technology*. 4(1): 13-18.
- Wibawa, T. 2012. *Candida albicans* biofilm: formation and antifungal agents resistance. *J Med Sci*. 44(2): 1 – 9.
- Widiastuti, I. 2012. *Sukses Agribisnis Minyak Atsiri*. Yogyakarta: Penerbit Pustaka Baru Press.
- Wulandari, Y. W., dan A. Mustofa. 2017. Pengaruh perlakuan penggilingan terhadap rendemen minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix DC*) dengan metode destilasi air. *Joglo*. 29(1): 1-9.
- Yanti, R., P. Wulandari, Y. Pranoto, M. N. Cahyanto. 2017. Karakterisasi, identifikasi dan uji aktivitas anti jamur minyak atsiri daun jeruk purut (*Citrus hystrix*) terhadap *Aspergillus*. *Jurnal Teknologi Pertanian*. 8(2): 8-15.
- Yurisa, dan M. A. Wibowo. 2019. Uji aktivitas antibakteri minyak atsiri daun jeruk sambal (*Citrus hystrix*) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Inonesian Journal of Pure and Applied Chemistry*. 2(2): 55-62.
- Zhou, P., P. Kainthla, X. Li, dan F Qi. 2017. Suppression of *Candida albicans* growth and filamentation by oral *Staphylococcus aureus*. *SM Journal of Infectious Disease*. 2(1): 1005.
- Zuhra, C. F., S. Lenny, K. Nurtjahya. 2014. Comparison of Antimicrobial and Antioxidant Activities of Essential Oils from the Leaf and Peel Citrus hystrix. *Proceedings of the 2nd International Conference on Natural and Environmental Sciences (ICONES)*. 9-11 September 2014. ISSN 2407-2389:67-72.

LAMPIRAN

Lampiran A. Alat dan Bahan Penelitian

A.1 Alat Penelitian





Keterangan:

- | | |
|----------------------------|----------------------------|
| a. <i>Handscoon</i> | n. Jangka sorong digital |
| b. Masker | o. Oven |
| c. <i>Petridish</i> | p. Inkubator |
| d. Tabung erlenmeyer | q. <i>Laminar flow</i> |
| e. Tabung reaksi | r. <i>Autoclave</i> |
| f. Spatula kaca | s. <i>Thermolyne</i> |
| g. Rak tabung | t. Panci |
| h. Mikropipet | u. <i>Hotplate</i> |
| i. Tip kuning | v. <i>Syringe</i> |
| j. Swab steril | w. <i>Centrifuge</i> |
| k. Ose | x. <i>Spektrofotometer</i> |
| l. Pipet | y. Mikroskop |
| m. <i>Blank paper disk</i> | z. Satu set alat destilasi |

A.2 Bahan Penelitian



Keterangan:

- a. Alkohol 70%
- b. *Saboroud Dextrose Agar*
- c. *Saboroud Dextrose Broth*
- d. *Aquadest steril*
- e. Dimetil sulfoksida (DMSO) 10%
- f. Tween 80 0,5%
- g. Nistatin
- h. Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut

Lampiran B. Dokumentasi Penelitian**B.1 Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut**

Gambar	Keterangan
	Daun jeruk purut segar sebanyak 1000 gram dicuci bersih dengan air mengalir, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan di tempat teduh selama 24 jam.
	Daun jeruk purut dipotong kecil-kecil untuk membuka kelenjar minyak pada daun.
	Tabung destilasi diisi air sebanyak $\frac{3}{4}$ tinggi tabung destilasi yaitu 6 liter.

	<p>Memasang loyang berlubang tempat bahan di dalam tabung yang telah terisi air.</p>
	<p>Daun jeruk purut yang telah dipotong kecil-kecil diletakkan di atas loyang berlubang.</p>
	<p>Tabung ditutup rapat agar menghindari kebocoran. Kemudian tabung destilasi dihubungkan dengan kondensator dan tabung pendingin balik. Pendingin balik dialiri air kran secara terus menerus sampai proses destilasi selesai. Proses destilasi ini berjalan selama 5 sampai 6 jam. Selanjutnya uap yang timbul akibat pemanasan air akan mengalir melalui lubang-lubang loyang dan terus mengalir melewati bahan sambil membawa minyak.</p>

	<p>Uap akan dikondensasi atau dibawa ke pendingin balik agar kembali menjadi cair sehingga minyak dan air dapat dipisahkan.</p>
	<p>Setelah proses destiasi selesai, air berada pada bagian bawah dan minyak berada di bagian atas, kran corong dibuka kecil agar airnya dikeluarkan terlebih dahulu. Setelah air habis, minyak atsiri dikeluarkan dan ditampung pada wadah.</p>
	<p>Minyak atsiri daun jeruk purut yang diperoleh sebanyak 10 ml.</p>
	<p>Minyak atsiri daun jeruk purut ditampung di botol gelap tertutup rapat kemudian disimpan dalam lemari es.</p>

B.2 Pengenceran Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

Gambar	Keterangan
	<p>a. Larutan DMSO 10% + tween 80 0,5%</p> <p>b. Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50% diperoleh dari 0,50 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,50 ml DMSO 10% + tween 80 0,5%</p> <p>c. Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25% diperoleh dari 0,25 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,75 ml DMSO 10% + tween 80 0,5%</p> <p>d. Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 125% diperoleh dari 0,125 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,875 ml DMSO 10% + tween 80 0,5%</p> <p>e. Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 6,25% diperoleh dari 0,0625 ml ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100% ditambah dengan 0,9375 ml DMSO 10%</p>

	+ tween 80 0,5%
	<p>Ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut yang telah diencerkan dengan DMSO 10% + tween 80 0,5% kemudian dihomogenkan dengan <i>thermolyne</i>.</p>

B.3 Pembuatan Media dan Inokulasi Suspensi *C. albicans* pada SDA

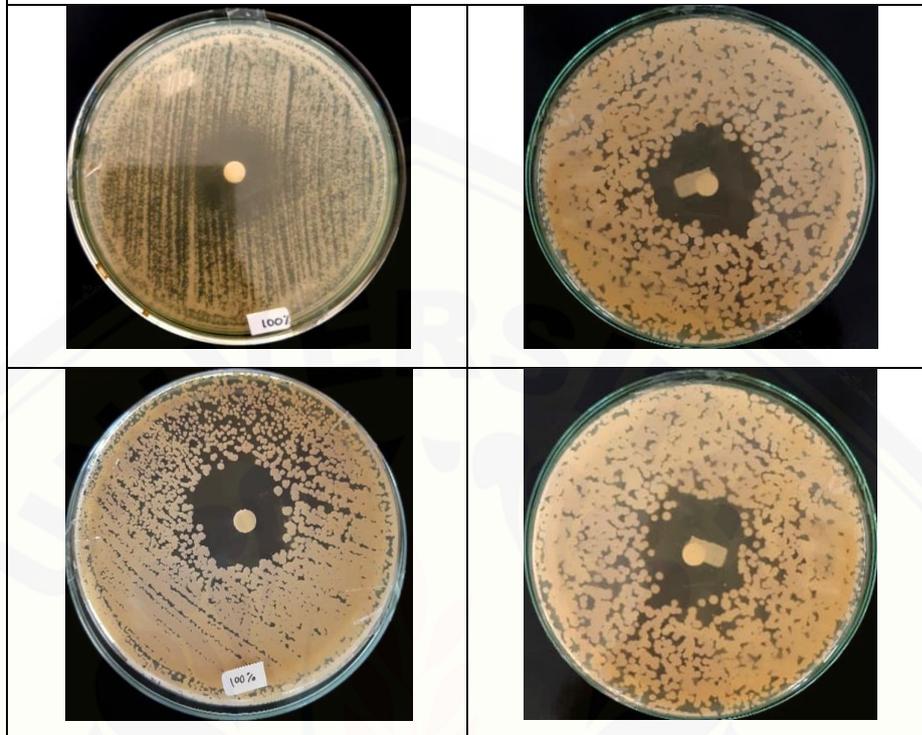
Gambar	Keterangan
	<p>Pembuatan media SDA dilakukan dengan mencampur 13 gram SDA dan 200 ml <i>aquadest</i> steril ke dalam tabung <i>erlenmeyer</i>. Campuran tersebut diaduk dan dipanaskan di atas <i>hotplate</i> sampai homogen.</p>
	<p>Media SDA kemudian dituangkan ke dalam <i>petridish</i> steril dengan volume masing-masing sebanyak 25 ml dengan ketebalan 4 mm dibiarkan pada suhu ruang hingga memadat sekitar 30 menit.</p>
	<p>Suspensi <i>C. albicans</i> diinokulasikan pada media SDA dan diratakan dengan <i>swab</i> steril dengan gerakan <i>streaking</i> agar suspensi tercampur secara merata pada permukaan media.</p>

B.4 Perlakuan dan Pengukuran Diameter Zona Hambat

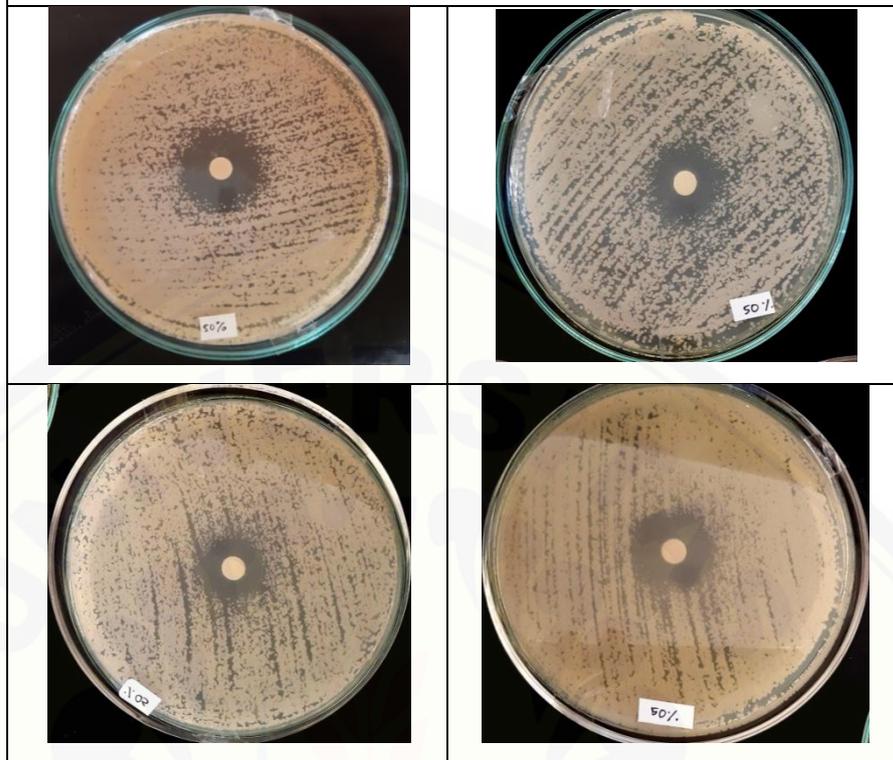
Gambar	Keterangan
	<p><i>Paper disk</i> ditetesi ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut sebanyak 20 μL menggunakan mikropipet dengan tip kuning.</p>
	<p>Apabila cairan yang ditetaskan pada <i>paper disk</i> sudah tidak menetes, selanjutnya menempelkan <i>paper disk</i> dengan melakukan penekanan sedikit pada permukaan media, kemudian <i>petridish</i> ditutup.</p>
	<p><i>Petridish</i> dimasukkan ke dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 48 jam.</p>
	<p>Pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong digital.</p>

Lampiran C. Foto Hasil Penelitian

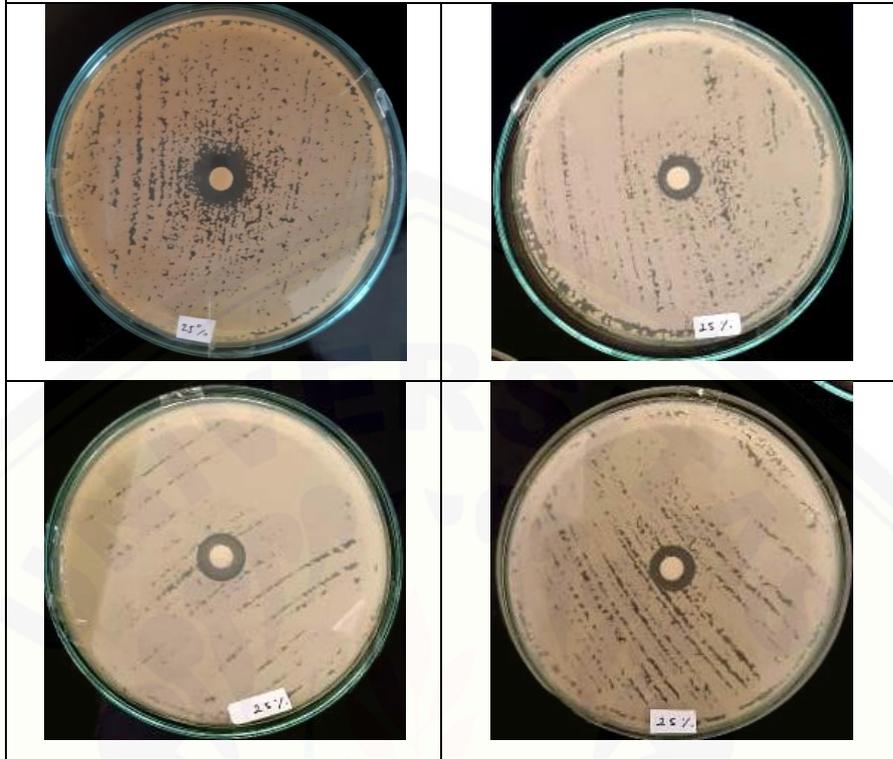
Kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 100%

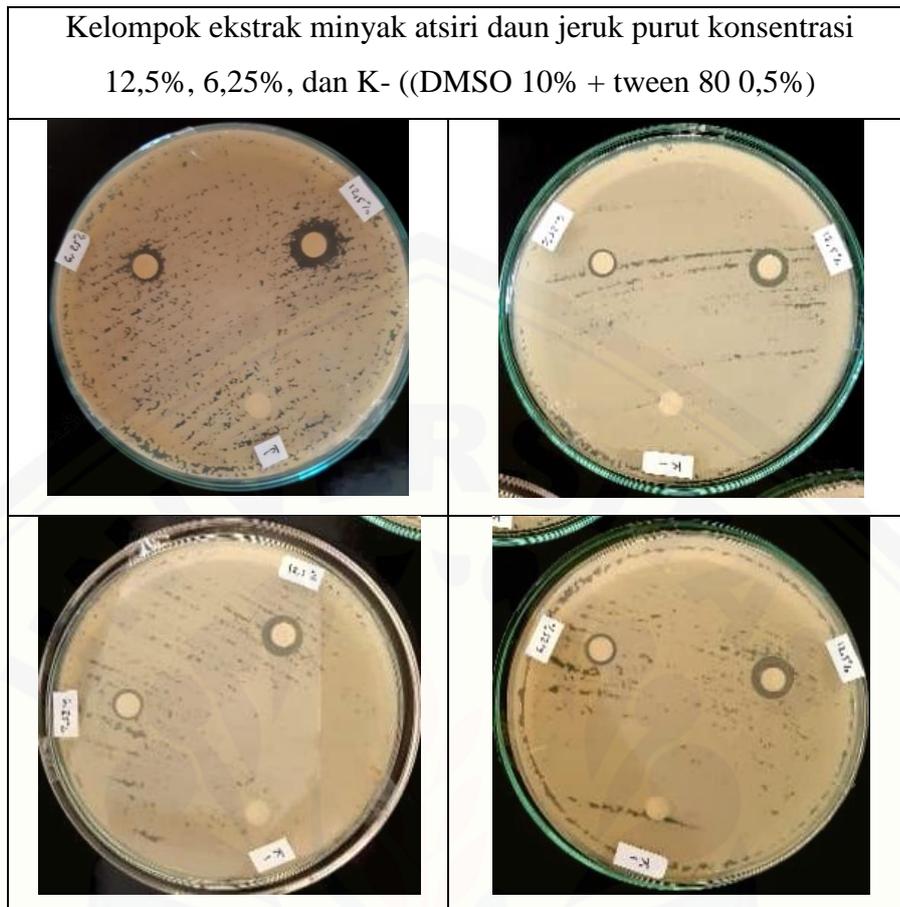


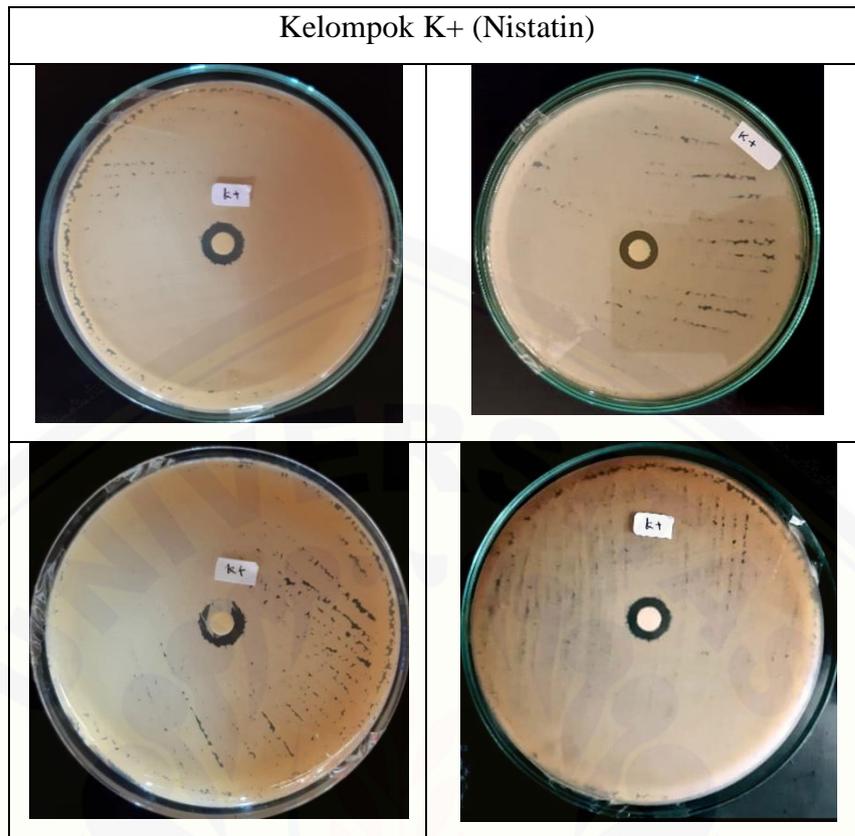
Kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 50%



Kelompok ekstrak minyak atsiri daun jeruk purut konsentrasi 25%







Lampiran D. Data Hasil Penelitian

Kelompok Perlakuan	Diameter Zona Hambat (mm)											
	Pengamat 1				Pengamat 2				Pengamat 3			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
E100	21.405	19.880	24.320	23.340	21.705	20.680	24.025	22.930	22.010	20.840	23.730	22.570
E50	20.960	19.200	18.430	17.195	20.545	18.920	18.530	17.260	20.130	18.640	17.980	17.130
E25	16.240	11.840	11.015	12.410	15.655	11.750	11.280	12.310	15.070	11.795	10.720	12.115
E12,5	12.690	8.520	8.280	10.040	12.435	8.420	8.110	9.870	12.380	9.315	8.075	9.660
E6,25	9.450	9.090	8.300	6.160	9.476	8.790	8.100	6.030	9.424	8.490	8.200	5.900
K+	11.330	11.130	10.173	10.230	11.180	11.195	10.207	10.286	11.030	11.065	10.190	10.174
K-	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

Kelompok perlakuan	Rata-rata diameter zona hambatan (mm)			
	A	B	C	D
E100	21.707	20.467	24.025	22.947
E50	20.545	18.920	18.313	17.195
E25	15.655	11.795	11.005	12.278
E12,5	12.502	8.752	8.155	9.857
E6,25	9.450	8.790	8.200	6.030
K+	11.180	11.130	10.190	10.230
K-	0.000	0.000	0.000	0.000

Kelompok Perlakuan	n	Rata-rata diameter zona hambatan (mm)	Standar Deviasi
E100	4	22.29	1.54
E50	4	18.74	1.4
E25	4	12.68	2.05
E12,5	4	9.82	1.92
E6,25	4	8.12	1.48
K+	4	10.68	0,55
K-	4	0	0

Lampiran E. Hasil Analisis Data

E.1 Uji Normalitas Shapiro Wilk

Tests of Normality

Kelompok perlakuan		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Diameter zona hambatan	E100	.166	4	.	.990	4	.955
	E50	.200	4	.	.986	4	.934
	E25	.328	4	.	.852	4	.232
	E12,5	.242	4	.	.905	4	.459
	E6,25	.272	4	.	.909	4	.480
	K+	.296	4	.	.770	4	.058
	K-	.	4	.	.	4	.

a. Lilliefors Significance Correction

E.2 Uji Homogenitas *Levene Test*

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Diameter zona hambatan	Based on Mean	1.790	6	21	.150
	Based on Median	1.082	6	21	.405
	Based on Median and with adjusted df	1.082	6	11.055	.429
	Based on trimmed mean	1.663	6	21	.180

E.3 Uji ANOVA

ANOVA

Diameter zona hambatan

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1267.716	6	211.286	100.475	.000
Within Groups	44.160	21	2.103		
Total	1311.876	27			

E.4 Uji LSD

Multiple Comparisons

Dependent Variable: Diameter zona hambat

LSD

(I) Kelompok perlakuan	(J) Kelompok perlakuan	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
E100	E50	3.54325*	1.02540	.002	1.4108	5.6757
	E25	9.60325*	1.02540	.000	7.4708	11.7357
	E12,5	12.47000*	1.02540	.000	10.3376	14.6024
	E6,25	14.16900*	1.02540	.000	12.0366	16.3014
	K+	11.60400*	1.02540	.000	9.4716	13.7364
	K-	22.28650*	1.02540	.000	20.1541	24.4189
E50	E100	-3.54325*	1.02540	.002	-5.6757	-1.4108
	E25	6.06000*	1.02540	.000	3.9276	8.1924
	E12,5	8.92675*	1.02540	.000	6.7943	11.0592
	E6,25	10.62575*	1.02540	.000	8.4933	12.7582
	K+	8.06075*	1.02540	.000	5.9283	10.1932
	K-	18.74325*	1.02540	.000	16.6108	20.8757
E25	E100	-9.60325*	1.02540	.000	-11.7357	-7.4708
	E50	-6.06000*	1.02540	.000	-8.1924	-3.9276
	E12,5	2.86675*	1.02540	.011	.7343	4.9992
	E6,25	4.56575*	1.02540	.000	2.4333	6.6982
	K+	2.00075	1.02540	.065	-.1317	4.1332
	K-	12.68325*	1.02540	.000	10.5508	14.8157
E12,5	E100	-12.47000*	1.02540	.000	-14.6024	-10.3376
	E50	-8.92675*	1.02540	.000	-11.0592	-6.7943
	E25	-2.86675*	1.02540	.011	-4.9992	-.7343
	E6,25	1.69900	1.02540	.112	-.4334	3.8314
	K+	-.86600	1.02540	.408	-2.9984	1.2664
	K-	9.81650*	1.02540	.000	7.6841	11.9489
E6,25	E100	-14.16900*	1.02540	.000	-16.3014	-12.0366
	E50	-10.62575*	1.02540	.000	-12.7582	-8.4933
	E25	-4.56575*	1.02540	.000	-6.6982	-2.4333
	E12,5	-1.69900	1.02540	.112	-3.8314	.4334
	K+	-2.56500*	1.02540	.021	-4.6974	-.4326
	K-	8.11750*	1.02540	.000	5.9851	10.2499
K+	E100	-11.60400*	1.02540	.000	-13.7364	-9.4716

	E50	-8.06075*	1.02540	.000	-10.1932	-5.9283
	E25	-2.00075	1.02540	.065	-4.1332	.1317
	E12,5	.86600	1.02540	.408	-1.2664	2.9984
	E6,25	2.56500*	1.02540	.021	.4326	4.6974
	K-	10.68250*	1.02540	.000	8.5501	12.8149
K-	E100	-22.28650*	1.02540	.000	-24.4189	-20.1541
	E50	-18.74325*	1.02540	.000	-20.8757	-16.6108
	E25	-12.68325*	1.02540	.000	-14.8157	-10.5508
	E12,5	-9.81650*	1.02540	.000	-11.9489	-7.6841
	E6,25	-8.11750*	1.02540	.000	-10.2499	-5.9851
	K+	-10.68250*	1.02540	.000	-12.8149	-8.5501

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

Lampiran F. Surat Keterangan

F.1 Surat Izin Penelitian



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : /keg /UN25.S.TL/2019
Perihal : Ijin Penelitian

15 APR 2019

Kepada Yth
Kepala Bagian Laboratorium Mikrobiologi
Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- | | | |
|----|------------------------|--|
| 1 | Nama | : Ananda Regina Putri Darna |
| 2 | NIM | : 161610101014 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2018/2019 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Baturaden VI No. 49, Tegalgede, Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Hambat Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yg di pinjam | : - |
| 9 | Waktu | : April 2019 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Menganalisis Daya Hambat Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes
: 2. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



Dr. drg. IGA Susilawati, M.Kes
NIP.196109031986022001

F.2 Surat Izin Identifikasi Tumbuhan



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

Nomor : 1669/UN25.S.TL/2019
Perihal : Identifikasi Tumbuhan

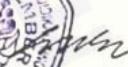
15 APR 2019

Kepada Yth
Kepala Bagian UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi
Di Pasuruan

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk melakukan identifikasi tumbuhan bagi mahasiswa kami di bawah ini:

- | | | |
|----|-------------------------|---|
| 1 | Nama | : Ananda Regina Putri Darna |
| 2 | NIM | : 161610101014 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2018/2019 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Baturaden VI No. 49, Tegalgede, Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Hambat Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : UPT Balai Konservasi Tumbuhan Kebun Raya Purwodadi |
| 8 | Data/alat yang dipinjam | : - |
| 9 | Waktu | : April 2019 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Melakukan Identifikasi Tanaman Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix</i>) |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. lin Eliana Triwahyuni, M.Kes
2. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih

ab. Dekan
Wakil Dekan I,

Dr. drg. IDA Susilawati, M.Kes
NIP. 196109031986022001



F.3 Surat Keterangan Identifikasi Tumbuhan



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



SURAT KETERANGAN IDENTIFIKASI TUMBUHAN

No: 526 /IPH.06/IIM/V/2019

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

Nama : Ananda Regina Putri Darna
NIM : 161610101014
Instansi : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember
Tanggal material diterima : 22 April 2019

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

Kingdom : Plantae
Division : Magnoliophyta
Class : Magnoliopsida
Subclass : Rosidae
Ordo : Sapindales
Family : Rutaceae
Genus : Citrus
Species : *Citrus hystrix* DC.

Referensi:

1. Backer CA & Bakhuizen van den Brink RC. 1965 .Flora of Java Vol.II. NVP Noordhoff, Groningen, The Netherlands. Hal. 108
2. Cronquist A. 1981. An Integrated System of Classification of Flowering Plants. Columbia University Press, New York, USA. Hal. XVI
3. E.W.M.Verheij dan R.E. Coronel.1992(esd) PROSEA (Plants Resources of South-East Asia) No 2; Edible fruits and nuts Hal 298

Demikian surat keterangan ini dibuat untuk dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Purwodadi, 2 Mei 2019

An. Kepala

Seksi Eksplorasi dan Koleksi Tumbuhan



Rony Prawanto, S.Si., M.T.

F.4 Surat Izin Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut



KEMENTERIAN RISET, TEKNOLOGI, DAN PENDIDIKAN TINGGI
UNIVERSITAS JEMBER
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
Jl. Kalimantan No. 37 Jember ☎ (0331) 333536, Fak 331991

Nomor : 6295/UN25.8.TI/2019
Perihal : Ijin Penelitian

16 OCT 2019

Kepada Yth
Kepala Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Hasil Pangan
Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember
Di Jember

Dalam rangka pengumpulan data penelitian guna penyusunan skripsi maka, dengan hormat kami mohon bantuan dan kesediaannya untuk memberikan ijin penelitian bagi mahasiswa kami dibawah ini:

- | | | |
|----|------------------------|---|
| 1 | Nama | : Ananda Regina Putri Darna |
| 2 | NIM | : 161610101014 |
| 3 | Semester/Tahun | : 2019/2020 |
| 4 | Fakultas | : Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Jember |
| 5 | Alamat | : Jl. Baturaden VI No. 49, Tegalgede, Sumbersari, Kabupaten Jember, Jawa Timur |
| 6 | Judul Penelitian | : Daya Hambat Ekstrak Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix DC.</i>) terhadap Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> |
| 7 | Lokasi Penelitian | : Laboratorium Rekayasa Proses dan Pengolahan Hasil Pangan Fakultas Teknologi Pertanian Universitas Jember |
| 8 | Data/alat yg di pinjam | : Alat destilasi uap dan air |
| 9 | Waktu | : Oktober 2019 s/d Selesai |
| 10 | Tujuan Penelitian | : Untuk Membuat Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (<i>Citrus hystrix DC.</i>) |
| 11 | Dosen Pembimbing | : 1. Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes
: 2. drg. Ayu Mashartini Prihanti, Sp.PM |

Demikian atas perkenan dan kerja sama yang baik disampaikan terimakasih



an Dekan
Wakil Dekan I,
Dr. drg. Masniari Novita M.Kes Sp. OF
NIP. 196811251999032001

F.5 Surat Keterangan Pembuatan Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut

	LAPORAN KEGIATAN PLP	Kode Dokumen : 02
	UNSUR PENGELOLAAN LABORATORIUM	Revisi : 0
	LABORATORIUM REKAYASA PROSES HASIL PERTANIAN	Tanggal Terbit : 24 Oktober 2019
	FAKULTAS TEKNOLOGI PERTANIAN	Halaman : 31-32 (15)

Nama Kegiatan : Memberikan penjelasan dan melakukan supervisi pengoperasian peralatan kategori 3/2* dan penggunaan bahan khusus/umum* pada kegiatan penelitian

Kode Butir Kegiatan : II.B.2.a/ II.B.2.b/ II.B.2.c/ II.B.2.d*

Nama Peneliti : Ananda Regina Putri Darna

NIM/NIP/Fakultas : 1616101014/FKG/Unej

Judul Penelitian : Daya Hambat Ekstrak Minyak Atsiri Daun Jeruk Purut (*Citrus hystrix DC.*) terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Semester : Ganjil Ta. 2019/2020

Waktu Pelaksanaan : Oktober 2019

Nama Laboratorium : Rekayasa Proses Hasil Pertanian

Nama PLP : Akhmad Mistar, S.P.

NIP : 19700710 199303 1002

Pangkat/Gol.Ruang/Jabatan : Penata /III/d/PLP Muda

Angka Kredit Acuan : 0,8/0,55/0,44/0,42*

Kegiatan Jenjang : SESUAI/DI ATAS/DI BAWAH *

Angka Kredit Terhitung : $1/6 \times 0,42 = 0,07$

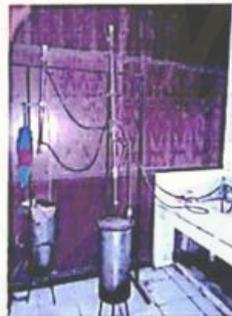
* coret yang tidak perlu

Nama Alat	: 1. Alat Distilasi Minyak Atsiri 2. Timbangan Digital
Bahan Khusus	: Daun Jeruk Purut 1 Kg
A. Penjelasan dan supervisi pengoperasian alat Distilasi Minyak Atsiri :	
1	Memberikan penjelasan kepada mahasiswa/peneliti tentang cara pengoperasian alat distilasi minyak atsiri
2	Menyiapkan bahan yang akan di ekstraksi (diperkecil ukurannya/dipotong)
3	Menyiapkan atau setting alat distilasi minyak atsiri (tabung sample, gas elpiji, kondensator dan pendingin balik)
4	Tabung sample detelah dibersihkan diisi air kurang lebih 6 liter (3/4 bagian dari bawah ke batas Loyang (tempat sample)
5	Kemudian bahan yang telah disiapkan dimasukkan ke dalam tabung sample, lalu ditutup rapat pakai baut jangan ada yang kendur harus rata agar tidak bocor
6	Lalu tabung dihubungkan dengan kondensator dan pendingin balik, selanjutnya kompor dinyalakan dan diatur besarnya api yang menyala

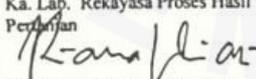
7	Air pendingin dibuka krannya agar air mengalir pada pendingin balik sampai proses distilasi selesai (proses distilasi berjalan selama 5 sampai 6 jam)
8	Setelah selesai proses distilasi minyak atsiri diambil, air ada dibagian bawah dan minyak berada dibagian atas. Kran dibuka kecil air dikeluarkan dulu, setelah air habis baru minyak atsiri dikeluarkan dan di tamping pada botol/wadah.
9	Hitung rendmen minyak atsiri yang diperoleh dengan rumus : $\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{Berat minyak atsiri (gr)}}{\text{Berat bahan/sample (gr)}} \times 100 \%$
10	Setelah selesai matikan kompor gas dan bersihkan peralatan distilasi minyak atsiri lalu simpan pada tempat yang aman

Jadwal kegiatan Penelitian yang dilakukan :

No	Kegiatan	Oktober 2019				November 2019				Desember 2019			
		I	II	III	IV	I	II	III	IV	I	II	III	IV
1.	Mempersiapkan alat dan bahan			v									
2.	Produksi Minyak Atsiri dari Ketumbar			v									



Gambar : Alat Distilasi Minyak Atsiri

Disahkan oleh: Ka. Lab. Rekayasa Proses Hasil Pertanian  Dr. Triana Lindriati, ST., MP. NIP. 19680814 199803 2 001	Diverifikasi oleh: Ketua Peneliti/Dosen Pembimbing  Dr. drg. Iin Eliana Triwahyuni, M.Kes NIP. 197512022003122001	Jember, 24 Oktober 2019 Dibuat Oleh : PLP Ahli Muda  Akhmad Mistar, SP. NIP. 197007101993031002
---	--	---

F.6 Surat Keterangan Identifikasi Jamur *Candida albicans*

LABORATORIUM MIKROBIOLOGI
BAGIAN BIOMEDIK KEDOKTERAN GIGI
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS JEMBER

Jl Kalimantan No. 37 Jember ☎(0331) 333536, Fak. 331991

SURAT KETERANGAN

No. 0176/MIKRO/S.KET/2019

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

Nama : Ananda Regina Putri Darna
NIM : 161610101014
Fakultas : Kedokteran Gigi
Keperluan : Identifikasi jamur *Candida albicans*

Telah melakukan uji identifikasi terhadap isolat *Candida albicans* ATCC 10231, dengan menggunakan uji Germ Tube dan diamati secara mikroskopis menunjukkan hasil presuntif *Candida albicans*.

Jember, 28 November 2019

Mengetahui,
Kepala bagian Biomedik Kedokteran Gigi

Penanggung Jawab Lab. Mikrobiologi

(drg. Amandia Dewi Permana Shita, M.Biomed)
NIP. 198006032006042002

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

F.7 Foto Hasil Identifikasi Jamur *Candida albicans* pada Pembesaran 400x

