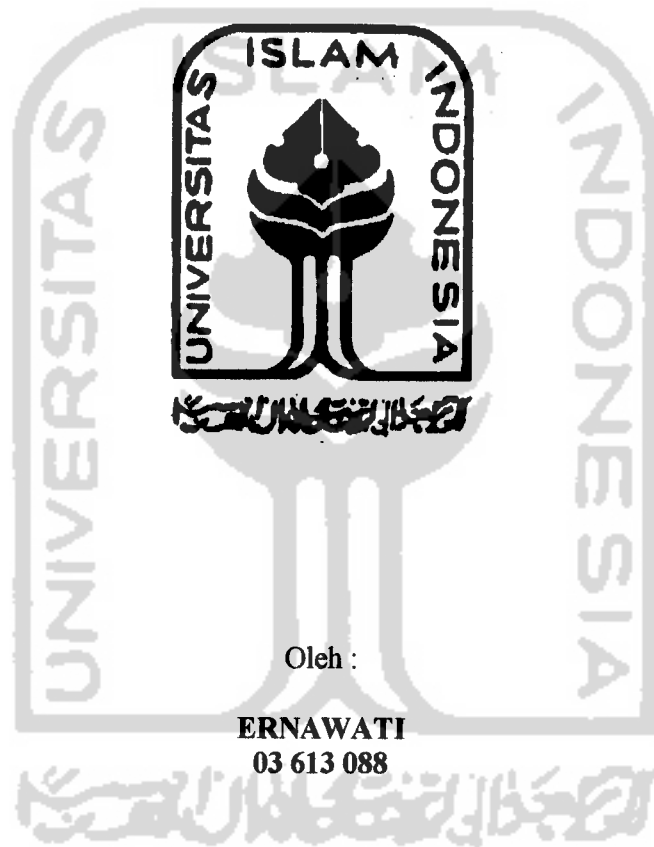


**UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI KLORPROMAZIN BASA
TERHADAP *Trichophyton mentagrophytes***

SKRIPSI



Oleh :

**ERNAWATI
03 613 088**

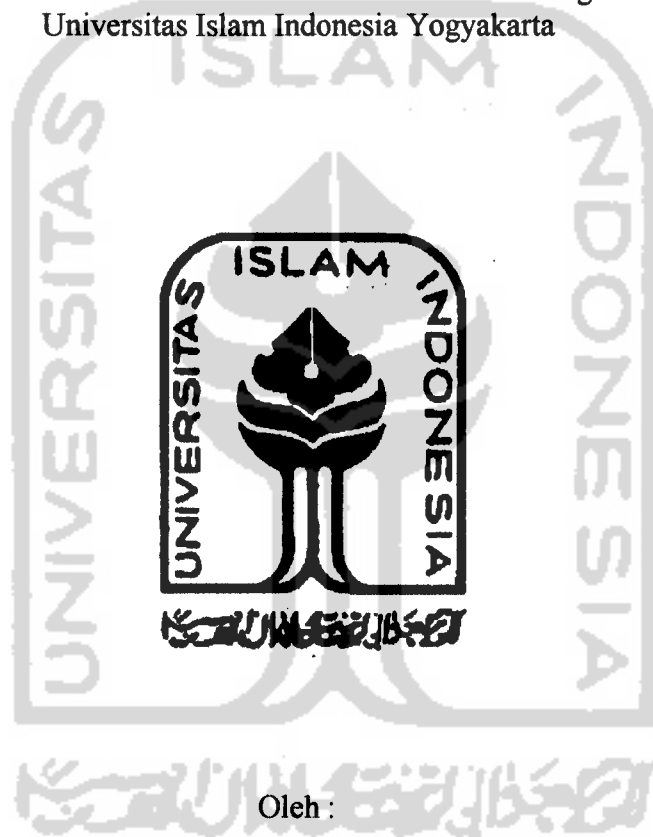
**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
Desember 2007**

**UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI KLORPROMAZIN BASA
TERHADAP *Trichophyton mentagrophytes***

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai gelar Sarjana Farmasi
(S.Farm)

Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia Yogyakarta



Oleh :

ERNAWATI

03 613 088

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
Desember 2007**

SKRIPSI

**UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI KLORPROMAZIN BASA
TERHADAP *Trichophyton mentagrophytes***

Yang diajukan oleh:

ERNAWATI

03 613 088



Telah disetujui oleh:

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pendamping,


Dra. Suparmi, M.Si., Apt


Sylvia Utami Tunjung Pratiwi, M.Si.

SKRIPSI
UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI KLORPROMAZIN BASA
TERHADAP *Trichophyton mentagrophytes*

oleh:

ERNAWATI

03613088

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia

Tanggal: 13 Desember 2007

Ketua Penguji,



Dra. Suparmi, MSi., Apt.

Anggota penguji,



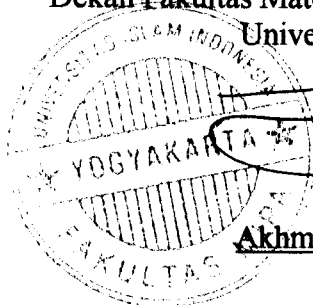
Sylvia Utami Tunjung Pratiwi, M.Si.

Anggota penguji,



Indah Purwantini, M.Si., Apt

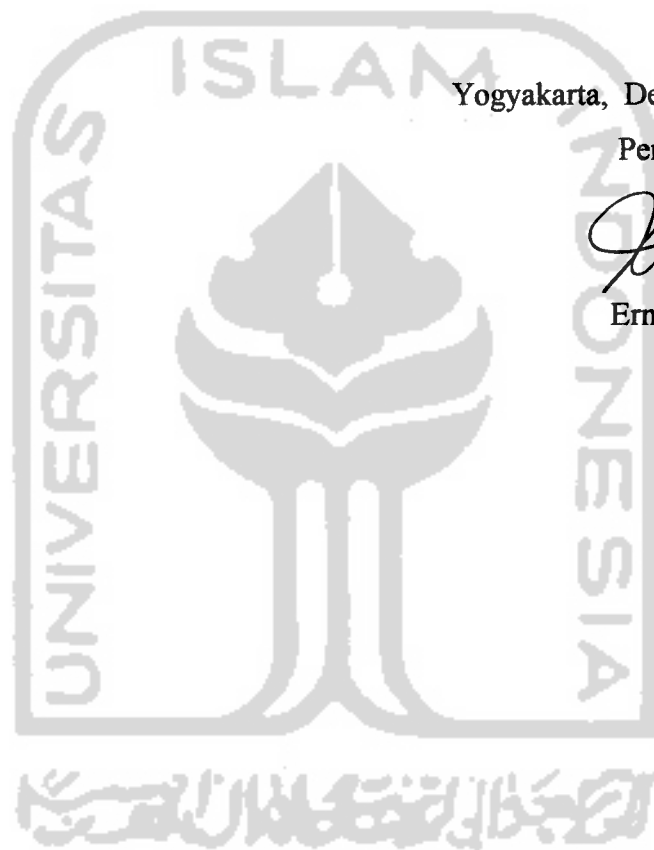
Mengetahui
Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Islam Indonesia




Akhmad Fauzy, M.Si, Ph.D.

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam skripsi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya, juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan diterbitkan dalam daftar pustaka.



Yogyakarta, Desember 2007

Penulis,

Ernawati

HALAMAN PERSEMBAHAN

Mah, Pak " " makasih byk dukungan n pengorbanannya yang tak akan pernah dapat terbalaskan dengan hal apapun

Mb Diah " " makin baik aja, dah ngasih tau byk hal di lab nukro

My best friend " " mely (jd smangat kalo ktemu mely), ema, nicha, novi (thank's dukungannya), eka n dini (kalian baik bgt sih...), dina, ana n rise (salut sama smngat kalian)

Semua tau? Lahir '05 (terlalu byk utk dsbtkan...)

Alhamdulillah, Allah SWT telah memberikan kemudahan

bagi saya dalam menyelesaikan tugas ini

Masalahnya bukanlah apakah Anda dijatuhkan,
tetapi apakah Anda bangkit kembali.
Kemenangan bukanlah segala-galanya,
tetapi perjuangan untuk menang adalah segala-galanya
(Vince Lombardi)

Anda benar-benar tidak dapat mengalahkan
orang yang tidak pernah menyerah
(William James)

Penghargaan tertinggi bagi kerja keras seseorang
bukanlah apa yang ia peroleh, tetapi karena usahanya
(John Ruskin)

Alhamdulillah, Allah SWT telah memberikan kemudahan

bagi saya dalam menyelesaikan tugas ini

Alhamdulillah

syukur bellah puji dan syukur

kepada Allah SWT yang telah memberikan kemudahan

bagi saya dalam menyelesaikan tugas ini

Ingatlah SETIAP KESULITAN ADALAH JEMBATAN UNTUK MAJU



KATA PENGANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, segala puji dan syukur penulis panjatkan ke hadirat Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penyusunan skripsi yang berjudul “**Uji Aktivitas Antifungi Klorpromazin Basa Terhadap *Trichophyton mentagrophytes*** “ yang di susun guna memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan program S1 dan mendapatkan gelar Sarjana Farmasi. Sholawat dan salam semoga senantiasa dilimpahkan kepada nabi Muhammad SAW yang telah mengajarkan syariat Allah yang agung serta menjadi contoh terbaik bagi umat manusia.

Mudah-mudahan skripsi yang penulis susun dapat menambah pengetahuan dan berguna bagi kita semua, walaupun dengan berbagai keterbatasan dan kekurangan. Kritik dan saran sangat penulis harapkan guna membangun dan mengetahui kekurangan dan kesalahan yang penulis buat, demi kebaikan kita semua.

Kepada semua pihak yang baik secara langsung maupun tidak langsung telah membantu demi kesempurnaan dalam pembuatan skripsi ini penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya, Jazakumullah Khairan Khatsiran kepada:

1. Ibu Dra. Suparmi, M.Si., Apt., selaku dosen pembimbing utama yang telah memberikan pengarahan, bimbingan, petunjuk serta saran sampai penyusunan skripsi ini selesai. Semoga senantiasa diberikan kesehatan dan semangat untuk memberikan ilmunya.
2. Ibu Sylvia Utami Tunjung Pratiwi, M.Si., selaku dosen pendamping yang telah memberikan bimbingan dan masukan sehingga dapat menyelesaikan skripsi ini dengan baik.
3. Ibu Indah Purwantini, M.Si., Apt., selaku dosen penguji yang telah memberikan kritik dan saran demi kesempurnaan naskah skripsi ini.
4. Bapak Akhmad Fauzy, M.Si., selaku Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam UII.

5. Sege nap dosen Jurusan Farmasi FMIPA UII yang telah membimbing dan memberikan ilmunya selama ini.
6. Seluruh staf Laboratorium Universitas Islam Indonesia, khususnya bagian Mikrobiologi Farmasi yang telah banyak membantu dan merelakan waktunya sehingga penelitian ini berjalan lancar.
7. Semua pihak yang telah banyak membantu penulisan skripsi ini yang tidak bisa disebutkan satu persatu.

Akhirnya penulis mohon maaf dengan segala ketulusan hati seandainya dalam penulisan skripsi ini terdapat kesalahan dalam penulisan gelar dan nama tanpa maksud apa-apa dari penulis.

Akhirnya, segalanya kita kembalikan kepada Allah SWT yang mana ibadah, hidup dan mati kita adalah senantiasa untuk-Nya.

Yogyakarta, Desember 2007

Penulis,



Ernawati

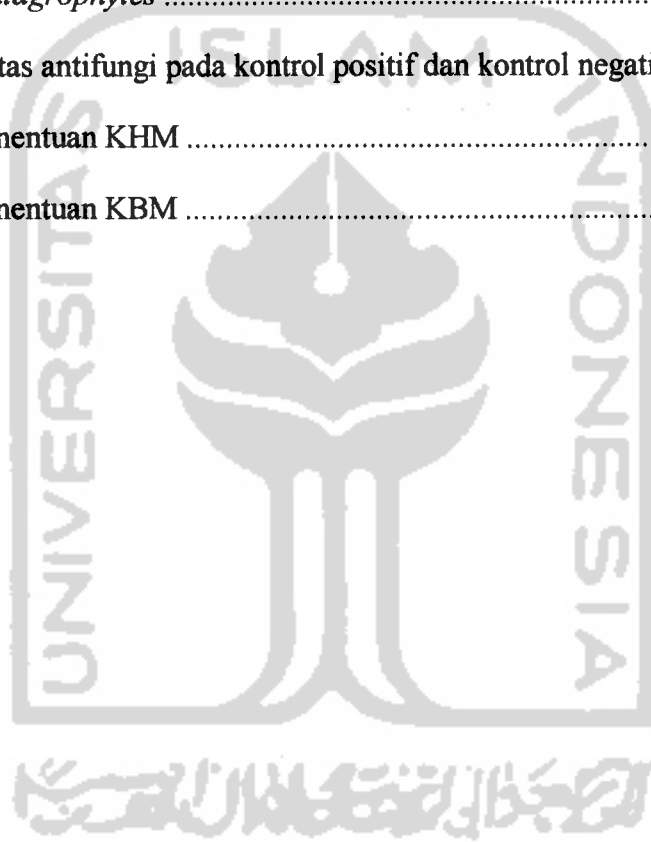
DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN PEMBIMBING	ii
HALAMAN PENGESAHAN PENGUJI	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
INTISARI	xiii
<i>ABSTRACT</i>	xiv
BAB I PENDAHULUAN	
A. Latar Belakang Masalah	1
B. Perumusan Masalah	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	3
BAB II STUDI PUSTAKA	
A. Tinjauan Pustaka	
1. Fungi	4
2. Antifungi	9
3. Obat	
a. Tolnaftat	10
b. Klorpromazin	11

4. Metode pameriksaan aktivitas antifungi	
a. Metode difusi Agar	13
b. Metode dilusi	14
B. Landasan Teori	14
C. Hipotesis	15
BAB III METODE PENELITIAN	
A. Bahan dan Alat	
1. Bahan	16
2. Alat	17
B. Cara Penelitian	
1. Sterilisasi alat dan bahan	19
2. Pembuatan media	19
3. Pembuatan stok fungi	19
4. Isolasi dan identifikasi klorpromazin dan tolnaftat	19
5. Pembuatan inokulum fungi	20
6. Uji aktivitas antifungi dengan metode difusi	20
7. Penentuan KHM	21
8. Penentuan KBM	21
C. Analisis Hasil	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
A. Pemilihan Media	22
B. Analisis Struktur Obat	22
C. Uji Aktivitas Antifungi dengan Metode Difusi	22
D. Penentuan KHM dan KBM	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
A. Kesimpulan	30
B. Saran	30
DAFTAR PUSTAKA	31
LAMPIRAN	33

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1. Struktur sel fungi	4
Gambar 2. Struktur tolnaftat	10
Gambar 2. Struktur klorpromazin	11
Gambar 3. Aktivitas antifungi larutan klorpromazin basa terhadap <i>T. mentagrophytes</i>	24
Gambar 4. Aktivitas antifungi pada kontrol positif dan kontrol negatif	25
Gambar 6. Uji penentuan KHM	28
Gambar 7. Uji penentuan KBM	28



DAFTAR TABEL

Tabel I. Diameter hambatan larutan klorpromazin basa 25



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Hasil uji statistik diameter zona hambatan 32



UJI AKTIVITAS ANTIFUNGI KLORPROMAZIN BASA TERHADAP *Trichophyton mentagrophytes*

INTISARI

Pada dasawarsa terakhir, di seluruh dunia disinyalir adanya peningkatan luar biasa kasus infeksi oleh fungi. Sementara itu, antibiotik yang berkhasiat sebagai antifungi sangat jarang, sehingga diarahkan pengembangan antifungi pada obat-obat sintetis. Klorpromazin merupakan obat sedatif yang sudah jarang digunakan. Klorpromazin diketahui dapat menghambat pertumbuhan fungi non patogen *Saccharomyces cerevisiae*, bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Klorpromazin HCl (bentuk garam dari klorpromazin basa) juga diketahui dapat menghambat pertumbuhan fungi patogen *Trichophyton mentagrophytes*. Struktur klorpromazin mirip dengan tolinaftat, suatu antifungi yang sangat poten untuk pengobatan infeksi dermatofitosis yang terutama disebabkan oleh *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum*, dan *Microsporum sp.* Oleh karena itu, pada penelitian ini ingin diketahui apakah klorpromazin basa juga mempunyai aktivitas sebagai antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. Uji daya hambat klorpromazin basa ditetapkan dengan metode sumuran dan penetapan kadar hambat minimal dilakukan dengan metode dilusi cair. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa klorpromazin basa mempunyai aktivitas sebagai antifungi. Klorpromazin basa pada kadar 0,8% bersifat sebagai fungistatik, ditunjukkan dengan hasil goresan yang masih terlihat adanya pertumbuhan fungi. Hasil analisis statistik menunjukkan adanya perbedaan aktivitas fungistatik antara masing-masing kadar dengan kontrol.

Kata kunci: Klorpromazin basa, antifungi, *Trichophyton mentagrophytes*

THE TEST OF BASE CHLORPROMAZINE ANTIFUNGUS ACTIVITY ON *Trichophyton mentagrophytes*

ABSTRACT

At a last decade, it was actually signaled that there has been a considerable increase of infection cases resulted from fungus throughout the world. At the same time, an efficacious antibiotic as an antifungus was rare, so the development of antifungus tends to the synthetic drugs. It was known that chlorpromazine is rarely used as a sedative. Chlorpromazine inhibit the growth of *Saccharomyces cerevisiae*, *Staphylococcus aureus*, and *Candida albicans*. Chlorpromazine HCl (a saline form of the base chlorpromazine) also inhibit the growth of pathogenic fungus *Trichophyton mentagrophytes*. The structure of chlorpromazine resembles tolnaftat—a very potent antifungus to treat dermatophytosis infection, mainly due to *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum*, and *Microsporum sp.* The aim of this study is to find out whether the base chlorpromazine also has activity as an antifungus against *Trichophyton mentagrophytes*. The microbial assay to determine antifungus activity of base chlorpromazine was performed using diffusion method and the minimum inhibitory concentration was determined using dilution method. The result obtained in this study indicates that base chlorpromazine has activity as an antifungus. The base chlorpromazine with the dose of 0.8% is fungistatic in nature, shown by the result of scratch still seen as an evidence of the existence of fungus growth. The result of statistical analysis indicates that there is difference in fungistatic activity between each doses of base chlorpromazine and the control used.

Keywords: base chlorpromazine, antifungus, *Trichophyton mentagrophytes*

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Penyakit kulit merupakan penyakit yang sering diderita oleh manusia. Penyebabnya dapat berupa bakteri, virus, ataupun fungi/jamur. Penyakit kulit yang disebabkan oleh infeksi fungi atau dermatomikosis berperan penting di Indonesia, karena udara lembab dan panas disertai higien dan sanitasi yang kurang baik. Dermatomikosis dibagi atas mikosis profunda bila menginvasi jaringan dan menyebabkan penyakit sistemik, mikosis superfisial yang terbatas pada kulit dan membran mukosa, serta mikosis intermediet bila dapat menyebabkan infeksi pada kulit membran mukosa, menginvasi jaringan dan menyebabkan penyakit sistemik (Tjay dan Rahardja, 2002).

Pada dasawarsa terakhir, di seluruh dunia disinyalir adanya peningkatan luar biasa kasus infeksi oleh fungi. Kasus yang utama adalah mikosis kulit oleh dermatofit serta infeksi mukosa mulut, *bronchia*, usus, vagina, dan lain-lain oleh sejenis ragi *Candida albicans*. Penyebaran luas infeksi karena fungi ini mungkin disebabkan oleh sangat meningkatnya penggunaan antibiotika berspektrum luas di mana-mana, yang merusak keseimbangan biologi flora kuman normal. Atau, karena banyak digunakannya kortikosteroida yang mengurangi daya tangkis tubuh terhadap berbagai jenis infeksi. Akhirnya faktor-faktor higienis (kolam renang, sauna, dan sebagainya) serta bertambahnya kontak internasional di bidang kepariwisataan dan perdagangan memegang peranan pula dalam penyebaran infeksi tersebut (Tjay dan Rahardja, 2002).

Fungi yang akan digunakan pada uji aktivitas klorpromazin basa sebagai antifungi ini adalah *Trichophyton mentagrophytes*, yang merupakan fungi patogen penyebab mikosis kulit dan hanya menginvasi jaringan superfisial yang terkeratinisasi (kulit, rambut, kuku). Fungi ini dapat menyebabkan penyakit *tinea*, *dermatofitosis*, *ringworm*, atau kurap. Fungi ini dapat menginfeksi secara langsung melalui anjing, kucing, dan hewan-hewan lain yang umumnya menjadi peliharaan manusia. Dapat juga menginfeksi secara tidak langsung antar manusia

melalui lantai, handuk, sisir, sarung bantal, dan benda lainnya yang terkontaminasi, terkena bagian tubuh yang terinfeksi. Oleh karena itu, kemungkinan manusia untuk terinfeksi oleh fungi tersebut sangat besar.

Klorpromazin merupakan senyawa turunan fenotiazin yang telah diketahui dapat menghambat pertumbuhan khamir nonpatogen *Saccharomyces cerevisiae*, bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*. Klorpromazin HCl juga diketahui dapat menghambat pertumbuhan fungi patogen *Trichophyton mentagrophytes*. Klorpromazin adalah obat antipsikotik yang memiliki efek sedatif dan antiemetik. Akan tetapi, sekarang ini klorpromazin sudah jarang digunakan. Hal ini dimungkinkan karena dewasa ini sudah bermunculan obat-obat sedatif dan antiemetik yang mempunyai khasiat dan batas keamanan lebih besar serta efek samping dan toksisitas yang lebih kecil. Klorpromazin memiliki kemiripan struktur dengan tolnaftat. Tolnaftat merupakan obat antifungi topikal yang digunakan dalam bentuk krim, tepung, atau larutan untuk pengobatan dermatofitosis yang dapat disebabkan oleh fungi *Trichophyton mentagrophytes*, *Epidermophyton floccosum*, dan *Microsporum sp.*

B. Perumusan Masalah

1. Apakah klorpromazin basa memiliki aktivitas sebagai antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes* ?
2. Pada kadar berapa klorpromazin basa mulai mempunyai kemampuan menghambat dan membunuh fungi *Trichophyton mentagrophytes* ?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya aktivitas klorpromazin basa sebagai antifungi terhadap fungi patogen *Trichophyton mentagrophytes*, dengan menentukan konsentrasi hambat minimal (KHM) dan konsentrasi bunuh minimal (KBM).

D. Manfaat Penelitian

Klorpromazin sebagai obat sedatif akhir-akhir ini jarang digunakan. Jika dalam penelitian ini terbukti bahwa klorpromazin basa mempunyai aktivitas sebagai antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes*, maka senyawa ini perlu dikembangkan menjadi bentuk sediaan topikal guna meningkatkan pemanfaatan obat dan pada akhirnya dapat meningkatkan kesehatan masyarakat.



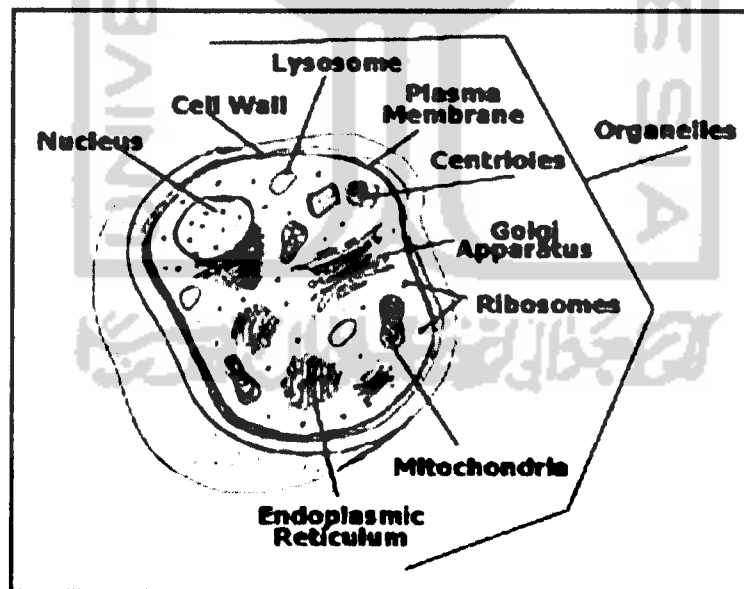
BAB II

STUDI PUSTAKA

A. Tinjauan Pustaka

1. Fungi

Fungi adalah dunia organisme eukariotik, heterotrofik yang hidup sebagai saprofit atau parasit termasuk cendawan (*mushrooms*), ragi, jamur hangus (*smuts*), kapang, dan sebagainya, serta yang memiliki dinding sel kaku tetapi tidak memiliki klorofil. Semua fungi adalah organisme eukaryotik, dan setiap sel fungi mempunyai sedikitnya satu nukleus dan membran nukleus, retikulum endoplasma, mitokondria, dan aparatus sekretorik. Kebanyakan jamur bersifat obligat atau fakultatif aerob. Mereka bersifat khemotropik, mensekresi enzim yang mendegradasi banyak varietas substrat organik menjadi nutrien yang dapat larut, yang kemudian diabsorbsi secara pasif atau diambil ke dalam sel melalui transport aktif (Jawetz dkk., 2005).



Gambar 1. Struktur sel fungi (Foster & Smith, 2007).

Semua fungi mempunyai dinding sel kaku yang penting untuk menentukan bentuknya. Dinding-dinding sel sebagian besar terbentuk oleh lapisan karbohidrat, rantai-rantai panjang polisakarida, juga glikoprotein dan lipid. Selama infeksi,

dinding sel fungi mempunyai sifat-sifat patobiologi yang penting. Komponen permukaan dinding sel memperantarai penempelan fungi pada sel inang. Polisakarida dinding sel bisa mengaktivasi amplifikasi komplemen dan memprovokasi suatu reaksi inflamasi; mereka didegradasi dengan buruk oleh inang dan dapat terdeteksi dengan pewarnaan khusus. Dinding sel melepaskan antigen imunodominan yang bisa menghasilkan respon imun seluler dan antibodi yang bersifat diagnostik. Beberapa ragi dan kapang memberi melanin pada dinding sel, memberikan pigmen coklat atau hitam. Fungi yang demikian adalah *dematiaceous*. Dalam beberapa penelitian, melanin pada dinding sel fungi berhubungan dengan virulensi (kemampuan untuk menimbulkan efek patologis) (Jawetz dkk., 2005).

Fungi diklasifikasikan atas dasar bentuk reproduksi seksualnya. Namun, tahap seksual sulit untuk diinduksi dan jarang diamati pada bahan klinik. Kebanyakan fungi dihasilkan melalui pembentukan konidia melalui mitosis (reproduksi aseksual), selama nomor kromosom tetap sama. Penjelasan mengenai spesies secara garis besar berdasarkan atas berbagai struktur aseksual, dan fungi dikenali atas dasar ciri-ciri morfologi hifa, ragi, dan konidia, yang mungkin terbentuk pada konidiofora khusus, pada sisi atau ujung dari hifa yang tidak khusus, atau dari suatu sel hifa. Beberapa fungi patogenik dan kebanyakan fungi nonpatogenik berespon terhadap rangsangan lingkungan dan dapat memperlihatkan bentuk morfologik yang berbeda (dimorfisme). Ditemukannya kedua fase dapat menjadi kunci kriteria diagnostik (Jawetz dkk., 1996).

Fungi diklasifikasikan sebagai berikut:

a. Zygomycetes

Reproduksi seksual menghasilkan suatu zygospora; reproduksi seksual terjadi melalui sporangia. Hifa vegetatif bersepta panjang. Contohnya: *Rhizopus*, *Absidia*, *Mucor*, *Pilobolus*.

b. Ascomycetes

Reproduksi seksual melibatkan suatu kantung atau ascus yang di dalamnya terjadi karyogami dan meiosis, yang memproduksi ascospora. Reproduksi aseksual adalah melalui konidia. Mold mempunyai hifa bersepta. Contohnya:

Ajellomyces (genus Anamorfik, Microsporum, Trichophyton), dan genus ragi seperti Saccharomyces.

c. Basidiomycetes

Reproduksi seksual menghasilkan empat keturunan basidiospora yang ditunjang oleh suatu basidium berbentuk gada. Hifanya mempunyai septa yang rumit. Contohnya: fungi merang, *Fillobasidiella neoformans* (anamorf, *Cryptococcus neoformans*).

d. Deuteromycetes

Ini merupakan pengelompokan buatan dari fungi imperfekta yang reproduksi seksualnya belum ditemukan. Tahap anamorfik ditandai dengan konidia aseksual. Bila siklus seksual ditemukan, suatu spesies digolongkan kembali untuk mencerminkan filogennya yang sesuai. Contohnya: *Coccidioides immitis*, *Paracoccidioides brasiliensis*, *Candida albicans* (Jawetz dkk., 2005).

Terdapat 3 kelompok utama fungi yang menyebabkan penyakit pada manusia:

- a. *Mold* (fungi filamentosa) tumbuh sebagai filamen panjang yang berjalin-jalin membentuk miselium. Contohnya adalah *dermatofita*, disebut demikian karena kemampuannya untuk mencerna keratin, yang menyebabkan infeksi kulit, kuku, dan rambut, dan *Aspergillus fumigatus*, yang bisa menyebabkan aspergilosis paru.
- b. Ragi sejati adalah fungi bulat atau oval uniseluler, misalnya *Cryptococcus neoformans*, yang bisa menyebabkan meningitis kriptokokus (radang selaput otak) atau infeksi paru, biasanya hanya pada pasien *immunocompromised* (respon imun yang lemah).
- c. Fungi menyerupai ragi, serupa dengan ragi, tetapi juga bisa membentuk filamen panjang tidak bercabang. Contoh penting adalah *Candida albicans*, yang merupakan organisme komensal umum dalam usus, mulut, dan vagina. Fungi ini menyebabkan spektrum penyakit yang luas seperti sariawan mulut, *vaginitis* (radang vagina), *endocarditis* (peradangan pada membran yang terdapat pada rongga jantung), dan *septicemia/bloodpoisoning* (penyakit sistemik yang berhubungan dengan adanya dan bertahannya mikroorganisme patogen atau toksinnya di dalam darah) (Neal, 2005; DiPiro, 2002).

Istilah dermatofitosis harus dibedakan dengan dermatomikosis. Dermatomikosis mempunyai arti umum, yaitu semua penyakit fungi yang menyerang kulit. Sedang dermatofitosis adalah penyakit pada jaringan yang mengandung keratin, misalnya stratum korneum pada epidermis, rambut, dan kuku, yang disebabkan golongan fungi dermatofita. Dermatofita termasuk kelas *Fungi imperfecti*, yang terbagi dalam 3 genus, yaitu *Microsporum*, *Trichophyton*, dan *Epidermophyton*. Selain sifat keratolitik, masih banyak sifat yang sama di antara dermatofita, misalnya sifat faali, taksonomis, antigenik, kebutuhan zat makanan untuk pertumbuhannya, dan penyebab penyakit (Djuanda, 2000).

Sistematika taksonomi dari *Trichophyton mentagrophytes*:

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Class	: Euascomycetes
Order	: Onygenales
Family	: Arthrodermataceae
Genus	: <i>Trichophyton</i>
Spesies	: <i>Trichophyton mentagrophytes</i> (Anonim, 2006a).

Fungi yang menginfeksi manusia (mikosis) dibagi menjadi empat kelompok yaitu mikosis sistemik, mikosis subkutan, mikosis kutan, dan mikosis superfisial. Mikosis kutan hanya menginfeksi epidermis, rambut dan kuku, dan disebabkan oleh jamur Dermatophytes, seperti *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum sp.* dan *Trichophyton sp.* Penyakitnya disebut dermatofitosis atau dermatomikosis (Siswandono, 2000).

Fungi dapat tumbuh dengan baik dalam keadaan gelap, tempat yang lembab, tetapi mereka juga ditemukan pada bahan organik. Banyak fungi yang secara langsung mempengaruhi kesehatan manusia. Beberapa di antaranya patogen terhadap manusia, menyebabkan penyakit seperti *athlete's foot*, *ringworm*, dan *histoplasmosis* (Klein, 2005).

Infeksi dermatofit seringkali disalahartikan sebagai *ringworm* atau tinea karena adanya lesi sirkuler yang membesar. Bentuk-bentuk klinis adalah berdasarkan tempat kerusakan. Spesies tunggal dapat menyebabkan lebih dari satu

tipe infeksi klinis. Sebaliknya bentuk klinis tunggal, seperti tinea corporis, bisa disebabkan oleh lebih dari satu spesies dermatofit.

a. Tinea pedis (kaki atlet)

Tinea pedis merupakan dermatofitosis yang paling prevalen. Ia umum terjadi sebagai infeksi kronis pada sela-sela jari. Varietas lain adalah tipe vesikuler (seperti kantung) dan ulseratif (kerusakan lokal atau ekskavasi (seperti membuat rongga) permukaan organ atau jaringan), dengan hiperkeratosis pada tumit. Pada awalnya terdapat rasa gatal di antara jari, kemudian vesikel-vesikel kecil pecah mengeluarkan cairan encer. Kulit di sela-sela jari lembab dan mengelupas, karena itu tampak pecah-pecah, di mana cenderung berkembang infeksi bakterial sekunder. Ketika infeksi jamur menjadi kronis, pengelupasan dan pecah-pecah pada kulit merupakan manifestasi yang mendasar, disertai nyeri dan pruritus (gatal).

b. Tinea unguium (onychomikosis)

Infeksi kuku bisa mengikuti tinea pedis yang berkepanjangan. Dengan invasi hifa, kuku menjadi kuning, rapuh, menebal, dan lunak. Bisa mengenai lebih dari satu kuku kaki atau tangan.

c. Tinea corporis, tinea cruris, dan tinea manus

Dermatofitosis pada kulit tak berambut seringkali meningkatkan lesi annuler ringworm, dengan satu pusat yang bersih dan bersisik yang dikelilingi oleh tipe berwarna merah yang melebar, dapat kering atau vesikuler. Dermatofit ini hanya tumbuh pada jaringan mati dan berkeratin, tetapi metabolit fungi, enzim-enzim, dan antigen berdifusi melalui lapisan epidermis yang hidup untuk menyebabkan *erythema* (kemerahan pada kulit), pembentukan vesikel, dan pruritus. Infeksi oleh dermatofit geofilik atau zoofilik lebih menghasilkan iritan dan lebih meradang daripada spesies antropofilik.

d. Tinea capitis dan tinea barbae

Tinea capitis adalah dermatofitosis atau ringworm pada kulit kepala atau rambut. Infeksi ini dimulai dengan invasi hifa pada kulit kepala, dengan penyebaran berikutnya di bawah dinding berkeratin pada folikel rambut. Infeksi rambut terjadi sedikit di atas akar rambut dan pada ratio yang sama dengan

pertumbuhan rambut ke arah atas. Infeksi berikut menghasilkan bercak *alopecia* (botak) sirkuler abu-abu muda, bersisik, dan gatal.

e. Reaksi *trichophytid*

Dalam perjalanan dermatofitosis, seseorang bisa menjadi hipersensitif terhadap unsur-unsur atau produk-produk fungi tersebut dan bisa timbul manifestasi alergi, yang disebut *dermatophytid* (biasanya vesikel/lepuh kecil), di mana saja pada tubuh (paling sering pada tangan) (Jawetz dkk, 2005).

2. Antifungi

Kebanyakan fungi sangat resisten terhadap obat-obat antibakteri. Hanya sedikit bahan kimia yang diketahui dapat menghambat fungi patogen pada manusia, dan banyak di antaranya relatif toksik. Kebutuhan untuk mendapat obat antifungi yang lebih baik lebih ditekankan dengan sangat meningkatnya insidens infeksi fungi, baik lokal maupun meluas pada pasien yang kurang imun (Katzung, 1997).

Mekanisme antifungi dapat dikelompokkan menjadi 4, yaitu:

a. Gangguan membran sel

Antifungi berikatan kuat dengan sterol yang terdapat pada membran sel fungi. Kehilangan beberapa bahan intrasel dan mengakibatkan kerusakan yang tetap pada sel. Mekanisme ini mempunyai efek fungisidal.

b. Penghambatan sintesis kitin

Penghambatan sintesis kitin merupakan mekanisme ideal dan selektif tanpa memberikan efek samping pada inang. Antifungi dengan mekanisme ini mempunyai spektrum luas dan hanya sedikit yang bekerja dengan mekanisme ini.

c. Penghambatan sintesis asam nukleat dan protein

Mekanismenya dengan cara antifungi masuk ke dalam sel fungi dengan hambatan enzim tertentu. Sintesis protein dinding sel fungi dapat terganggu akibat penghambatan langsung pada sintesis DNA, asam amino, dan biosintesis nukleotida. Penghambatan ini hanya mempunyai efek fungistatik.

d. Penghambatan produksi energi (ATP)

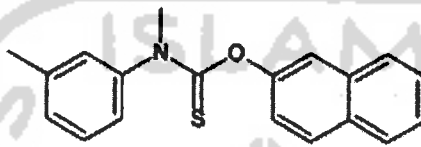
Beberapa agen antimikrobia menghambat respirasi fungi. Senyawa yang memiliki jenis aksi ini umumnya kurang selektif terhadap mikroorganisme,

sehingga menimbulkan efek toksik pada mamalia dan jarang digunakan untuk terapi. Mekanismenya dengan cara menghambat respirasi atau menghalangi terjadinya fosforilasi oksidatif yang terjadi di sitoplasma atau mitokondria. Mekanisme ini mempunyai efek fungisidal (Anonim, 1993; Griffin, 1981).

3. Obat

a. Tolnaftat

Rumus struktur: $C_{19}H_{17}NOS$



Gambar 2. Struktur tolnaftat (Anonim, 2006b).

(1). Pemerian

Tolnaftat praktis tidak larut dalam air, sedikit larut dalam metanol dan etanol, larut dalam kloroform, aseton, karbon tetraklorida. Titik lebur antara 109-113 °C (Moffat, 1986).

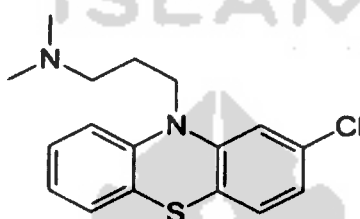
(2). Penggunaan

Pada beberapa jenis fungi, hasil yang amat baik dapat dicapai dengan beberapa turunan asam tiokarbonat, di mana yang biasanya paling berkhasiat adalah tolnaftat. Tolnaftat adalah suatu senyawa antifungi sintetis yang efektif secara topikal terhadap infeksi dermatofit yang disebabkan oleh *Epidermophyton*, *Microsporum*, dan *Trichophyton*. Obat ini juga aktif terhadap *P. orbiculare* tetapi tidak terhadap *Candida*. Tolnaftat adalah suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antifungi dengan menghambat biosintesis dinding sel fungi yang telah diaplikasikan dalam bentuk sediaan farmasi berupa krim, larutan, bubuk, atau bubuk aerosol yang digunakan 2 x sehari pada daerah yang terinfeksi. Pengulangan yang terjadi setelah penghentian obat sering timbul, dan infeksi di daerah telapak tangan, telapak kaki, dan kuku biasanya tidak memberikan respon terhadap tolnaftat tunggal. Bubuk atau bubuk aerosol dapat digunakan secara kronik setelah pengobatan awal pada penderita yang rentan terhadap infeksi tinea. Tolnaftat umumnya ditoleransi dengan baik dan jarang menyebabkan iritasi atau

sensitisasi kontak alergi (Katzung, 1997). Angka penyembuhan tolinaftat pada tinea pedis 80%, sedang angka penyembuhan mikronazol 95%. Rasa gatal akan hilang dalam 24-72 jam. Lesi interdigital oleh jamur yang rentan dapat sembuh antara 7-21 hari. Pada lesi dengan hiperkeratosis tolinaftat sebaiknya diberikan bergantian dengan salep asam salisilat 10%. Beberapa kasus membutuhkan waktu pengobatan 4-6 minggu, tapi jarang melebihi 10 minggu (Djuanda, 2000).

b. Klorpromazin

Rumus molekul: $C_{17}H_{19}ClN_2S$



Gambar 1. Struktur klorpromazin (Anonim, 2006c).

(1). Pemerian

Klorpromazin adalah serbuk putih, agak krem putih atau padatan seperti lilin. Kelamaan menjadi gelap jika disimpan di tempat yang tidak terlindung dari cahaya. CPZ praktis tidak larut dalam air; larut dalam etanol, kloroform, dan dalam eter. Titik lebur CPZ antara 56-60 °C (Moffat, 1986).

Berbeda dengan klorpromazin HCl, merupakan serbuk hablur berwarna putih atau putih kekuningan yang oleh pengaruh cahaya warna menjadi tua. CPZ HCl mudah larut dalam air, etanol, dan kloroform, praktis tidak larut dalam eter dan benzena (Anonim, 1979). Derajat keasaman larutan 5% CPZ HCl dalam aquadest adalah 4,0-5,5 (Budavari, 1996). Titik lebur CPZ HCl antara 195-198 °C (Moffat, 1986).

(2). Farmakodinamik

Klorpromazin merupakan agen antipsikotik turunan fenotiazin. CPZ digunakan untuk manajemen simptomatik pada psikotik disorder (kelainan jiwa) (McEvoy, 2005). Timbulnya sedasi amat tergantung dari status emosional penderita sebelum minum obat. CPZ menimbulkan efek menenangkan pada hewan buas. CPZ tidak dapat mencegah timbulnya konvulsi (kejang) akibat

rangsang listrik maupun rangsang oleh obat. Semua fenotiazin, kecuali klozapin menimbulkan *hyperprolactinemia* (kelebihan prolaktin dalam tubuh) lewat penghambatan efek sentral dopamin (Ganiswara, 1995).

(3). Farmakokinetik

Pada umumnya semua fenotiazin diabsorpsi dengan baik bila diberikan per oral maupun parenteral. Penyebaran luas ke semua ke semua jaringan dengan kadar tertinggi di paru-paru, hati, kelenjar suprarenal, dan limfa. Setelah pemberian CPZ dosis besar, maka masih ditemukan ekskresi CPZ atau metabolitnya selama 6-12 bulan (Ganiswara, 1995).

(4). Efek samping

Batas keamanan CPZ cukup lebar, sehingga obat ini cukup aman. Efek samping umumnya merupakan perluasan efek farmakodinamiknya. Gejala *idiosyncrasy* (kerentanan abnormal terhadap beberapa obat, protein, atau bahan lain, yang khusus untuk individu tersebut) mungkin timbul, berupa dermatitis (peradangan pada kulit) dan leukopenia (berkurangnya jumlah leukosit dalam darah). Reaksi ini disertai eosinofilia dalam darah perifer (Ganiswara, 1995). Reaksi merugikan dari klorpromazin adalah gejala ekstrapiramidal (gerakan abnormal anggota badan di luar kesadaran), *tardive dyskinesia* (kelainan yang melibatkan gerakan sendiri yang berulang-ulang pada wajah, pipi, mulut, dan otot leher), rasa mengantuk, bingung, depresi, mulut kering, *constipation* (kesukaran buang air besar), kesukaran miksi (berkemih), pandangan kabur (efek antimuskarinik), supresi sumsum tulang, *tachycardia* (kecepatan denyut jantung yang abnormal), hipotensi (tekanan darah rendah), ikterus (menegang) (Hayes & Mackay, 1997).

(5). Indikasi

Indikasi utama fenotiazin ialah skizofrenia gangguan psikosis yang tersering ditemukan. Gejala psikotik yang dipengaruhi secara baik oleh fenotiazin dan antipsikosis lain ialah ketegangan, hiperaktivitas, halusinasi (seolah-olah ada yang membisikkan untuk berbuat sesuatu), *combativeness* (menyerang), *hostality* (mengamuk), delusi akut (mengkhayal), susah tidur, *anorexia* (tidak ada atau hilangnya selera makan), perhatian diri yang buruk, *negativisme* (berprasangka buruk), dan kadang-kadang mengatasi sifat menarik diri. CPZ merupakan obat

terpilih untuk menghilangkan *hiccup* (bunyi inspirasi nafas yang tajam disertai kontraksi otot yang mendadak dan keras pada glotis dan diafragma). Obat ini hanya diberikan pada *hiccup* yang berlangsung berhari-hari sangat mengganggu (Ganiswara, 1995).

4. Metode Pemeriksaan Aktivitas Antifungi

Pemeriksaan terhadap antifungi dapat dilakukan dengan berbagai cara, yaitu:

a. Metode difusi Agar

Suatu cakram kertas yang mengandung obat dalam jumlah tertentu ditempatkan pada media padat yang telah ditanami dengan biakan fungi yang diperiksa. Setelah inkubasi, garis tengah diameter hambatan yang jernih mengelilingi obat dianggap sebagai ukuran kekuatan hambatan obat terhadap fungi yang diperiksa (Jawetz dkk, 1996).

Pada cara ini dikenal dua pengertian, yaitu:

(1). Zona radikal, yaitu daerah di sekitar cakram atau *disc* di mana sama sekali tidak ada pertumbuhan fungi. Potensi antifungi diukur dengan mengukur diameter dari zone radikal; dan

(2). Zona irradikal, yaitu suatu daerah di sekitar cakram atau *disc* yang menunjukkan pertumbuhan fungi dihambat tapi tidak dimatikan. Di sini akan terlihat adanya pertumbuhan yang kurang subur atau lebih jarang dibanding dengan daerah di luar pengaruh antifungi tersebut.

Metode difusi Agar dapat dibedakan menjadi beberapa cara, yaitu:

(1). Kirby Bauer

Suspensi fungi ditanam pada media. Di atasnya diletakkan *disc*/cakram kertas saring yang berisi antifungi. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam dan dibaca diameter zona hambatan yang terbentuk.

(2). Cara sumuran

Pada agar yang telah diolesi fungi dibuat sumuran dengan garis tengah tertentu. Ke dalam sumuran diteteskan larutan antifungi dan diinkubasi pada 37 °C selama 12-24 jam.

(3). Cara *Pour plate* (cawan tuang)

Suspensi fungi dengan kekeruhan tertentu dicampur dengan media agar suhu 40 °C dan dibiarkan membeku. Diletakkan *disc* dan diisi antifungi. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15-20 jam dan diamati zona hambatannya.

b. Metode dilusi

(1). Metode dilusi padat

Media Agar ditambah dengan suspensi fungi dan larutan obat pada beberapa konsentrasi, campur sampai homogen. Kemudian tuang ke dalam petri dan biarkan memadat, lalu inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Amati pertumbuhan koloninya dan tentukan kadar hambat minimalnya dengan melihat konsentrasi terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan fungi.

(2). Metode dilusi cair

Masukkan suspensi fungi ke dalam media cair dan tambahkan larutan obatnya dalam tabung reaksi dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Lalu inkubasi pada suhu 37 °C selama 18-24 jam. Amati kekeruhannya dan tentukan kadar hambat minimalnya.

B. Landasan Teori

Klorpromazin merupakan senyawa turunan fenotiazin yang digunakan sebagai antiemetik dan sedatif. Akan tetapi, sekarang ini senyawa itu kurang digunakan sebagai obat sedatif karena ditemukannya senyawa dengan efektivitas lebih besar dan efek samping yang lebih kecil. Klorpromazin diketahui dapat menghambat pertumbuhan khamir non patogen seperti *Saccharomyces cerevisiae*, bakteri *Staphylococcus aureus*, dan *Candida albicans*.

Senyawa ini memiliki kemiripan struktur dengan tolnaftat, suatu antifungi yang sangat efektif terhadap pengobatan dermatofitosis. Sementara itu, sebagian besar infeksi dermatofitosis disebabkan oleh *Trichophyton mentagrophytes*. Fungi penyebab infeksi dermatofitosis lainnya adalah *Epidermophyton floccosum* dan

Microsporum sp. Oleh karena itu, perlu dilakukan uji aktivitas klorpromazin sebagai antifungi terhadap fungi patogen *Trichophyton mentagrophytes*.

C. Hipotesis

Klorpromazin HCl diketahui bersifat fungistatik terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. Didukung oleh kemiripan strukturnya dengan tolinafat, suatu antifungi, maka klorpromazin basa diperkirakan mempunyai aktivitas sebagai antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes*.



BAB III

METODE PENELITIAN

A. Bahan dan Alat

1. Bahan

a. Tablet klorpromazin

(PT. Kimia Farma)

Digunakan sebagai senyawa uji

b. Krim tolinaftat

Digunakan sebagai antifungi pembanding (kontrol positif)

c. Aseton

Digunakan sebagai pelarut tolinaftat, CPZ basa, dan kontrol negatif

d. Eter

Digunakan sebagai pelarut pada isolasi klorpromazin basa

e. Aquadest

Digunakan sebagai pelarut klorpromazin HCl

f. Fungi *Trichophyton mentagrophytes*

(Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran UGM, Yogyakarta)

Digunakan sebagai mikrobial uji

h. Media *Sabouraud Dextrose Agar*

Formula per liter terdiri dari:

(1). *Bacto Neopeptone* 10 g

(2). *Bacto Dextrose* 40 g

(3). *Bacto Agar* 15 g

pH akhir: $5,6 \pm 0,2$ pada suhu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$

i. Media *Sabouraud Dextrose Liquid*

Formula per liter terdiri dari:

(1). *Bacto Neopeptone* 10 g

(2). *Bacto Dextrose* 20 g

pH akhir: $5,6 \pm 0,2$ pada suhu $25\text{ }^{\circ}\text{C}$

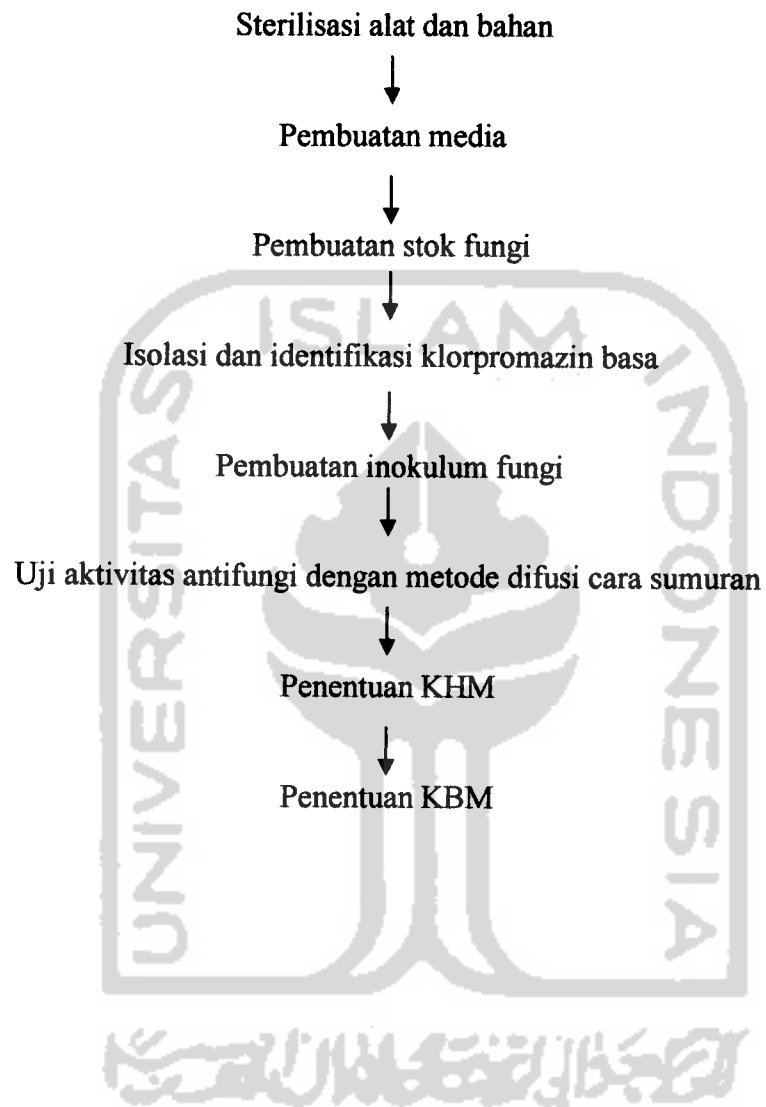
2. Alat

- a. Inkubator
- b. Autoklaf
- c. *Shaker incubator*
- d. Lemari asam
- e. Alat uji titik lebur
- f. Jangka sorong
- g. Alat-alat gelas
- h. Ose
- i. Indikator pH



B. Cara Penelitian

Skema penelitian:



1. Sterilisasi alat dan bahan

Sterilisasi dilakukan dengan cara *sterilisasi A*, yaitu dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit.

2. Pembuatan media

a. Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Sebanyak 65 g bahan media dilarutkan dalam 1 liter aquades, kemudian dipanaskan hingga mendidih. Disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121 °C selama 15 menit. Kemudian media tersebut didiamkan pada suhu kamar hingga membeku. Media yang tidak segera digunakan disimpan dalam lemari pendingin.

b. Media *Sabouraud Dextrose Liquid* (SDL)

Sebanyak 30 g bahan media dilarutkan dalam 1 liter aquadest, kemudian disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Media yang tidak segera digunakan disimpan dalam lemari pendingin.

3. Pembuatan stok fungi

Fungi diambil 1 koloni tunggal dengan menggunakan ose dan dioleskan pada media SDA pada piring petri. Kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Setelah fungi tumbuh, disimpan dalam lemari pendingin sebagai stok.

4. Isolasi dan identifikasi klorpromazin dan tolnaftat

Klorpromazin tablet digerus sampai halus. Ditimbang sebanyak 2,5 g dan dilarutkan dalam 25 ml air, kemudian disaring. Filtrat diuapkan di atas penangas air sampai diperoleh massa klorpromazin HCl. Identifikasi klorpromazin HCl dilakukan dengan pengujian titik lebur dengan alat uji titik lebur tipe kapiler dan pengujian pH larutan obat dengan indikator pH. Sebanyak 1 g dari massa yang diperoleh dilarutkan dalam 10 ml eter dan 10 ml air. Larutan dipisahkan dengan menggunakan corong pisah hingga terbentuk 2 fase cairan. Diambil fase eter yang mengandung klorpromazin basa dan diuapkan dalam lemari asam hingga diperoleh klorpromazin basa murni. Dilakukan identifikasi klorpromazin basa dengan pengujian titik lebur menggunakan alat uji titik lebur tipe kapiler.

Ditimbang 200 mg klorpromazin basa dan dilarutkan dengan aseton sampai 10 ml sehingga diperoleh larutan stok 20 mg/ml. Dibuat seri kadar dengan pengenceran. Kadar yang digunakan adalah 0.6%, 0.8%, 1.0%, 1.2%, dan 1.4%. Sebagai pembanding (kontrol positif) digunakan tolnaftat 1% dengan cara sebanyak 3 g krim naftate dilarutkan dalam 10 ml aseton, kemudian disaring dan diuapkan hingga diperoleh massa tolnaftat. Diambil 100 mg tolnaftat dan dilarutkan dalam aseton sampai 10 ml. Sementara itu aseton digunakan sebagai kontrol negatif.

5. Pembuatan inokulum fungi

Dilakukan dengan mengambil 1 mata ose fungi dari stok pertumbuhan. Kemudian diinokulasikan pada masing-masing 6 ml media *Sabouraud Dextrose Liquid* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37 °C. Kemudian inokulum tersebut digojog teratur dalam *Shaker incubator* dengan kecepatan 240 rpm selama 2 jam. Diambil 2 ml inokulum dan disuspensikan dengan larutan NaCl 0,9% sampai kekeruhannya sesuai dengan standar Brown III dengan konsentrasi 10^8 CFU/ml yang diamati secara visual.

6. Uji aktivitas antifungi dengan metode difusi cara sumuran

Sebanyak masing-masing 100 µl suspensi fungi *Trichophyton mentagrophytes* dimasukkan ke dalam 2 buah erlenmeyer berisi 15 ml SDA yang telah dicairkan. Media SDA yang telah ditambah suspensi fungi dimasukkan ke dalam petri dan dibiarkan memadat. Kemudian salah satu petri dibuat 5 sumuran dengan menggunakan pelubang gabus berdiameter 5 mm, lalu sebanyak 20 µl senyawa uji diteteskan ke dalam sumuran tersebut sesuai dengan kadarnya masing-masing. Sedangkan petri yang lain dibuat 2 buah sumuran, lalu sebanyak 20 µl larutan tolnaftat (kontrol +) dan aseton (kontrol -) diteteskan pada masing-masing sumuran. Cawan petri diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil dibaca sebagai zona radikal apabila daerah sekitar sumuran tidak ditemukan adanya pertumbuhan fungi dan zona irradikal apabila pertumbuhan fungi dihambat tetapi tidak dimatikan. Hambatan yang terjadi diukur diameternya.

7. Penentuan konsentrasi hambat minimal (KHM)

Sebanyak 100 μ l masing-masing suspensi fungi dimasukkan ke dalam 10 buah tabung reaksi yang telah berisi 15 ml media SDL, lalu ditambahkan larutan obat dengan konsentrasi yang telah ditetapkan untuk masing-masing tabung. Tabung-tabung reaksi tersebut diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Hasil diperoleh dengan adanya kekeruhan dan kadar hambat minimalnya ditentukan dengan pengamatan tabung reaksi dengan konsentrasi terendah di mana pertumbuhan jamurnya terhambat, sedang untuk kontrol digunakan media *Sabouraud Dextrose Liquid*.

8. Penentuan konsentrasi bunuh minimal (KBM)

Kadar terkecil yang mampu menghambat pertumbuhan fungi (KHM) digoreskan pada media SDA lalu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37 °C untuk menentukan apakah konsentrasi tersebut merupakan kadar bunuh minimal (KBM) atau hanya kadar hambat minimal (KHM). Ada tidaknya pertumbuhan diamati pada hasil gores media SDA. Jika tidak ada pertumbuhan fungi maka pada konsentrasi tersebut merupakan KBM, tetapi jika masih ada fungi yang tumbuh berarti hanya dapat menghambat pertumbuhan fungi (KHM).

C. Analisis Hasil

Analisis dilakukan dengan cara melihat adanya zona hambatan berupa zona radikal terhadap pertumbuhan fungi *Trichophyton mentagrophytes* yang disebabkan oleh klorpromazin basa dengan berbagai konsentrasi dan diukur diameter hambatan tersebut. Untuk penentuan konsentrasi hambat minimal dilakukan dengan melihat pada konsentrasi berapakah sudah menunjukkan adanya penghambatan pertumbuhan fungi dan dipilih konsentrasi yang terendah, sedangkan untuk menentukan konsentrasi bunuh minimal dengan cara larutan uji digoreskan atau ditanam kembali pada kadar yang menunjukkan kadar hambat minimal.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Pemilihan Media

Media adalah suatu substrat yang diperlukan untuk menumbuhkan dan mengembangbiakkan mikroba. Susunan bahan terdiri dari bahan alami (seperti wortel, kentang, daging, ataupun telur) atau media buatan (senyawa kimia organik maupun anorganik) sesuai dengan yang diperlukan untuk pertumbuhan dan pengembangbiakan mikroba. Kesamaan isi media adalah adanya kandungan air, karbon, nitrogen sebagai sumber energi, dan bahan pertumbuhan (vitamin dan asam amino). Menurut konsistensinya, media dibedakan menjadi media padat, media cair, media semipadat/semicair.

Pada penelitian ini digunakan media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan SDL (*Sabouraud Dextrose Liquid*) sebagai media pertumbuhan fungi *Trichophyton mentagrophytes*. Media ini mengandung 4% dextrose sehingga cukup selektif untuk pertumbuhan fungi. Kadar gula yang cukup tinggi ini dapat menghambat cairan sel bakteri karena tekanan osmotik yang tinggi, sehingga menyebabkan lisisnya sel bakteri. Sementara itu, fungi mampu bertahan hidup pada kadar gula yang tinggi ini.

Di samping memiliki kadar gula yang cukup tinggi, media SDA dan SDL memiliki pH akhir $5,6 \pm 0,2$. Pada pH ini kebanyakan bakteri tidak mampu mempertahankan hidupnya, sedangkan fungi mampu bertahan hidup dan berkembang biak dengan baik dalam suasana yang cukup asam ini. Dengan demikian, pemilihan media SDA dan SDL dimaksudkan untuk meminimalisir terjadinya kontaminasi oleh bakteri.

B. Analisis Struktur Klorpromazin dan Tolnaftat

Identifikasi klorpromazin, baik klorpromazin HCl (bentuk garam) maupun klorpromazin basa dilakukan dengan pengujian titik lebur menggunakan alat uji titik lebur tipe kapiler dan pengujian larutan klorpromazin HCL dengan

menggunakan indikator pH. Menurut Moffat dalam *Clarke's Isolation and Identification of Drugs* range titik lebur klorpromazin HCl adalah 195-198 °C dan range pH adalah 4-5,5. Sedangkan range titik lebur klorpromazin basa lebih rendah, yaitu 56-60 °C. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa titik lebur klorpromazin HCl adalah 198 °C dengan pH larutan klorpromazin HCl dalam air adalah 4,5 yang berarti bahwa massa tersebut merupakan klorpromazin HCl murni.

CPZ HCl yang diperoleh dilarutkan dengan air dan eter, kemudian dipisahkan dalam corong pisah dengan cara digoyangkan perlahan hingga terbentuk dua fase air dan eter. Klorpromazin basa akan berada pada fase eter karena CPZ basa mudah larut dalam eter dan praktis tidak larut dalam air. Sementara itu, HCl yang merupakan asam kuat akan mengalami ionisasi sempurna dalam air, sehingga senyawa asam ini akan berada pada fase air. Fase eter akan berada di bagian atas, dan fase air berada di bawahnya, karena eter mempunyai berat jenis yang lebih rendah dibandingkan dengan air. Kemudian fase eter diuapkan dalam lemari asam sampai diperoleh suatu massa seperti lilin. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa massa tersebut adalah klorpromazin basa yang ditunjukkan dengan perolehan titik lebur sebesar 59 °C.

Identifikasi tolnaftat juga dilakukan dengan pengujian titik lebur dengan alat uji titik lebur tipe kapiler. Menurut Moffat dalam *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, diketahui bahwa range titik lebur tolinaftat adalah 109-113 °C. Dari hasil isolasi dan identifikasi tolinaftat diperoleh titik lebur sebesar 112 °C, yang berarti bahwa massa tersebut adalah tolinaftat.

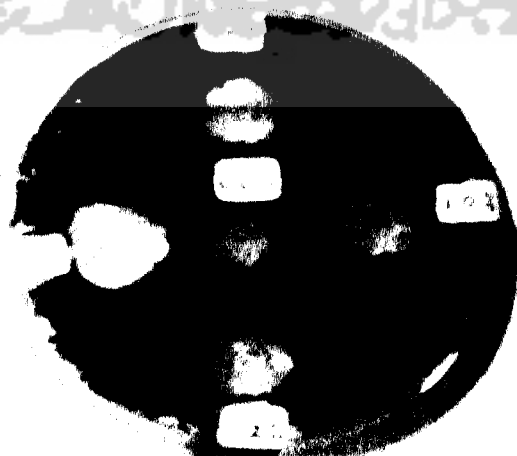
Tolnaftat adalah suatu senyawa yang mempunyai aktivitas antifungi dengan menghambat biosintesis dinding sel fungi. Dinding sel fungi tersusun atas kitin. Tolinaftat menghambat biosintesis dinding sel fungi melalui penghambatan enzim khitin sintetase yang mengubah uridin difosfat N-asetilglukosamin (UDP-GlcNAc) menjadi molekul kitin, sehingga pembentukan dinding sel menjadi tidak sempurna, tidak kaku, dan tidak rigid lagi. Keadaan ini menyebabkan cairan intraseluler mudah keluar sel dan sel akan lisis. Tolinaftat telah diaplikasikan dalam bentuk sediaan farmasi berupa krim. Tolinaftat memiliki gugus metilkarbamat, di mana gugus ini juga ditemukan pada struktur klorpromazin.

Selain itu, adanya atom sulfur (S) pada kedua struktur obat juga telah diketahui dapat bersifat sebagai antifungi. Dengan demikian, dapat disimpulkan adanya aktivitas klorpromazin dalam menghambat fungi dapat terdeteksi dari kesamaan struktur utama dengan suatu antifungi (tolnaftat), maka klorpromazin HCl dapat menghambat pertumbuhan fungi dengan mekanisme yang sama dengan tolnaftat.

C. Uji Aktivitas Antifungi dengan Metode Difusi

Pemeriksaan uji aktivitas klorpromazin basa sebagai antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes* dilakukan dengan metode difusi cara sumuran. Metode ini merupakan metode yang digunakan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui adanya aktivitas antifungi yang ditunjukkan dengan terbentuknya diameter zona hambatan pada setiap sumuran. Zona hambatan ada 2 macam, yaitu zona radikal dan zona irradikal. Zona radikal merupakan suatu daerah di sekitar sumuran di mana sama sekali tidak ditemukan adanya pertumbuhan fungi. Sedangkan zona irradikal merupakan suatu daerah di sekitar sumuran yang menunjukkan adanya pertumbuhan fungi yang dihambat oleh obat, tetapi tidak dimatikan dan masih terlihat adanya pertumbuhan fungi yang kurang subur.

Pada media SDA dibuat sumuran dengan pelubang gabus berdiameter 5 mm. Pada sumuran tersebut ditetesi sampel (larutan klorpromazin basa) sebanyak 20 μ l dengan konsentrasi 0.6%, 0.8%, 1.0%, 1.2%, dan 1.4%.



Gambar 3. Uji aktivitas klorpromazin basa metode sumuran

Untuk pembandingan, digunakan aseton sebagai kontrol negatif dan larutan tolinaftat 1.0% sebagai kontrol positif. Kontrol positif digunakan untuk melihat apakah benar jamur *T. mentagrophytes* dapat dihambat oleh senyawa yang mempunyai struktur mirip dengan senyawa uji. Sedangkan kontrol negatif digunakan untuk memastikan bahwa hambatan yang ada merupakan hambatan dari senyawa uji.



Gambar 4. Uji aktivitas antifungi tolinaftat (kontrol positif) dan aseton (kontrol negatif)

Hasil uji aktivitas antifungi klorpromazin basa ditunjukkan pada tabel berikut :

Tabel 1. Diameter hambatan larutan klorpromazin basa

Kadar (%)	Diameter zona hambatan (mm)			X ± SD
	R1	R2	R3	
K (+)	17	17	18	17.33 ± 0.58
K (-)	-	-	-	-
0.6	14	15	15	14.67 ± 0.58
0.8	16	15	16	15.67 ± 0.58
1.0	17	17	17	17.00 ± 0.00
1.2	18	18	19	18.33 ± 0.58
1.4	20	21	20	20.33 ± 0.58

Keterangan : Diameter hambatan termasuk diameter sumuran sebesar 5 mm
 Kontrol (+) : Tolinaftat 1.0%
 Kontrol (-) : Aseton

Dari uji yang dilakukan, terlihat adanya zona hambatan. Ini menunjukkan bahwa klorpromazin basa memiliki aktivitas sebagai antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes*. Diameter hambatan terlihat pada setiap kadar yang diujikan, mulai dari 0,6% sampai 1,4%. Dari grafik terlihat bahwa hubungan antara kadar dan diameter hambatan adalah proporsional. Semakin besar kadar klorpromazin basa semakin besar diameter hambat yang dihasilkan, yang berarti semakin besar pula aktivitas sebagai antifunginya. Pada pelarut aseton yang bertindak sebagai kontrol negatif tidak terlihat adanya zona hambatan, yang berarti bahwa aseton tidak mempunyai aktivitas sebagai antifungi. Sedangkan pada larutan tolnaftat yang bertindak sebagai kontrol positif, terlihat adanya zona hambatan dengan diameter rata-rata sebesar 17,33 mm. Sementara itu, pada kadar yang sama, klorpromazin basa 1% menghasilkan zona hambatan sedikit lebih kecil dari tolnaftat, yaitu sebesar 17,00 mm. Hal ini berarti pada kadar yang sama, tolnaftat mempunyai aktivitas sebagai antifungi yang lebih besar dibandingkan dengan klorpromazin basa.

Untuk mengetahui apakah klorpromazin basa menunjukkan diameter hambat yang berbeda bermakna atau tidak antara kelompok kontrol dan kelompok kadar, maka dilakukan uji statistik. Data yang ada diolah dengan *NPar Tests One Sample Kolmogorov-Smirnov* untuk mengetahui distribusi suatu data.

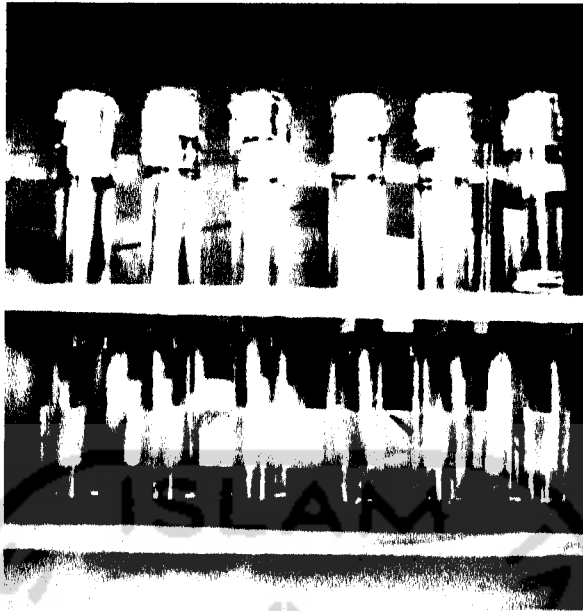
Berdasarkan hasil uji statistik terhadap jamur *Trichophyton mentagrophytes*, menunjukkan bahwa datanya terdistribusi normal dilihat dari nilai probabilitas ($0.917 > 0.05$) pada hasil uji *Kolmogorov-Smirnov*. Kemudian dilakukan uji homogenitas yang diperoleh nilai signifikansi ($0.005 < 0.05$) pada tes *Homogeneity of Variances*, yang berarti data tidak homogen. Kemudian dilanjutkan dengan uji Welch dan didapat tidak adanya nilai probabilitas, sehingga dilakukan uji Kruskal-Wallis. Uji Kruskal-Wallis ini dimaksudkan untuk mengetahui ada tidaknya perbedaan antara masing-masing kadar dan kelompok kontrol. Nilai signifikansi yang diperoleh adalah < 0.05 yang berarti adanya perbedaan. Untuk mengetahui apakah perbedaan tersebut signifikan atau tidak, maka dilakukan uji Mann-Whitney. Untuk perbandingan antara kontrol positif dengan larutan CPZ basa 1%, kontrol positif dengan larutan CPZ basa 1,2%, dan antara larutan CPZ basa 0,6% dengan 0,8% diperoleh nilai signifikansi > 0.05 ,

antara larutan CPZ basa 0,6% dengan 0,8% diperoleh nilai signifikansi >0.05 , yang berarti bahwa terdapat perbedaan tetapi tidak signifikan. Sedangkan untuk perbandingan yang lainnya, diperoleh nilai signifikansi <0.05 , yang berarti bahwa terdapat perbedaan yang signifikan.

D. Penentuan KHM dan KBM

Untuk menentukan KHM (Kadar Hambat Minimal) dan KBM (Kadar Bunuh Minimal), maka dilakukan uji aktivitas antifungi dengan metode dilusi cair. Dasar metode ini adalah pengenceran seri kadar larutan uji dalam hal ini adalah klorpromazin basa yang kemudian ditambah suspensi fungi *T. mentagrophytes* dan diinkubasi. Dengan menggunakan metode ini, ada beberapa keuntungan di antaranya adalah dapat menjamin homogenitas yang lebih besar antara media, larutan uji, dan suspensi fungi dibandingkan dengan metode difusi. Dengan dilusi, bahan uji akan lebih mudah berinteraksi dengan fungi sehingga metode ini lebih peka. Keuntungan lainnya bahan uji yang digunakan lebih sedikit sehingga menghemat media dan bahan uji.

Pada metode dilusi cair ini, konsentrasi larutan uji yang digunakan sama dengan yang digunakan pada cara sumuran, yaitu 0.6%, 0.8%, 1.0%, 1.2%, dan 1.4%. Sedangkan untuk kontrolnya digunakan media SDL (*Sabouraud Dextrose Liquid*), dimaksudkan untuk mengetahui sterilitas dari media. Penentuan nilai KHM didasarkan pada kadar terendah dari larutan uji yang mampu menghambat pertumbuhan jamur (ditandai dengan kejernihan tabung). Dari hasil uji, menunjukkan bahwa warna larutan yang jernih terlihat pada kadar 0.8 %, 1.0%, 1.2%, dan 1.4%. Hal ini menunjukkan bahwa terjadi penghambatan pertumbuhan fungi mulai kadar 0.8%. Sementara itu, pada tabung reaksi dengan konsentrasi larutan uji 0.6%, larutannya berwarna keruh yang menunjukkan masih adanya pertumbuhan fungi. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kadar hambat minimalnya adalah 0.8%.



Gambar 6. Uji penentuan KHM dengan metode dilusi cair (dari kiri, yaitu kontrol, 0.6%, 0.8%, 1.0%, 1.2%, dan 1.4%)

Untuk menentukan kadar bunuh minimalnya, dilakukan dengan menggosokkan larutan uji dari hasil penentuan KHM (kadar CPZ 0.8%, 1.0%, 1.2%, dan 1.4%) dengan menggunakan ose pada media SDA. Penentuan nilai KBM didasarkan pada kadar terendah dari larutan uji yang mampu membunuh jamur ditandai dengan tidak adanya pertumbuhan jamur pada media padat.



Gambar 7. Uji penentuan KBM pada kadar 0.8% & 1.4%

Dari hasil uji penentuan KBM, untuk semua kadar CPZ masih terlihat adanya pertumbuhan fungi pada bekas goresan. Semakin besar kadar CPZ yang

digoreskan pada media, pertumbuhan jamur pada bekas goresan semakin tipis, yang berarti daya hambat CPZ basa semakin besar pula. Dengan demikian, larutan klorpromazin basa 0.8% bersifat sebagai fungistatik (menghambat pertumbuhan fungi) dan tidak bersifat fungisidal (membunuh fungi). Sementara itu, pada kadar CPZ basa yang lebih besar, yaitu sampai pada kadar 1.4% juga masih belum bersifat fungisidal. Dengan demikian, nilai KBMnya masih belum ditemukan.



BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan, dapat ditarik beberapa kesimpulan sebagai berikut:

1. Klorpromazin basa terbukti mempunyai aktivitas antifungi terhadap *Trichophyton mentagrophytes*.
2. Aktivitas antifungi dari klorpromazin basa terhadap *Trichophyton mentagrophytes* memiliki nilai KHM 0.8% dan pada kadar 1.4% belum bersifat fungisidal.

B. Saran

1. Diperlukan uji aktivitas antifungi CPZ basa pada kadar yang lebih besar.
2. Diperlukan adanya uji aktivitas antifungi dari CPZ basa terhadap fungi patogen lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1979, *Farmakope Indonesia*, Edisi ke-3, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, 156
- Anonim, 1993, *Mikrobiologi Dasar*, Edisi Revisi, Binarupa Aksara, Jakarta, 39-44
- Anonim, 2006a, Trichophyton, *available at*
<http://en.wikipedia.org/wiki/Trichophyton> (diakses 2 Desember 2006)
- Anonim, 2006b, Tolnaftate, *available at*
<http://en.wikipedia.org/wiki/Tolnaftate> (diakses 12 Desember 2006)
- Anonim, 2006c, Chlorpromazin, *available at*
<http://en.wikipedia.org/wiki/Chlorpromazine> (diakses 2 Desember 2006)
- Budavari, S., 1996, *The Merck Index An Encyclopedia of Chemicals, Drugs, and Biological*, Twelfth edition, Merck Research Laboratories Division of Merck & Co. Inc. White house Station, New Jersey, 2241
- DiPiro, J.T., 2002, *Pharmacotherapy A Pathophysiologic Approach*, Sixth edition, McGRAW-HILL Medical Publishing Division, New York, 2162
- Djuanda, A., 2002, *Ilmu Penyakit Kulit dan Kelamin*, Edisi ke-3, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 90
- Foster & Smith, 2007, *Germs: Viruses, Bacteria, and Fungi*, *available at*
<http://PetEducation.com> (diakses 21 Desember 2007)
- Ganiswara, S.G., 1995, *Farmakologi dan Terapi*, Edisi ke-4, Bagian Farmakologi, Fakultas Kedokteran UI, Jakarta, 149, 150, 152, 560, 567-568
- Griffin, D.H., 1981, *Fungal Physiology*, John Willey and Son. Inc., New York, 303, 317-319
- Hayes, P.C., & Mackay, T.W., 1997, *Diagnosis dan Terapi*, diterjemahkan oleh dr. Devy Ronardy dkk., EGC, Jakarta, 447
- Jawetz, Melnick, & Adelberg, 1996, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh dr. Irawati Setiawan, dr. Edi Nugroho, dr. RF Maulany, EGC, Jakarta, 608-613
- Jawetz, Melnick, & Adelberg, 2005, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh dr. Nani Widorini, Salemba Medika, Jakarta, 313-324

- Katzung, B.G., 1997, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi ke-6, diterjemahkan oleh Staf Dosen Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya, EGC, Jakarta, 753, 974
- Klein, P.H., 2005, *Microbiology*, Sixth edition, McGraw - Hill, New York, 541, 546
- Marsh, R.W., 1977, *Sistemic Fungicides*, Second edition, Longman, London, 131-133
- McEvoy, G.K., 2005, *Drug Information*, Authority of the Board of the American Society of Health - System Pharmacists, USA, 2336
- Moffat, A.C., 1986, *Clarke's Isolation and Identification of Drugs*, The Pharmaceutical Press, London, 460
- Neal, M.J., 2005, *At a Glance Farmakologi Medis*, Edisi ke-5, diterjemahkan oleh dr. Juwalita Surapsari, Erlangga, Jakarta, 86-87
- Siswandono & Soekardjo, B., 2000, *Kimia Medisinal 2*, Airlangga University Press, Surabaya, 63-64
- Tjay, T.H. & Rahardja, K., 2002, *Obat-obat Penting*, Edisi ke-5, PT Elex Media Komputindo Kelompok Gramedia, Jakarta, 91

LAMPIRAN



Lampiran 1

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Zona	Kadar
N		21	21
Normal Parameters a,b	Mean	14.7619	4.0000
	Std. Deviation	6.42577	2.04939
Most Extreme Differences	Absolute	.324	.121
	Positive	.166	.121
	Negative	-.324	-.121
Kolmogorov-Smirnov Z		1.486	.555
Asymp. Sig. (2-tailed)		.024	.917

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

Oneway

Descriptives

Zona

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
Kontrol (+)	3	17.3333	.57735	.33333	15.8991	18.7676	17.00	18.00
Kontrol (-)	3	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
0.6%	3	14.6667	.57735	.33333	13.2324	16.1009	14.00	15.00
0.8%	3	15.6667	.57735	.33333	14.2324	17.1009	15.00	16.00
1.0%	3	17.0000	.00000	.00000	17.0000	17.0000	17.00	17.00
1.2%	3	18.3333	.57735	.33333	16.8991	19.7676	18.00	19.00
1.4%	3	20.3333	.57735	.33333	18.8991	21.7676	20.00	21.00
Total	21	14.7619	6.42577	1.40222	11.8369	17.6869	.00	21.00

Test of Homogeneity of Variances

Zona

Levene Statistic	df1	df2	Sig.
5.333	6	14	.005

Lampiran 2 (lanjutan)

ANOVA

Zona					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	822.476	6	137.079	575.733	.000
Within Groups	3.333	14	.238		
Total	825.810	20			

Robust Tests of Equality of Means^b

Zona				
	Statistic ^a	df1	df2	Sig.
Welch	.			

a. Asymptotically F distributed.

b. Robust tests of equality of means cannot be performed for Zona because at least one group has 0 variance.

NPar Tests

Kruskal-Wallis Test

Ranks

		Kadar	N	Mean Rank
Zona	Kontrol (+)		3	13.33
	Kontrol (-)		3	2.00
	0.6%		3	5.33
	0.8%		3	7.67
	1.0%		3	12.00
	1.2%		3	16.67
	1.4%		3	20.00
	Total		21	

Test Statistics^{a,b}

		Zona
Chi-Square		19.425
df		6
Asymp. Sig.		.004

a. Kruskal Wallis Test

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 3 (lanjutan)

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (+)	3	5.00	15.00
	Kontrol (-)	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (+)	3	5.00	15.00
	0.6%	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 4 (lanjutan)

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (+)	3	5.00	15.00
	0.8%	3	2.00	6.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (+)	3	4.00	12.00
	1.0%	3	3.00	9.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	3.000
Wilcoxon W	9.000
Z	-1.000
Asymp. Sig. (2-tailed)	.317
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.700 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 5 (lanjutan)

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

Kadar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (+)	3	2.33	7.00
	1.2%	3	4.67	14.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.650
Asymp. Sig. (2-tailed)	.099
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

Kadar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (+)	3	2.00	6.00
	1.4%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 6 (lanjutan)

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

Kadar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (-)	3	2.00	6.00
	0.6%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar



NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

Kadar		N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (-)	3	2.00	6.00
	0.8%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 7 (lanjutan)

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (-)	3	2.00	6.00
	1.0%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.236
Asymp. Sig. (2-tailed)	.025
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

NPar Tests Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (-)	3	2.00	6.00
	1.2%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 8 (lanjutan)

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	Kontrol (-)	3	2.00	6.00
	1.4%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.6%	3	2.33	7.00
	0.8%	3	4.67	14.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	1.000
Wilcoxon W	7.000
Z	-1.650
Asymp. Sig. (2-tailed)	.099
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.200 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 9 (lanjutan)

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.6%	3	2.00	6.00
	1.0%	3	5.00	15.00
Total		6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.6%	3	2.00	6.00
	1.2%	3	5.00	15.00
Total		6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 10 (lanjutan)

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.6%	3	2.00	6.00
	1.4%	3	5.00	15.00
Total		6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.8%	3	2.00	6.00
	1.0%	3	5.00	15.00
Total		6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 11 (lanjutan)

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.8%	3	2.00	6.00
	1.2%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	0.8%	3	2.00	6.00
	1.4%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 12 (lanjutan)

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	1.0%	3	2.00	6.00
	1.2%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

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

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	1.0%	3	2.00	6.00
	1.4%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.121
Asymp. Sig. (2-tailed)	.034
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar

Lampiran 13 (lanjutan)

NPar Tests
Mann-Whitney Test

Ranks

	Kadar	N	Mean Rank	Sum of Ranks
Zona	1.2%	3	2.00	6.00
	1.4%	3	5.00	15.00
	Total	6		

Test Statistics^b

	Zona
Mann-Whitney U	.000
Wilcoxon W	6.000
Z	-2.023
Asymp. Sig. (2-tailed)	.043
Exact Sig. [2*(1-tailed Sig.)]	.100 ^a

a. Not corrected for ties.

b. Grouping Variable: Kadar