

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*)
TERHADAP BIOFILM *Candida albicans* ATCC 10231**

Karya Tulis Ilmiah

Untuk Memenuhi Sebagian Syarat
Memperoleh Derajat Sarjana Kedokteran

**Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**



oleh:

**Muhammad Fariz Cahya Pratama
16711085**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

**IN VIRTO EFFECT OF LEMONGRASS (*Cymbopogon citratus*) EXTRACT
ON *Candida albicans* ATCC 10231 BIOFILM**

Scientific Writing

as A Requirement for the Degree of Undergraduate Program in Medicine

Undergraduate Program in Medicine



by:

**Muhammad Fariz Cahya Pratama
16711085**

**FACULTY OF MEDICINE
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
YOGYAKARTA
2020**

HALAMAN PENGESAHAN

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP
BIOFILM *Candida albicans* ATCC 10231**

Karya Tulis Ilmiah

Disusun dan diajukan oleh:

**Muhammad Fariz Cahya Pratama
16711085**

**Telah diseminarkan tanggal: 23 Oktober 2020
Dan telah disetujui oleh:**

Penguji


**dr. Novyan Lusiyana, M.Sc
NIK 107110411**

Pembimbing Utama


**dr. Irena Agustiningtyas, M.Sc
NIK 097110404**

**Ketua Program Studi Kedokteran
Program Sarjana**


**dr. Umatul Khoiriyah, M.Med.Ed, P.hd
NIK 047110101**

**Disahkan
Dekan**




**dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK
NIK 017110102**

PERNYATAAN PUBLIKASI

Bismillahirrahmaanirrahiim

Yang bertanda tangan di bawah ini, saya

Nama : Muhammad Fariz Cahya Pratama
NIM : 16711085
Judul KTI : Uji Efektivitas Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*)
Terhadap Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231
Dosen Pembimbing : dr. Irena Agustiningtyas, M.Sc

Dengan ini menyatakan bahwa :

Memberi Ijin kepada Perpustakaan FK UII mempublikasikan di repository UII, berupa :

- ~~Laporan KTI (full text)~~
 - Abstrak saja
- (coret yang tidak diperlukan)

Demikian pernyataan ini dibuat dengan sesungguhnya dan dapat dipergunakan sebagaimana mestinya.

Yogyakarta, 30 Oktober 2020

Dosen Pembimbing



dr. Irena Agustiningtyas, M.Sc
NIK 097110404

Yang Menyatakan



Muhammad Fariz Cahya Pratama
NIM 16711085

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL (Bahasa Indonesia)	i
HALAMAN JUDUL (Bahasa Inggris)	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN PERNYATAAN PUBLIKASI.....	iv
DAFTAR ISI.....	v
DAFTAR TABEL.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix
HALAMAN PERNYATAAN	x
KATA PENGANTAR.....	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1. Latar Belakang Masalah	1
1.2. Rumusan Masalah.....	3
1.3. Tujuan Penelitian.....	3
1.4. Keaslian Penelitian	3
1.5. Manfaat Penelitian	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1. Telaah Pustaka.....	5
2.1.1. <i>Candida Albicans</i>	5
2.1.2. Biofilm <i>Candida Albicans</i>	6
2.1.3. Serai	7
2.2. Kerangka Teori.....	10
2.3. Kerangka Konsep Penelitian.....	10
2.4. Hipotesis.....	10
BAB III. METODE PENELITIAN.....	11
3.1. Jenis dan Desain Penelitian.....	11
3.2. Tempat dan Waktu Penelitian.....	11
3.3. Subyek Penelitian.....	11
3.4. Identifikasi Variabel	11
3.4.1. Variabel Bebas.....	11
3.4.2. Variabel Terikat.....	11
3.5. Definisi Operasional	11
3.6. Instrumen Penelitian.....	12
3.7. Tahapan Penelitian.....	12
3.7.1. Persiapan Daun Serai Dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	12
3.7.2. Pembuatan Ekstrak Daun Serai Dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	13
3.7.3. Sterilisasi Alat	14
3.7.4. Purifikasi dan Karakterisasi Jamur	14

3.7.5. Pembuatan Suspensi Jamur <i>Candida albicans</i> untuk Uji Antijamur...	14
3.7.6. Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM).....	15
3.7.7. Pembuatan Suspensi <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 untuk Uji Biofilm dan Uji Antibiofilm	16
3.7.8. Uji Deteksi Produksi Biofilm <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	17
3.7.9. Uji Kemampuan Antibiofilm	18
3.8 Metode Analisis Data.....	20
3.9 Etika Penelitian.....	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	22
4.1. Hasil	22
4.1.1. Gambaran Penelitian	22
4.1.2. Hasil Determinasi <i>Cymbopogon citratus</i>	22
4.1.3. Hasil Ekstraksi Daun <i>Cymbopogon citratus</i>	22
4.1.4. Hasil Uji Metabolit Sekunder	22
4.1.5. Karakterisasi dan Purifikasi Jamur Uji	22
4.1.6. Hasil Penentuan KHM dan KBM pada Uji Antijamur.....	23
4.1.7. Hasil Pembentukan Biofilm <i>Candida albicans</i>	24
4.1.8. Hasil Penentuan Konsentrasi Ekstrak Sebagai Antibiofilm	25
4.2 Pembahasan	27
4.2.1. Purifikasi dan Karakterisasi Jamur Uji	27
4.2.2. Pembahasan Pentuan KHM dan KBM	27
4.2.3. Pembentukan Biofilm	29
4.2.4. Uji Antibiofilm	29
BAB V. SIMPULAN DAN SARAN	32
5.1 Simpulan	32
5.2 Saran.....	32
DAFTAR PUSTAKA	33
NASKAH PUBLIKASI	38
Lampiran	49

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Keaslian Penelitian.....	3
Tabel 2. Hasil Ekstrak serai	9
Tabel 3 Interpretasi Kekuatan Biofilm <i>Candida albicans</i>	17
Tabel 4. Nilai Absorbansi/OD Pembentukan Biofilm.....	24
Tabel 5. Rata - rata Absorbansi/OD Uji Antibiofilm.....	26
Tabel 6. Hasil <i>Post-hoc Bonferroni</i> Uji Antibiofilm.	26



DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Morfologi <i>Candida albicans</i>	5
Gambar 2. Morfologi <i>Chlamydo spores</i>	6
Gambar 3. Proses Pembentukan Biofilm <i>Candida albicans</i>	7
Gambar 4. Tanaman Serai	8
Gambar 5. Kerangka teori.....	10
Gambar 6. Kerangka konsep	10
Gambar 7. Uji Antijamur.....	16
Gambar 8. Uji pembentukan biofilm	17
Gambar 9. Uji Antibiofilm	19
Gambar 10. Alur kerja penelitian.....	20
Gambar 11. Purifikasi dan Karakterisasi jamur <i>Candida albicans</i> pada Media SDA (1), Pemberian KOH (2), Pewarnaan Gram (3) dan Pewarnaan LPCB (4). 23	
Gambar 12. Hasil uji antijamur pada (A) mikroplate dan (B) pada media agar ... 23	
Gambar 13. Hasil Uji Pertumbuhan biofilm <i>Candida albicans</i> (1) dan Media Blank (2). 24	
Gambar 14. Diagram pembentukan biofilm <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 melalui metode <i>Microtiter Plate Biofilm Assay</i> (OD _{625nm})..... 24	
Gambar 15. Hasil uji antibiofilm <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 25	
Gambar 16. Diagram penghambatan aktivitas antibiofilm <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 melalui Metode <i>Microtiter Plate Biofilm Assay</i> (OD _{625nm})..... 25	

DAFTAR LAMPIRAN

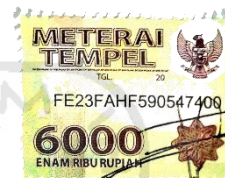
	Halaman
Lampiran I. Gambar alat dan bahan penelitian.....	49
Lampiran II. <i>Minimum information guideline for spectrofotometric and fluorometric methods to assess biofilm formation in microplates</i>	51
Lampiran III. <i>Ethical clearance</i>	52
Lampiran IV. Hasil determinasi tanaman serai dapur (<i>Cymbopogon Citratus</i>)....	53
Lampiran V. Pembuatan ekstrak daun serai dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	54
Lampiran VI. Hasil uji fitokomia ekstrak kloroform daun serai dapur (<i>Cymbopogon citratus</i>).....	57
Lampiran VII. Analisis statistik aktivitas penghambatan biofilm <i>Candida albicans</i> oleh ekstrak daun serai (<i>Cymbopogon citratus</i>)	60



HALAMAN PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam Karya Tulis Ilmiah dengan judul “**Uji efektivitas ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231**” 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 disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 30 Oktober 2020



Muhammad Fariz Cahya Pratama



KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirabbil'alamin. Segala puji dan syukur penulis sampaikan kepada Allah SWT atas segala nikmat dan karunianya sehingga Karya Tulis Ilmiah (KTI) yang berjudul **“Uji Efektivitas Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231”** telah selesai disusun. Kemudian, tak lupa shalawat serta salam senantiasa terucap kepada Nabi Muhammad SAW.

Karya Tulis Ilmiah ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Strata 1 (S1) pada program Studi Sarjana Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Dalam penyusunan karya tulis ilmiah, penulis menemukan banyak halangan dan rintangan. Tetapi, penulis bersyukur kepada Allah SWT diberikan kemudahan dengan banyak bimbingan, arahan, dukungan dan doa dari berbagai pihak. Oleh sebab itu, Penulis sangat berterima kasih kepada:

1. dr. Linda Rosita, M.Kes., Sp.PK., selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan dr. Umatul Khoiriyah, M. Med. Ed, P.hd selaku ketua Program Studi Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia.
2. dr. Irena Agustiningtyas, M.Sc., Selaku pembimbing karya tulis ilmiah yang telah membimbing penulis dengan ikhlas, sabar dan teliti dalam penyusunan Karya Tulis Ilmiah ini. Semoga Allah SWT melimpahkan rahmat dan hidayah kepada beliau dan keluarga.
3. dr. Novyan Lusiyana, M.Sc., Selaku penguji karya tulis ilmiah yang telah memberikan saran, arahan dan kritik sehingga karya tulis ilmiah ini menjadi lebih baik.
4. Kedua orang tua dan adik saya tercinta, yang senantiasa mendoakan, membimbing, memberikan dukungan moral dan finansial sehingga penulis dapat menyelesaikan karya tulis ilmiah ini dengan lancar.
5. Widyo utomo, Ilham amien, Muhammad Furqon Nursetya dan Vierta Aji Nur Yasin sebagai teman seperjuangan yang selalu membimbing, membantu, mengingatkan dan memberi semangat kepada saya selama berada di Fakultas Kedokteran. Kalian yang terbaik.

6. Fathi Zainurrahman, Kanesti Kamajaya, Sovi Wulandari, Indah Rizqiatul sebagai teman seperjuangan karya tulis ilmiah “antibiofilm” yang sudah membantu dan membimbing saya selama proses pengerjaan karya tulis ilmiah hingga dapat terselesaikan dengan baik.

Semoga segala bantuan yang telah diberikan oleh berbagai pihak Allah SWT berikan pahala berlipat ganda dan dimudahkan segala urusannya. Penulis memohon maaf bila karya tulis ilmiah ini memiliki banyak kekurangan. Semoga karya tulis ilmiah ini dapat bermanfaat untuk berbagai pihak dan dapat menambah wawasan bagi kita semua. Allahuma aamiin.

Wassalamu’alaikum Warohmatullahi Wabarakaatuh.

Yogyakarta, 30 Oktober 2020



Penyusun

UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK SERAI (*Cymbopogon citratus*) TERHADAP BIOFILM *Candida albicans* ATCC 10231

Muhammad Fariz Cahya Pratama¹, Irena Agustiningtyas²

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

²Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia

INTISARI

Latar Belakang: *Candida albicans* merupakan jamur oportunistik yang dapat menyebabkan infeksi pada berbagai organ dan alat prostetik. Virulensi utama dari *Candidiasis* adalah kemampuan jamur *Candida albicans* dalam membentuk biofilm. *Cymbopogon citratus* merupakan tanaman yang banyak digunakan sebagai terapi di berbagai negara. Tujuan penelitian ini adalah mengevaluasi aktivitas antibiofilm daun serai dapur (*Cymbopogon citratus*) sebagai agen antibiofilm alternatif yang menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*.

Metode Penelitian: Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental secara *in vitro* dengan pendekatan *post-test only control group design*. Daun serai dapur (*Cymbopogon citratus*) dimaserasi dengan pelarut kloroform. Ekstrak dibagi menjadi konsentrasi 12,5%, 6,12%, 3,125%, 1,5625%. Uji antibiofilm menggunakan *Microtiter plate assay* dengan pengujian triplo pada *Microplate 96 wells Flat Bottomed*. Hasil uji diamati dengan menghitung absorbansi/densitas optik menggunakan *Microplate Reader* ($\lambda = 625$ nm). Hasil *optical density* Analisis Statistik menggunakan *One-Way ANOVA* dan dilanjutkan uji *Post-hoc Bonferroni* untuk mengetahui perbedaan bermakna pada variabel uji.

Hasil: Hasil Uji antibiofilm menunjukkan konsentrasi 12,5% dapat menghambat pertumbuhan biofilm minimal *Candida albicans* sebesar 54,2%.

Kesimpulan: Ekstrak kloroform daun serai dapur (*Cymbopogon citratus*) efektif menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans* setara dengan kontrol positif dengan MBIC₅₀ pada konsentrasi 12,5%.

Kata Kunci: Ekstrak daun serai Dapur (*Cymbopogon citratus*), biofilm *Candida albicans*, metode *microtiter plate biofilm assay*, penghambatan biofilm.

IN VIRTO EFFECT OF LEMONGRASS EXTRACT ON *Candida albicans* ATCC 10231 BIOFILM

Muhammad Fariz Cahya Pratama¹, Irena Agustiningtyas²

¹Student of Faculty Medicine Islamic University of Indonesia

²Head Departement of Microbiology Departemen Faculty Medicine Islamic
University of Indonesia

ABSTRACT

Background: *Candida albicans* is an opportunistic fungus that can cause infection in various organs and prosthetic. The main virulence of Candidiasis is the ability of *Candida albicans* to form biofilms. *Cymbopogon citratus* is a plant that is widely used as a therapy in various countries. The purpose of this study was to evaluate the antibiofilm activity of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus*) as an alternative agent that can inhibits *Candida albicans* biofilm.

Method: The research was conducted in vitro experimental study with a post-test only control group design. Lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus*) was macerated with chloroform as a solvent. The extract was divided into a concentration of 12.5%, 6.12%, 3.125%, 1.5625%. The Antibiofilm test was used Microtiter plate assay with triple testing on Microplate 96 wells Flat Bottomed. The test results were observed by calculating the absorbance / optical density by a Microplate Reader ($\lambda = 625 \text{ nm}$). Result of optical density was calculated using Statistical analysis using One-Way ANNOVA and followed by the Bonferroni Post-hoc test to find significant differences between variables.

Result: Antibiofilm test results showed a concentration of 12.5% could inhibit the growth of biofilms of *Candida albicans* at 54.2% of inhibition.

Conclusion: The chloroform extract of lemongrass leaves (*Cymbopogon citratus*) effectively inhibited the growth of *Candida albicans* biofilms equivalent to a positive control with $MBIC_{50}$ at a concentration of 12.5%.

Keywords: Lemongrass leaf extract (*Cymbopogon citratus*), biofilm *Candida albicans*, method microtiter plate biofilm assay, biofilm inhibition.

BAB I. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang Masalah

Infeksi masih menempati urutan teratas penyebab penyakit dan kematian di negara berkembang, termasuk Indonesia. Infeksi dapat disebabkan oleh bakteri, virus, hingga jamur, dan penyebarannya dapat berada di rumah sakit maupun di masyarakat (Wahjono, 2007). *Candidiasis* merupakan penyakit yang disebabkan oleh spesies jamur dari genus *Candida sp.* Terdapat banyak spesies dari genus *Candida*, namun umumnya spesies penyebab *Candidiasis* adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan organisme yang umum terdapat di kavitas orofaringeal, gastrointestinal, dan vagina manusia, tetapi dapat menjadi organisme oportunistik pada keadaan terganggunya flora normal, rusaknya barrier mukosa atau defek mekanisme imunitas (Pappas *et al.*, 2015). Manifestasi *Candidiasis* beraneka ragam dari infeksi mukosa lokal hingga penyebaran yang menyebabkan kegagalan organ. Manifestasi paling ringan ditandai dengan pertumbuhan membran mukosa berlebih yang diperantarai ketidakseimbangan flora dan manifestasi yang berat dapat terjadi kandidemia, pielonefritis, endokarditis, dan meningitis (Moran *et al.*, 2009). Penelitian di Rumah Sakit *Duke University of Medical Center* dari Februari tahun 1996 hingga Juli 2007 menunjukkan mortalitas kandidemia oleh *Candida albicans* pada bayi 38,5%, anak 18,2%, dan dewasa 41,5% (Magill *et al.*, 2018).

Penelitian Tsay *et al.*, (2018) menunjukkan kandidemia merupakan salah satu penyakit infeksi sistemik paling umum di Amerika Serikat. Pada tahun 2013 hingga 2017, perkiraan insidensi mencapai 9 dari 100.000 orang dengan perkiraan terdapat 25.000 kasus baru kandidemia terjadi setiap tahunnya berdasarkan data statistik (Berberi, A., Noujeim, Z. dan Aoun, G., 2015). Prevalensi terbesar kandidemia diperkirakan terjadi di Pakistan (38.795 kasus, 21 kasus per 100.000), Brazil (28.991 kasus, 14,9 kasus per 100.000) dan Russia (11.840 kasus, 8,29 kasus per 100.000) (Bongomin *et al.*, 2017). Tiga puluh lima dari lima puluh pasien HIV – AIDS mengidap *Candidiasis* dengan lima macam bentuk klinis yaitu pseudomembran kandidiasis (52,6%), eritematosa (13,15%), *angular cheilitis* (13,15%), kombinasi *angular cheilitis* dan eritematosa (10,52%) dan kombinasi ketiga bentuk klinis (10,52%) (Nobile dan Johnson, 2015).

Biofilm yang dibentuk oleh *Candida albicans* merupakan faktor virulensi utama infeksi *candidiasis* (Gulati dan Nobile, 2017). Biofilm dapat tumbuh di alat implan medis seperti kateter intra vaskular, kateter dialisa, kateter urin, *pacemaker*, katup prostetik, *implantable cardioverter defibrillators* dan sendi prostetik. Biofilm *Candida* memiliki resistensi tinggi terhadap obat antijamur. Pemberian obat antijamur dosis tinggi dan mencabut implan prostetik diperlukan untuk mengobati infeksi. Prosedur pencabutan implan prostetik membutuhkan biaya besar, berbahaya dan pemberian antijamur dosis tinggi dapat menyebabkan komplikasi seperti kerusakan hati dan ginjal (Kojic dan Darouiche, 2004; Nobile dan Johnson, 2015). Obat yang lebih baik diperlukan untuk menangani infeksi yang berhubungan dengan biofilm *Candida albicans* (Zhang, 2018).

Berdasarkan data World Health Organization, (2003) bahwa 80% populasi dunia menggunakan terapi alami dan obat-obatan tradisional yang berasal dari alam dan persentase penggunaan obat alternatif di berbagai negara menjadi lebih populer seperti di Australia 48%, Canada 70%, Amerika Serikat 38% dan Belgia 75%. Berdasarkan penelitian oleh Shah *et al.*, (2011) menyatakan bahwa lebih dari 80% orang di Afrika menggunakan obat tradisional, terutama untuk pengobatan primer. Obat herbal lebih sering digunakan karena lebih mudah diakses, harga terjangkau dan mencakup *Universal Health Coverage* (UHC). *Cymbopogon citratus* merupakan tanaman yang banyak digunakan untuk berbagai aspek kehidupan seperti bahan makanan dan terapi. *Cymbopogon citratus* memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antiamuba, antibakterial, antijamur, antidiare, antifilarial, dan antiinflamatori (Madeira *et al.*, 2016).

Ekstraksi tanaman dilakukan untuk memisahkan komponen aktif tanaman dengan komponen tidak aktif/ampas menggunakan pelarut selektif. Saat proses ekstraksi terjadi, senyawa aktif dari tanaman akan terlarut sesuai dengan polaritas yang sama. Produk hasil ekstraksi tersusun dari komponen metabolit tanaman seperti alkaloid, glikosida, terpenoid, flavonoid dan lignan. Komponen metabolit tanaman dapat di ambil dari bagian tumbuhan seperti daun, bunga, akar, buah dan biji. Pelarut kloroform pelarut semi polar dapat melarutkan tanin, flavonoid dan terpenoid lakton karena sifat senyawa yang kurang polar (Muhamad *et al.*, 2019; Tiwari *et al.*, 2011). Berdasarkan penelitian oleh Stankovic *et al.*, (2011) menyatakan bahwa pelarut semi polar melarutkan flavonoid dengan optimum.

Penelitian ini dilakukan karena belum adanya penelitian yang menguji tentang manfaat ekstrak *Cymbopogon citratus* dengan pelarut kloroform sebagai antibiofilm terhadap *Candida albicans*. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sellam dan Whiteway, (2016) diketahui bahwa ekstrak etanol tanaman *Cymbopogon citratus* efektif mengurangi biofilm *Candida albicans*. Penelitian oleh Singh *et al.*, (2014) menyatakan bahwa lima bahan aktif yang berasal dari minyak esensial tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki aktivitas antibiofilm pada *Candida albicans* dan *Streptococcus mutant*.

1.2 Rumusan Masalah

Bagaimana efektivitas ekstrak kloroform daun serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231?

1.3 Tujuan Penelitian

Mengetahui efektivitas ekstrak kloroform daun serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

1.4 Keaslian Penelitian

Tabel 1. Keaslian Penelitian.

No	Nama Penelitian / Judul Penelitian	Tahun	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
1.	Taweechaisupapong S, Ngaonee P, Patsuk P, Pitiphat W, Khunkitti W / Antibiofilm activity and post antifungal effect of lemongrass oil on clinical <i>Candida dubliniensis</i> isolate.	2012	Minyak esensial <i>Cymbopogon citratus</i> memiliki aktivitas antifungal dan antibiofilm yang dapat mempengaruhi kolonisasi jamur <i>Candida</i> .	Variabel bebas : <i>Cymbopogon citratus</i> .	Subjek penelitian : <i>Candida dubliniensis</i> .
2.	Da Silva N B, Rangel Mariana D L, Castro Ricardo D, Lima Jefferson M, Castellano Lúcio C, Valença Ana M G, Cavanti Alessandro L / Anti Biofilm and Hemolytic Effects of <i>Cymbopogon citratus</i>	2019	Minyak esensial tanaman <i>Cymbopogon citratus</i> memiliki aktivitas anti mikrobial, anti biofilm dan tidak toksik terhadap eritrosit manusia.	Variabel bebas : <i>Cymbopogon citratus</i> .	Subjek penelitian : <i>Candida albicans</i> ATCC 90029.

Lanjutan tabel 1. Keaslian Penelitian

No	Nama Penelitian / Judul Penelitian	Tahun	Hasil Penelitian	Persamaan	Perbedaan
2.	(Dc) Staph Essential Oil.				
3.	Madeira Petrus L B, Carvalho Leticia T, Paschoal Marco A B, Sousa Eduardo M, Moffa Eduardo B, da Silva Marcos S, Tavarez Rudys J R, Gonçalves Leticia M/ Invitro Effects of Lemon grass Extract on <i>Candida albicans</i> Biofilms, Human Cells Viability, and Denture Surface.	2016	Ekstrak ethanol tanaman Lemongrass (<i>Cymbopogon citratus</i>) efektif mengurangi biofilm <i>Candida albicans</i> .	Variabel bebas : <i>Cymbopogon citratus</i> .	Subjek penelitian : <i>Candida albicans</i> ATCC 18804.

1.5 Manfaat Penelitian

1. Bagi Institusi

Memajukan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dan Universitas Islam Indonesia dalam publikasi ilmiah dan melengkapi data kepustakaan tentang efektivitas ekstrak daun serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

2. Bagi Peneliti

Dapat dijadikan sarana dalam menerapkan ilmu pengetahuan yang telah diperoleh dan menambah pengetahuan tentang efektivitas ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

3. Bagi Kemajuan Ilmu Kedokteran

Menambah informasi mengenai efektivitas ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 dan memberikan landasan ilmiah mengenai manfaat ekstrak serai terhadap biofilm *Candida sp.*

4. Bagi Peneliti Lain

Melengkapi dan menyumbang data tentang efektivitas antibiofilm serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap biofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

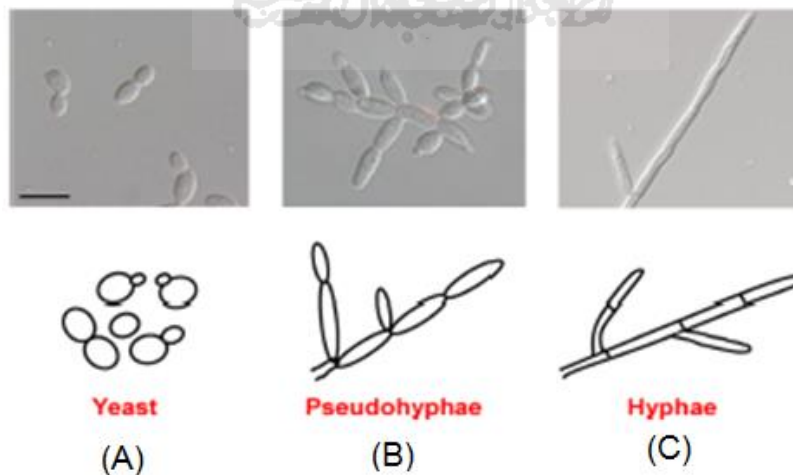
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Telaah Pustaka

2.1.1 *Candida Albicans*

Candida albicans adalah jamur dari golongan *Ascomycota*, organisme eukariot, non-fotosintesis, anaerob fakultatif, tumbuh optimal pada temperatur 37°C, memiliki plasma membran yang tersusun dari ergosterol (Chen *et al.*, 2013; Thompson *et al.*, 2011). Jamur *Candida albicans* merupakan bagian dari mikrobiota normal manusia dan membentuk koloni di gastrointestinal, kavitas oral, kulit serta vagina (Staib dan Morschhäuser, 2007).

Candida albicans memiliki 4 macam tipe sel yaitu yeast, hifa, pseudohifa, dan *chlamydozoospores*. Yeast (Gambar A) adalah sel tunggal berbentuk oval dan memiliki pola *budding* aksial dan bipolar. Hifa (Gambar B) memiliki sisi paralel, ukuran seragam, bagian septa tidak kontriksi dan memiliki pori pada bagian septa untuk berkomunikasi antara sel jamur (Thompson, Carlisle dan Kadosh., 2011). Pseudohifa (Gambar C) memiliki morfologi elipsoid dan terdapat kontriksi di bagian septum. *Chlamydozoospores* (Gambar D) merupakan sel berbentuk sferis, ukuran besar, berdinding tebal dan terbentuk saat kondisi lingkungan tidak mendukung seperti hipoksia dan kadar glukosa lingkungan rendah (Staib dan Morschhäuser, 2007).



Gambar 1. Morfologi *Candida albicans* (Gulati dan Nobile., 2017).



(D)

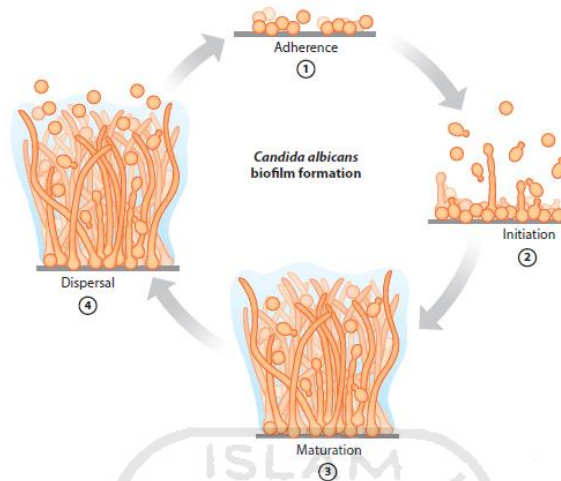
Gambar 2. Morfologi *Chlamydozooids* (Tsui, Kong dan Jabra-Risk., 2016).

Candida albicans dapat berproliferasi dan menyebabkan infeksi jika keseimbangan sistem imun manusia atau mikrobiota terganggu yang disebabkan oleh perubahan pH, pemakaian antibiotik dan kondisi immunosupresi. Infeksi yang disebabkan candida bervariasi dari infeksi mukosa lapisan dermal seperti sariawan, *diaper rash*, infeksi vagina, hingga *Candidemia* (Gulati dan Nobile, 2017). *Candida albicans* menjadi salah satu agen infeksi nosokomial yang dapat menempati berbagai permukaan kulit hingga jaringan organ. *Candida albicans* dapat melekat di kateter intravena, implan medis dan menjadi patogen ketiga terbesar yang di isolasi dari peredaran darah pasien dengan mortalitas hingga 50% menurut *Center for Disease Control* (Nobile dan Johnson., 2015).

2.1.2 Biofilm *Candida Albicans*

Biofilm *Candida albicans* terbentuk melalui empat proses: pertama, proses adesi sel *yeast* di permukaan yang solid (mukosa, kulit dan implan medis). proses tahap ini dinamakan *seeding* dan membutuhkan waktu selama 60 – 90 menit. Kedua, sel *Candida albicans* berproliferasi dan mulai berubah menjadi bentuk filamen dari sel *yeast*. Ketiga, maturasi biofilm yang ditandai dengan ditemukan berbagai morfologi sel seperti hifa, pseudohifa dan *yeast* yang memproduksi matriks ekstraseluler sehingga memberikan gambaran biofilm yang tebal serta padat. Proses maturasi ini terjadi selama 24 jam dan pada pengamatan mikroskop terlihat gambaran sel berbagai bentuk yang terorganisir. Keempat atau proses terakhir adalah *dispersal*, yaitu saat sel *yeast* melepaskan diri dari biofilm untuk

tumbuh di tempat baru (Shah *et al.*, 2011). Proses pembentukan biofilm *Candida albicans* dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Proses Pembentukan Biofilm *Candida albicans* (Manvitha dan Bidya, 2014)

2.1.3 Serai

Sereh atau serai merupakan tanaman yang tersebar di daerah semi-tropikal dan tropikal, Memiliki rasa seperti jeruk dan dapat digunakan dengan cara dikeringkan atau saat kondisi segar. Tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki banyak nama diantaranya *Lemongrass*, *Tej-sar*, *Sera*, *Cimbopogone* (Nasution, 2017).

Dalam taksonomi tanaman serai dikelompokkan sebagai berikut:

Kingdom : *Plantae*

Divisio : *magnoliophyta*

Class : *liliopsida*

Ordo : *poales*

Family : *poaceae*

Genus : *Cymbopogon spreng*

Species : *Cymbopogon citratus*

Serai atau *Cymbopogon citratus* merupakan tanaman rumput abadi yang berumbai dan dapat tumbuh hingga ketinggian satu meter (Yeşil dan Akalin, 2015). Serai memiliki struktur daun sejajar tunggal dengan panjang satu meter dan lebar 1,5 – 2 cm serta permukaan daun bagian atas dan bawah kasar. Batang

Cymbopogon citratus tidak berkambium, berwarna putih keunguan, berakar serabut dan tumbuh secara bertahap. *Cymbopogon citratus* merupakan tanaman yang tumbuh dengan cepat, tumbuh optimal pada ketinggian 50 – 2.700 meter di atas permukaan laut, temperatur 10 - 33°C dengan cukup sinar matahari dan frekuensi hujan merata sepanjang tahun (Nasution, 2017).



Gambar 4. Tanaman Serai (Manvitha dan Bidya, 2014).

Serai memiliki kandungan metabolit yang beragam seperti seperti saponin, flavonoid, polifenol, alkaloid. Serai memiliki minyak atsiri yang mengandung citral, citronellal, geraniol, mirsena, nerol, farsenol, metilheptenon, dipentena, eugenol, metil eter, kadinen, kadinol dan limonen (Balafif, Satari dan Dhianawaty., 2017). Kandungan minyak volatil pada *Cymbopogon citratus* dapat digunakan dalam pembuatan parfum, sabun berwarna dan sintesis vitamin A (Ewansiha J. U. *et al.*, 2013).

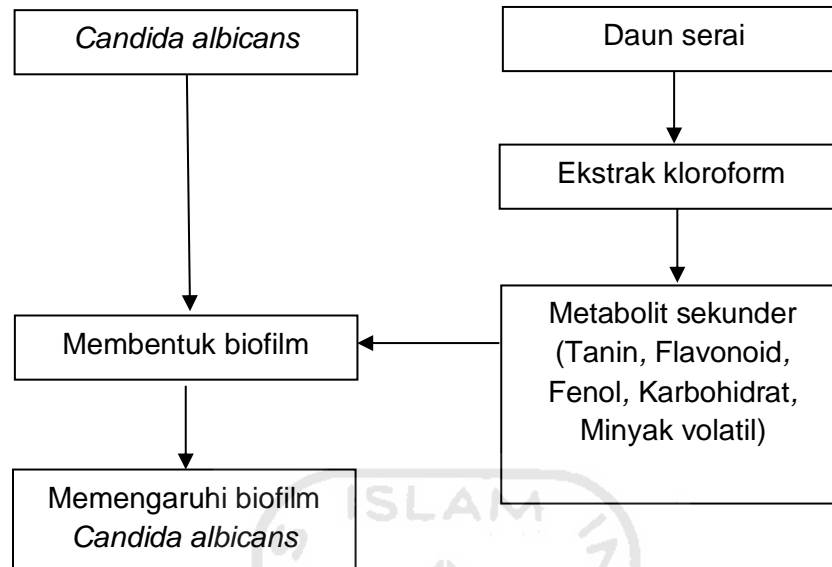
Tabel 2. Hasil ekstrak serai (Ewansiha. *et al.*, 2013)

Unsur Fitokimia	Ekstrak Daun		
	HX	CCF	MOH
Tanins	-	+	+
Flavonoid	+	+	+
Fenol	-	+	+
Karbohidrat	-	+	-
Minyak Volatil	+	+	-

Kepanjangan : HX = Heksana ; CCF = Kloroform ; MOH = Metanol ; + = menunjukkan reaksi positif ; - = menunjukkan reaksi negatif

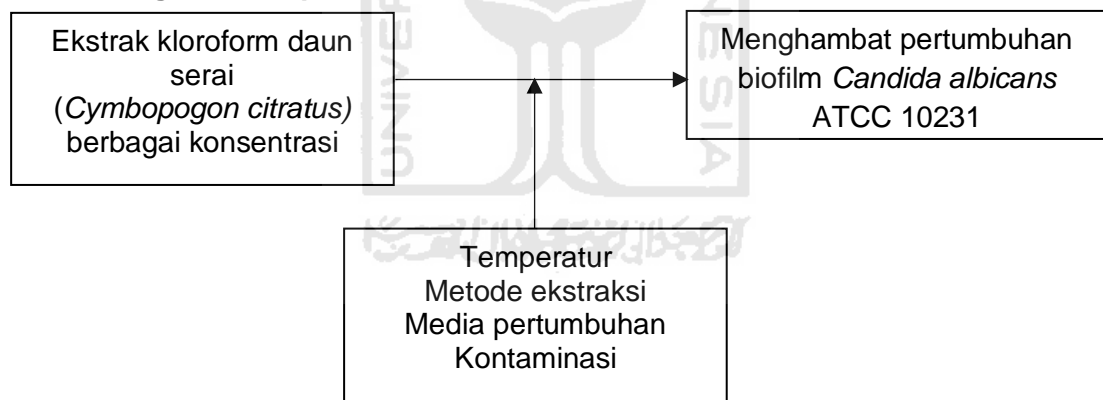
Cymbopogon citratus memiliki bahan aktif seperti: tanin, flavonoid, fenol, karbohidrat, dan minyak volatil pada bagian daun dan batang serta dengan metode ekstraksi menggunakan pelarut kloroform dapat mengekstrak kelima bahan aktif tersebut. *Cymbopogon citratus* memiliki minyak volatil atau *essential oil* yang memberikan aroma khas yang dapat di konfirmasi dengan adanya aroma serai pada ekstrak (Ewansiha J. U. *et al.*, 2013). Flavonoid memiliki senyawa genestein yang berperan menghambat proliferasi sel dengan cara mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga pertumbuhan jamur terhambat. Senyawa fenol akan mendenaturasi ikatan protein membran sel sehingga membran sel lisis dan masuk ke dalam inti sel. Selain itu, senyawa fenol akan menghambat enzim ATP-ase sehingga sintesis ATP terhambat. Senyawa fenol juga berikatan dengan DNA *double helix* yang menyebabkan RNA polimerase tidak dapat memisahkan kedua untaian DNA yang berakibat sintesis RNA terhambat sehingga pembentukan protein di dalam ribosom tidak berlangsung (Angraini M, Nazip K, Meilinda., 2012). Bahan tanin dan fenol dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur serta dapat mencegah tanaman dari infeksi. Tanin dapat berfungsi mencegah pendarahan dan berperan dalam penyembuhan luka. Tanin dan asam tanat memiliki potensi antijamur *Candida albicans* dengan zona rata – rata penghambatan $7,66 \pm 0,58$ dan $8,66 \pm 1,53$ serta *Minimum Inhibitory Concentration* masing-masing $28\mu\text{g/ml}$ dan $32\mu\text{g/ml}$ untuk ekstrak daun dan akar yang menunjukkan bahwa penggunaan tanaman ini untuk tujuan terapi melawan infeksi *Candida albicans* (Ewansiha J. U. *et al.*, 2013).

2.2 Kerangka Teori



Gambar 5. Kerangka teori

2.3 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 6. Kerangka konsep

2.4 Hipotesis

Ekstrak kloroform daun serai (*Cymbopogon citratus*) efektif menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231

BAB III. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis dan Desain Penelitian

Penelitian ini adalah uji eksperimental secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post-test control group design*. Efek ekstrak kloroform daun serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap pembentukan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 dengan teknik mikrodilusi.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

Proses determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada dan proses ekstraksi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Uji antibiofilm *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan pada Agustus 2020 – September 2020.

3.3 Subyek Penelitian

Subjek penelitian ini adalah *Candida albicans* ATCC 10231 yang dibiakkan dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

3.4 Identifikasi Variabel

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah ekstrak kloroform daun serai (*Cymbopogon citratus*) dengan konsentrasi larutan ; 12,5%; 6,25%; 3,125% dan 1,5625%, kontrol positif nistatin 100,000 IU, kontrol negatif suspensi jamur dan kontrol media.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah antibiofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

3.5 Definisi Operasional

1. Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan biofilm adalah kemampuan ekstrak kloroform daun serai dalam menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans* yang dinilai dengan absorbansi dan dianalisis secara statistik.

2. Ekstrak kloroform daun serai merupakan proses pemisahan senyawa metabolit sekunder dari daun serai dapur dengan pelarut kloroform.
3. Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 merupakan lapisan yang tersusun dari matriks eksopolisakarida yang melekat pada permukaan (tabung atau sumuran) dari *Candida albicans* ATCC 10231 yang diinduksi oleh media SDB dan diinkubasi selama 24 – 72 jam pada temperatur 37°C.

3.6 Instrumen Penelitian

1. Alat Penelitian

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya; timbangan, *cabinet dryer*, *miller device*, sendok pengaduk, *rotatory vaccum evaporator*, *waterbath*, *Laminar Air Flow* (LAF), gelas beaker, tabung erlenmeyer, desikator, penyaring bubuk, tabung reaksi, ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, inkubator, bunsen, mikropipet, vial, mikroskop, lidi steril, cawan petri, *microtitter plate 96-well flat bottom* (Iwaki®).

2. Bahan Penelitian

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah jamur *Candida albicans* ATCC 10231, Media *Sabouraud's dextrose agar* (SDA), Medium *Sabouraud's dextrose Broth* (SDB), *Phosphate Buffered Saline* (PBS), Akuades, *Crystal Violet* 0.1%, Asam asetat 33%, daun Serai (*Cymbopogon citratus*), Kloroform, Cat Gram, Kalium Hidroksida (KOH), *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB). sebagaimana yang terlampir di **Lampiran I**.

3.7 Tahapan Penelitian

3.7.1. Persiapan Daun Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)

Bahan daun serai (*Cymbopogon citratus*) dibeli dari pasar Pakem, Sleman, Yogyakarta sebanyak satu kilogram. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada. Proses determinasi tanaman dilakukan dengan mencocokkan bagian tanaman serai dengan literatur morfologi tumbuhan untuk memastikan spesies tanaman yang digunakan dalam penelitian.

3.7.2. Pembuatan Ekstrak Daun Serai Dapur (*Cymbopogon citratus*)

Daun serai dapur dicuci menggunakan air mengalir untuk membersihkan daun dari tanah dan debu. Daun serai kemudian dipotong di bagian *pseudo* batang dan dibawa ke Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia untuk dilakukan ekstraksi. Proses ekstraksi diawali dari penimbangan daun serai, pemotongan sampel, pengeringan di *cabinet dryer* dengan temperatur 50°C selama delapan jam. Daun hasil pengeringan diserbukan oleh alat *Miller*, hasil penyerbukan diekstraksi dengan pelarut kloroform selama 24 jam dengan sesekali diaduk. Hasil ekstraksi disaring menggunakan corong *butcher* dan *vaccum* untuk memisahkan ampas dan maserat. Maserat diuapkan menggunakan *rotatory evaporator* dan penyempurnaan menggunakan *waterbath*. sampel hasil penguapan dikemas dan siap digunakan. Langkah pembuatan ekstrak terdapat di **Lampiran VI**.

1) Uji metabolit sekunder

Pengujian metabolit sekunder pada penelitian ini berupa pengujian fitokimia (flavonoid, alkaloid, saponin, polifenol) dan penapisan dilakukan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia.

1. Uji flavonoid

- a) Satu (1) gram sampel ditimbang, kemudian ditambahkan 50 ml air panas, dididihkan selama 5 menit dan disaring.
- b) Filtrat dibersihkan, ditambah sedikit serbuk Mg dan 5mL HCL 2 N.
- c) Hasil yang didapat ditambahkan amil alkohol dan dikocok dengan kuat hingga berpisah. Terdapatnya warna kuning hingga merah di bagian amil alkohol menandakan adanya flavonoid.

2. Alkaloid

- a) Sampel 2 gram dipanaskan dengan HCL 1% 10 mL selama 30 menit hingga mendidih.
- b) Kemudian disaring dan ditambah tiga tetes reagen dragendorf.
Terbentuknya warna oranye menandakan terdapat senyawa alkaloid.

3. Saponin

- a) 100 mg ekstrak sampel ditambahkan 10 mL air dan dikocok selama 30 menit.

b) Timbulnya buih busa \pm 1-10 cm selama 10 menit menandakan adanya saponin.

4. Polifenol

a) 2 gram sampel dipanaskan dengan air 10 mL selama 10 menit di penangas air hingga mendidih.

b) Kemudian disaring filtratnya.

c) Setelah dingin ditambahkan FeCl_3 tiga tetes.

d) Warna Ungu – Hijau – Biru menandakan adanya polifenol.

3.7.3. Sterilisasi Alat

Alat yang akan digunakan dalam penelitian ini terlebih dahulu disterilkan yang bertujuan mencegah kontaminasi yang dapat memengaruhi hasil penelitian. Proses sterilisasi terdiri dari sterilisasi kering dengan api bunsen dan oven. Sedangkan, sterilisasi basah menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.

3.7.4. Purifikasi dan Karakterisasi Jamur

Purifikasi dan karakterisasi jamur uji dilakukan untuk memastikan mikroorganisme yang diujikan adalah *Candida albicans* ATCC 10231 murni. Uji yang dilakukan dengan pengamatan makroskopik yaitu menginokulasi jamur dari media *Saboraud Dextrose Agar* dengan metode *Streak Plate*. Pengamatan mikroskopik menggunakan pewarnaan Cat Gram, pewarnaan *Lactophenol cotton blue* (LPCB) serta pemberian Kalium Hidroksida (KOH). Prosedur pertama adalah memanaskan ose hingga memijar dan didinginkan. Prosedur kedua menggunakan Cat Gram, Cat LPCB dan KOH untuk melihat morfologi ragi, pseudohifa dan hifa jamur *Candida albicans*. Prosedur ketiga adalah pemeriksaan kultur jamur di media *Saboraud Dextrose Agar* untuk membedakan spesies jamur *Candida albicans* dengan spesies lain seperti *Cryptococcus*, *Hasenula*, *Malaesezzia* (Mutiawati, 2016).

3.7.5. Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans* untuk Uji Antijamur

Metode ini dilakukan berdasarkan deksripsi (Fisher *et al.*, 2017) jamur *Candida albicans* diambil dari *Saboraud Dextrose Agar* dan dipindahkan media kultur *Saboraud Dextrose Broth* menggunakan ose bulat. Inokulum mikroba diinkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam pada $37\pm^\circ\text{C}$. Suspensi mikroba diencerkan dengan media cair sehingga didapat absorbansi dengan rentang 0,08 – 0,13 ($1-2 \times 10^8$ CFU/mL) menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang

gelombang 625 nm (Setara dengan 0,5 McFarland) sebagai blanko media cair. Suspensi kemudian dilakukan pengenceran 1:20 dengan media cair hingga didapatkan koloni 1×10^6 CFU/mL. Hasil suspensi digunakan untuk metode antijamur dengan metode mikrodilusi.

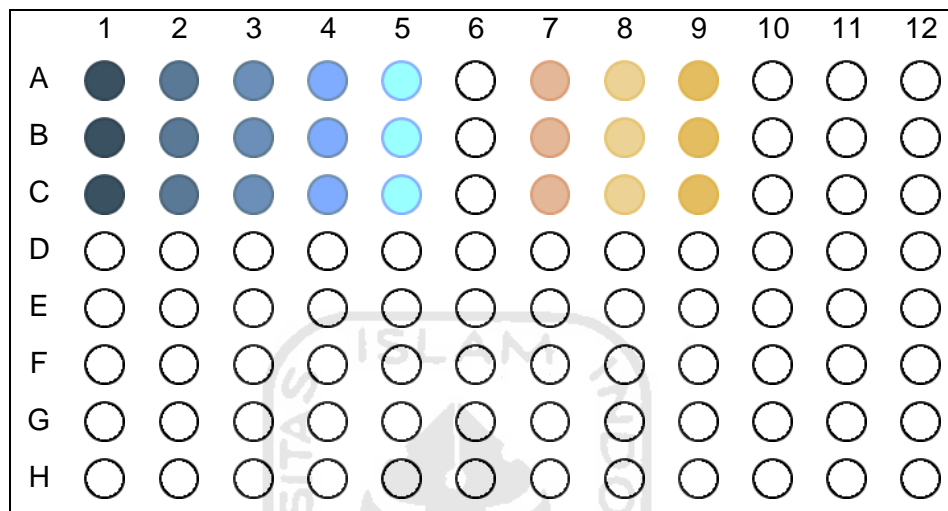
3.7.6. Penentuan Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM)

Aktivitas antijamur ekstrak serai menggunakan metode *microplate*. Metode ini direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI)*. *Mikroplate* terdiri dari 12 kolom dan delapan baris. Kolom 1 - 5 berisi ekstrak serai dengan berbagai konsentrasi. Kolom 7 berisi kontrol positif berisi nistatin 100.000 IU, kolom 8 berisi kontrol media dan kolom 9 berisi kontrol negatif. Metode ini menggunakan *microplate flat bottom 96-wells*. Metode mikrodilusi menggunakan proses mengencerkan ekstrak sampel uji yang ditambahkan inokulum *Candida albicans* untuk menentukan KHM dan KBM (Kumar dan Jha, 2017). Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Fisher *et al.*, (2017), bahwa KHM adalah konsentrasi terkecil di mana tidak ada pertumbuhan secara visual pada sumur yang digunakan dan diperoleh dengan pengamatan visual dan KBM adalah konsentrasi terkecil media agar tampak jernih dan tidak menunjukkan pertumbuhan mikroba. Percobaan ini dilakukan pengulangan secara triplo (Pangalinan dan Yamlean, 2012). Uji antijamur menggunakan obat *antifungal* nistatin 100.000 IU sebagai pembanding (Rachmawaty *et al.*, 2018).

Sebanyak 100 μ L ekstrak dengan konsentrasi 50% dimasukkan ke dalam sumuran A1. Sumuran A2 hingga A5 ditambahkan akuades steril 100 μ L. kemudian, ditambahkan 100 μ L ekstrak dengan konsentrasi 50% ke dalam sumuran A2, dihomogenisasi dan diambil sebanyak 100 μ L serta dipindahkan ke A3, proses diulang pada A3 sampai A5. Rangkaian diulang pada kolom B1 hingga B5 dan C1 hingga C5.

Proses pembuatan kontrol positif antijamur nistatin 100.000 IU dilakukan dengan menuangkan 100 μ L antijamur ke sumuran A7, B7, dan C7. Kontrol negatif ditambahkan media sebanyak 100 μ L ke dalam sumuran A9, B9, dan C9. Kontrol mediaditambahkan media pertumbuhan sebanyak 200 μ L ke dalam sumuran A8, B8, dan C8. Sumuran yang telah diisi (kecuali kontrol media) ditambahkan suspensi jamur sebanyak 100 μ L dan dihomogenisasi. Mikroplate yang telah terisi diinkubasi dalam inkubator selama 24 jam pada temperatur 37°C. Hasil inkubasi

diambil menggunakan ose, dipindahkan ke media *Saboraud Dextrose Agar* dan diinkubasi selama 24 jam pada temperatur 37°C. KHM dapat diamati pada mikroplate yang telah diinkubasi dan KBM dapat diamati pada media *Saboraud Dextrose Agar* yang telah diinkubasi selama 24 Jam. Uji antijamur dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Uji Antijamur

Keterangan :

- A1, B1, C1: 100 µL Ekstrak konsentrasi 50% + 100 µL Suspensi Jamur
- A2, B2, C2: 100 µL Ekstrak konsentrasi 25% + 100 µL Suspensi Jamur
- A3, B3, C3: 100 µL Ekstrak konsentrasi 12,5% + 100 µL Suspensi Jamur
- A4, B4, C4: 100 µL Ekstrak konsentrasi 6,25% + 100 µL Suspensi Jamur
- A7, B7, C7: 100 µL Nistatin 100.000 IU + 100 µL Suspensi Jamur
- A8, B8, C8: 200 µL Media pertumbuhan Jamur
- A9, B9, C9: 100 µL Media pertumbuhan Jamur + 100 µL Suspensi Jamur

3.7.7. Pembuatan Suspensi *Candida albicans* ATCC 10231 untuk Uji Biofilm dan Uji Antibiofilm

Candida albicans diambil dari *Saboraud Dextrose Agar* dan dipindahkan media kultur *Saboraud Dextrose Broth* menggunakan ose bundar. Inokulum mikroba diinkubasi dalam inkubator selama 18-24 jam pada 37±°C. suspensi mikroba kemudian diencerkan dengan media cair sehingga didapat absorbansi dengan rentang 0,08 – 0,13 ($1-2 \times 10^8$ CFU/mL) menggunakan spektrofotometri UV-Vis pada panjang gelombang 625 nm (Setara dengan 0,5 McFarland) sebagai blanko media cair. Blanko cair selanjutnya diencerkan dengan perbandingan 1 : 10 menurut metode (Pratama *et al.*, 2018) diambil 1 mL suspensi blanko cair dan dimasukkan ke 9 mL media cair sehingga kerapatan jamur menjadi 1×10^7 di media

Sabouraud Dextrose Broth (Hosida *et al.*, 2018). Hasil pengenceran digunakan untuk uji antibiofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

3.7.8. Uji Deteksi Produksi Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231

Uji deteksi biofilm dilakukan dengan metode *Microtiter Plate Assay* sesuai Prosedur (Kirmusaoğlu, 2019). MtP merupakan metode kuantitatif untuk menentukan produksi biofilm menggunakan *Microplate Reader ELISA*. Kontrol negatif merupakan sumuran yang berisi media, digunakan sebagai nilai blank. Nilai OD blank untuk mengidentifikasi pembentukan biofilm. Apabila nilai OD mikroba lebih tinggi dari nilai OD blank, disimpulkan bahwa mikroba membentuk biofilm. Nilai negatif pada formula menunjukkan tidak terbentuk biofilm. Nilai positif artinya menunjukkan produksi biofilm. Uji Dilakukan secara triplo dan dihitung standar deviasinya. Kemudian, mencari *ODcut off* dengan formula berikut:

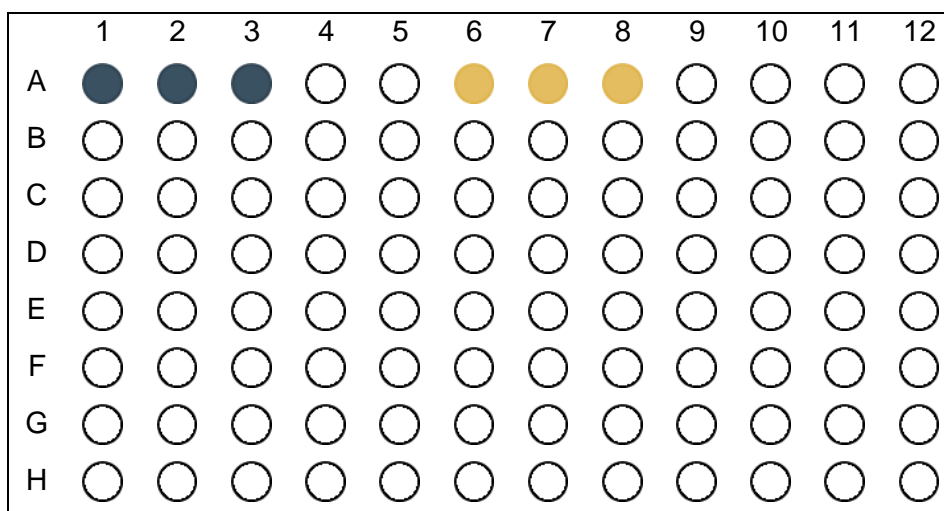
$ODcut = \text{Rata-rata OD kontrol Negatif} + (3 \times \text{Standar deviasi (SD) kontrol negatif})$

$OD \text{ Mikroba} = \text{Rata-rata OD mikroba} - Odcut$

Nilai dari formula *ODcut off* dan OD mikroba kemudian diinterpretasikan pada **tabel 3** untuk mengetahui kekuatan biofilm *Candida albicans*. uji deteksi produksi biofilm dapat dilihat pada **gambar 8**.

Tabel 3. Interpretasi Kekuatan Biofilm *Candida albicans*

Rata-rata nilai OD	Kekuatan penghasil biofilm
$OD \text{ mikroba} \leq Odcut$	<i>Non-biofilm producer</i>
$ODcut < OD \text{ Mikroba} \leq 2x \text{ Odcut}$	<i>Weak-biofilm former</i>
$2x \text{ Odcut} < OD \text{ Mikroba} \leq 4x \text{ Odcut}$	<i>Moderate-biofilm former</i>
$4x \text{ Odcut} < OD \text{ Mikroba}$	<i>Strong-biofilm former</i>



Gambar 8. Uji pembentukan biofilm

Keterangan :

A1, A2, A3: 200 μ L Media SDB

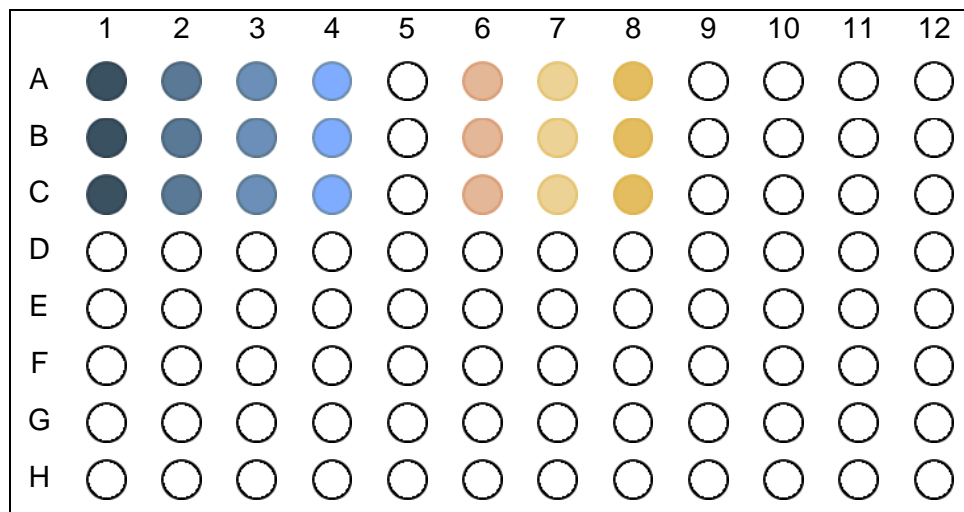
A6, A7, A8: 100 μ L Media pertumbuhan Jamur + 100 μ L Suspensi Jamur

3.7.9. Uji Kemampuan Antibiofilm

Uji antibiofilm adalah prosedur yang dilakukan untuk mengukur efek ekstrak terhadap pembentukan biofilm pada sumuran mikrotiter dan dilakukan secara triplo (O'Toole, 2010; Rachmawaty *et al.*, 2018). Berdasarkan prosedur yang dilakukan oleh (Fitria, 2018) Penyusunan perlakuan digunakan variasi konsentrasi KHM, 1/2 KHM, 1/4 KHM dan 1/8 KHM.

Sebanyak 100 μ L ekstrak dengan konsentrasi 12,5% dimasukkan ke sumuran A1. Sumuran A2, A3, dan A4 diberi 100 μ L akuades steril. Sebanyak 100 μ L ekstrak dengan konsentrasi 12,5% ke dalam sumuran A2 dan dihomogenasi. Hasil campuran ekstrak dengan akuades pada sumuran A2 diambil 100 μ L dan dimasukkan ke sumuran A3, prosedur dilakukan hingga A4. Rangkaian A1 hingga A4 dilakukan secara berulang pada B1 – B4 dan C1 – C4. Pada kontrol positif digunakan *antifungal* nistatin 100.000 IU, diambil sebanyak 100 μ L dan dimasukkan ke dalam sumuran A6, B6 dan C6. Kontrol Media dimasukkan 200 μ L media *Sabouraud Dextrose Broth* ke dalam sumuran A7, B7, dan C7. Kontrol negatif diisi media sebanyak 100 μ L A8, B8, dan C8. Setelah diisi media, semua sumuran (kecuali kontrol media) dimasukkan suspensi jamur ke dalam sumuran sebanyak 100 μ L dan dihomogenisasi. Volume akhir setiap sumuran menjadi 200 μ L. Mikroplate diinkubasi selama 48 jam pada temperatur 37°C (Taweechaisupapong, *et al.*, 2012a).

Cairan hasil inkubasi pada mikroplate kemudian dibuang dengan cara membalikan mikroplate. Mikroplate dicuci menggunakan *Phospate Buffer saline* sebanyak dua kali, proses ini bertujuan mencuci sel yang tidak menempel pada mikroplate. Masukkan larutan *Crystal Violet* 0,1% sebanyak 125 μ L ke dalam sumuran dan diinkubasi selama 10 – 15 menit. Bilas mikroplate dengan akuades sebanyak tiga sampai empat kali. Tambahkan 125 μ L asam asetat 30% pada mikrotiter yang telah diwarnai *Crystal violet* 0.1% (Takahashi *et al.*, 2015). Untuk uji kuantitatif, lakukan pembacaan di ELISA dengan panjang gelombang 625 mn (Luthfi *et al.*, 2017). Uji antibiofilm dapat dilihat pada **gambar 9**.



Gambar 9. Uji Antibiofilm

Keterangan:

- A1, B1, C1: 100 µL Ekstrak Konsentrasi 12.5% + 100 µL Suspensi jamur
 A2, B2, C2: 100 µL Ekstrak Konsentrasi 6.26% + 100 µL Suspensi jamur
 A3, B3, C3: 100 µL Ekstrak Konsentrasi 3.125% + 100 µL Suspensi jamur
 A4, B4, C4: 100 µL Ekstrak Konsentrasi 1.562% + 100 µL Suspensi jamur
 A6, B6, C6: 100 µL Nistatin 100.000IU + 100 µL Suspensi jamur
 A7, B7, C7: 200 µL Media pertumbuhan jamur
 A8, B8, C8: 100 µL Media pertumbuhan jamur + 100 µL Suspensi jamur

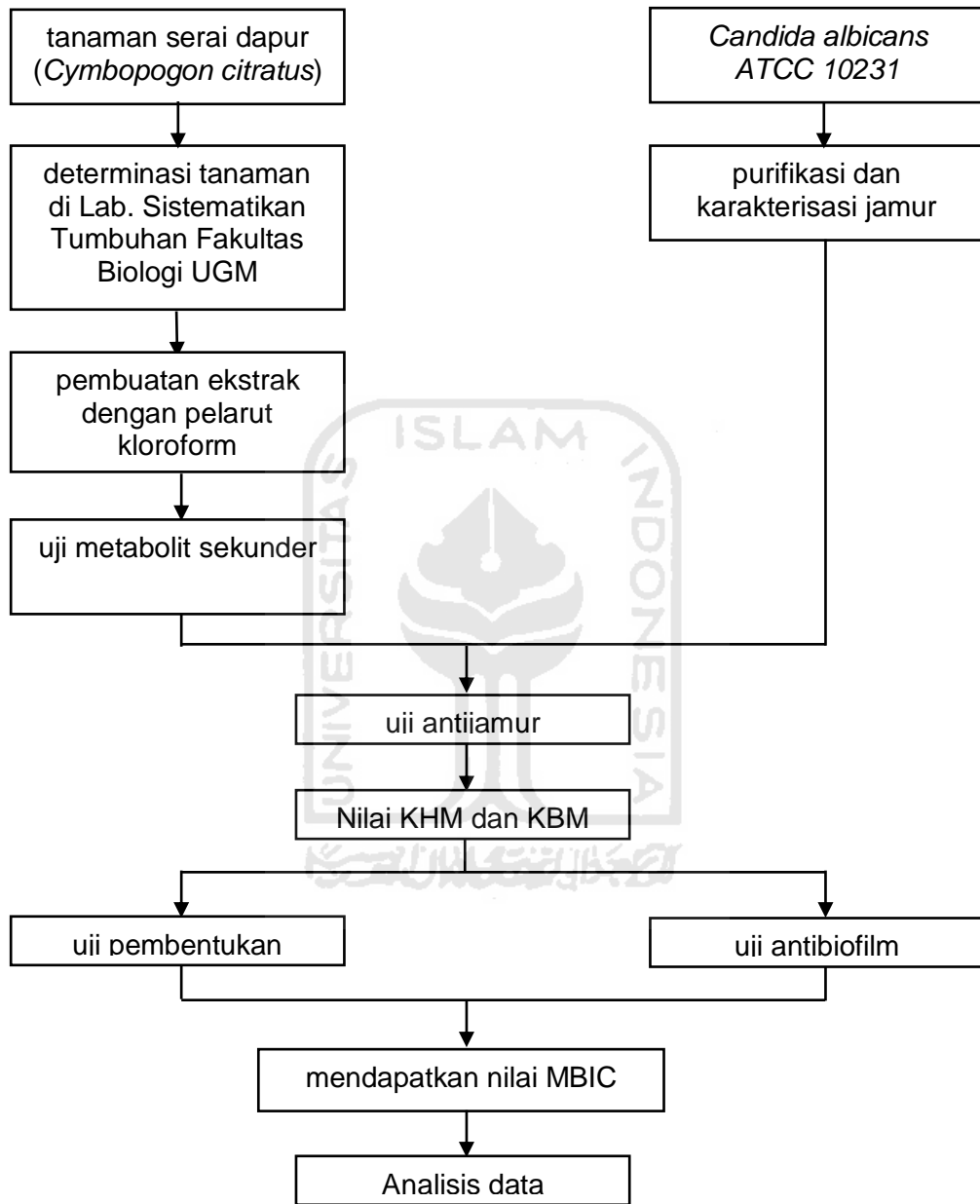
Hasil pembacaan ELISA kemudian dimasukan ke rumus $MBIC_{50}$ untuk mengetahui persentase penghambatan ekstrak terhadap pertumbuhan biofilm uji.

Formula penghambatan biofilm sebagai berikut (Kawsud *et al.*, 2014) :

$$\text{Perhambatan \%} = (\text{OD}_{625} \text{ Kontrol} - \text{OD}_{625} \text{ Uji}) / \text{OD}_{625} \text{ Kontrol} \times 100\%$$

Konsentrasi penghambatan biofilm adalah konsentrasi yang menunjukkan penghambatan 50% dari pembentukan biofilm (Mutiawati, 2016).

Alur kerja penelitian disajikan pada **Gambar 10** sebagai berikut:



Gambar 10. Alur kerja penelitian

3.8 Metode Analisis Data

Data absorbansi OD yang sudah didapatkan dan dianalisis secara statistik menggunakan *Saphiro wilk* dan *Levene's test* untuk mengetahui persebaran dan homogenitas data. Jika data terdistribusi normal ($p \geq 0,05$) dilanjutkan dengan uji

One Way Anova untuk menguji signifikansi data dan dilanjutkan dengan *post hoc Bonferroni* untuk mengetahui $MBIC_{50}$ (*Minimum Inhibitory Concentration 50%*) ekstrak kloroform daun serai dapur terhadap pertumbuhan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231.

3.9 Etika Penelitian

Penelitian diajukan ke Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Penelitian yang dilakukan mendapat persetujuan dari Komite Etik dengan nomor **45/Ka.Kom.Et/70/KE/III/2020**. Hasil Keterangan lolos kaji etik dapat dilihat pada **lampiran III**.



BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Hasil

4.1.1. Gambaran Penelitian

Penelitian dengan judul Uji Efektivitas Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 telah dilakukan pada Agustus-September 2020. Penelitian ini menggunakan bahan biologi tersimpan yaitu *Candida albicans* ATCC 10231 yang didapatkan dari Balai Laboratorium Kesehatan Yogyakarta.

4.1.2. Hasil Determinasi *Cymbopogon citratus*

Berdasarkan hasil determinasi pada 28 Agustus 2020, membuktikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Cymbopogon citrates* (DC.) *Stap* dengan sinonim *Andropogon citratus* DC. Hasil determinasi dapat dilihat di **Lampiran IV**.

4.1.3. Hasil Ekstraksi Daun *Cymbopogon citratus*

Proses ekstraksi dilakukan di Laboratorium Terpadu Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia bagian Biologi Farmasi selama 14 hari telah melalui proses pengeringan, perajangan, maserasi, penyaringan dan penguapan sampel hingga menjadi ekstrak. Dari 1.000 gram bahan sampel didapatkan ekstrak seberat 13.3248 gram. Langkah Proses Ekstraksi dapat dilihat di **Lampiran V**.

4.1.4. Hasil Uji Metabolit Sekunder

Tabel 4. Hasil uji metabolit sekunder

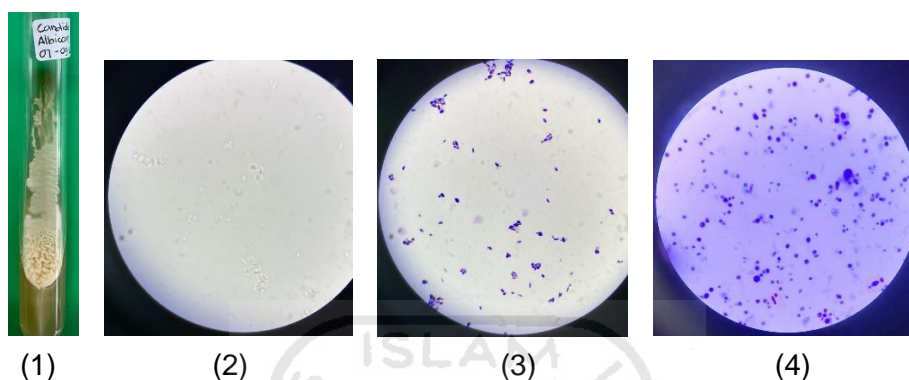
Uji	Hasil	Teknik Analisis	Keterangan
Flavonoid	+	Visualisasi Warna	Terbentuk warna kuning
Alkaloid	+	Visualisasi Warna	Terbentuk warna orange dengan pereaksi <i>Dragendroff</i>
Saponin	+	Visualisasi Buih	Terbentuk buih setinggi 1 cm
Polifenol	+	Visualisasi Warna	Terbentuk warna ungu biru

Sertifikat hasil pengujian ini dapat dilihat di **Lampiran VI**.

4.1.5. Karakterisasi dan Purifikasi Jamur Uji

Tujuan purifikasi dan karakterisasi adalah untuk memastikan mikroorganisme yang diujikan adalah murni *Candida albicans* ATCC 10231. Hasil purifikasi dan

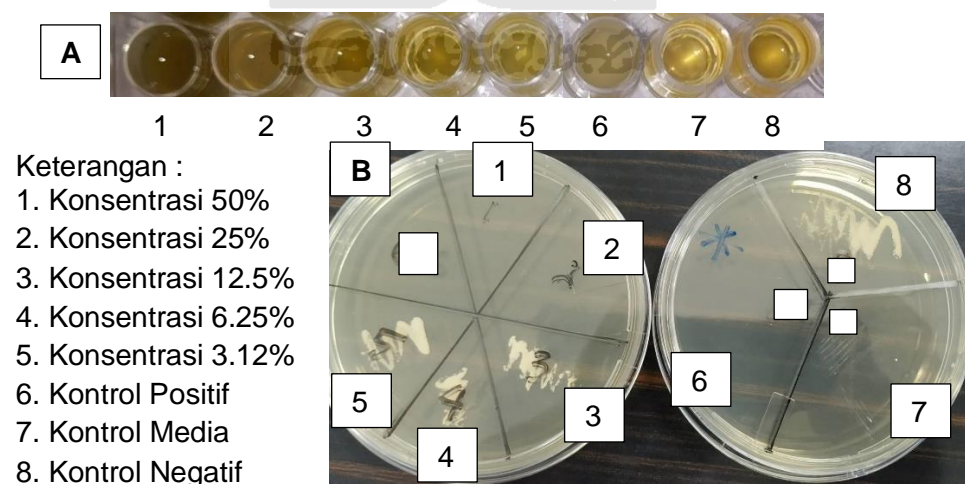
karakterisasi jamur yang tumbuh pada media SDA, tumbuh jamur berwarna putih kekuningan. Pengecatan gram menunjukkan gambaran yeast berbentuk bulat. Pemberian KOH 10% memberikan gambaran yeast dan pengecatan LPCB (*Lactophenol Cotton Blue*) menunjukkan gambaran *pseudohifa* dan yeast berwarna ungu pada mikroskop. Hasil pengamatan dapat dilihat di **gambar 11**.



Gambar 11. Purifikasi dan Karakterisasi jamur *Candida albicans* pada Media SDA (1), Pemberian KOH (2), Pewarnaan Gram (3) dan Pewarnaan LPCB (4).

4.1.6. Hasil Penentuan KHM dan KBM pada Uji Antijamur

Uji antijamur pada penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi (cair) pada *microplate* yang diinkubasi selama 24 jam, kemudian menginokulasi larutan uji ke cawan petri dan diinkubasi selama 24 jam untuk melihat nilai KHM dan KBM. Hasil penentuan KHM dan KBM pada **Gambar 12**.



Gambar 12. Hasil uji antijamur pada (A) mikroplate dan (B) pada media agar

Pada sumuran pertama dan kedua tampak jernih, serta pada cawan petri uji dengan konsentrasi 50% dan 25% tidak terdapat pertumbuhan lapisan putih pada

media agar. Cawan petri tiga hingga lima terdapat gumpalan putih yang menandakan pertumbuhan jamur *Candida albicans* ATCC 10231.

4.1.7. Hasil Pembentukan Biofilm *Candida albicans*

Uji pembentukan biofilm *Candida albicans* terdapat endapan biofilm yang terwarnai oleh *Crystal violet* 0,1% kemudian dilarutkan oleh asam asetat 30% sebanyak 125 μ L pada **gambar 13**.

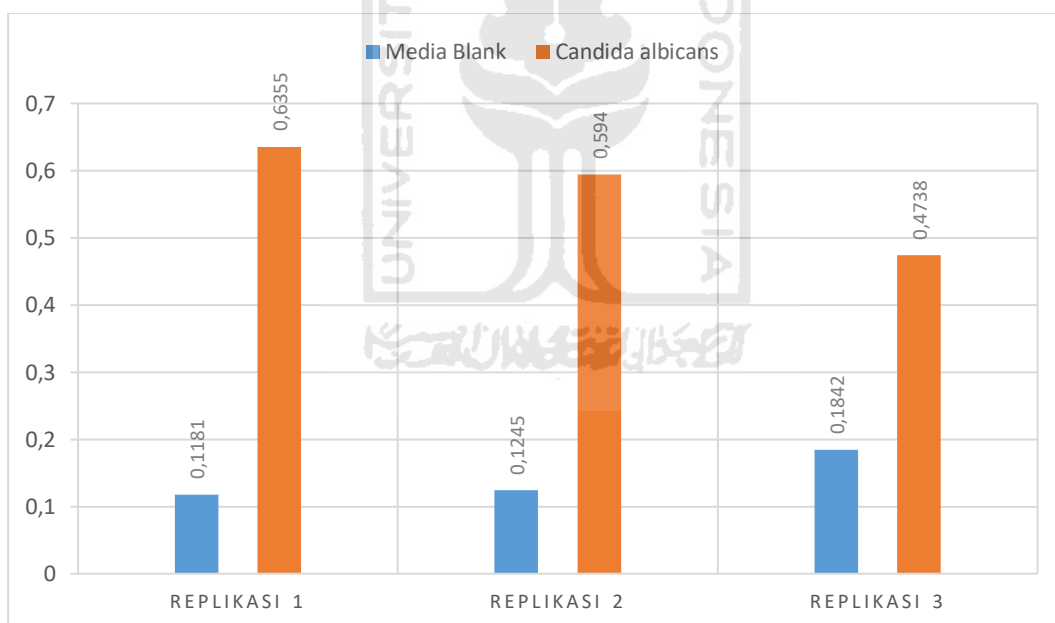


(1)

(2)

Gambar 13. Hasil Uji Pertumbuhan biofilm *Candida albicans* (1) dan Media Blank (2).

Nilai Absorbansi/ OD dari uji pembentukan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 dan *media blank* disajikan pada **gambar 14** dan **tabel 5** berikut:



Gambar 14. Diagram pembentukan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 melalui metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* (OD_{625nm}).

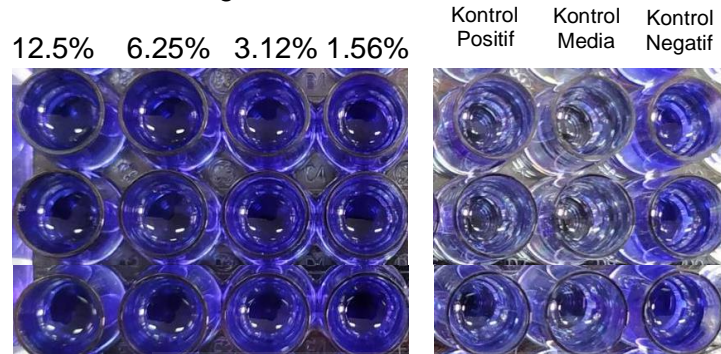
Tabel 5. Nilai Absorbansi/OD Pembentukan Biofilm.

Agen	Triplo1	Triplo 2	Triplo 3	Rata-rata	Std. deviasi
Media Blank	0,1181	0,1245	0,1842	0,1423	0,03645
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	0,6355	0,5940	0,4738	0,5678	0,08398

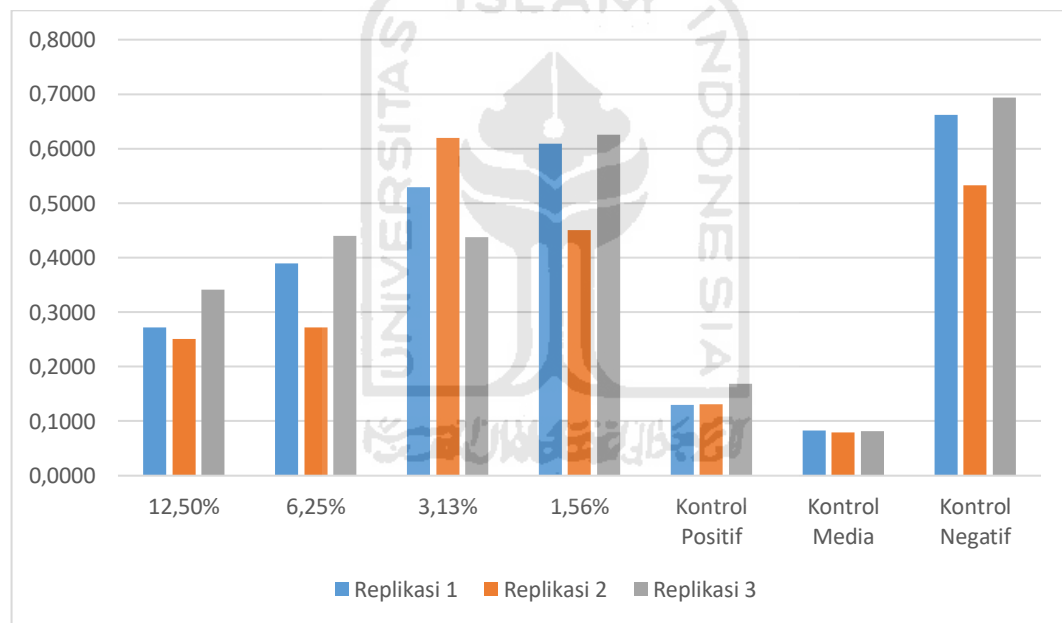
Data primer peneliti.

4.1.8. Hasil Penentuan Konsentrasi Ekstrak Sebagai Antibiofilm

Hasil pengujian antibiofilm pada **gambar 15** dapat diamati kekeruhan warna pada mikroplate. Nilai absorbansi rata-rata uji antibiofilm dapat dilihat pada **gambar 16** dan **tabel 6** sebagai berikut:



Gambar 15. Hasil uji antibiofilm *Candida albicans* ATCC 10231



Gambar 16. Diagram penghambatan aktivitas antibiofilm *Candida albicans* ATCC 10231 melalui Metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* (OD_{625nm}).

Tabel 6. Rata - rata Absorbansi/OD Uji Antibiofilm.

Uji	Absorbansi			Rata – rata	% Penghambatan
	1	2	3		
12,5%	0,2719	0,2509	0,3411	0,2880	54,2498
6,25%	0,3893	0,2724	0,4396	0,3671	41,6777
3,125%	0,5297	0,6203	0,4374	0,5291	15,9349
1,562%	0,6092	0,4500	0,6258	0,5617	10,7663
Kontrol Positif	0,1295	0,1316	0,1691	0,1434	77,2176
Kontrol Media	0,0826	0,0793	0,0819	0,0813	
Kontrol Negatif	0,6617	0,5326	0,6940	0,6294	

Data primer peneliti.

Ketiga data triplo dianalisis menggunakan Uji statistik yang dapat dilihat pada **Lampiran VII**. Hasil uji dihitung menggunakan uji normalitas *saphiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ pada setiap kelompok uji yang artinya data terdistribusi normal. Analisis hasil kemudian diuji homogenitas didapatkan nilai $p > 0,05$ maka data homogen. Analisis hasil selanjutnya uji *One-way ANOVA* didapatkan nilai $p < 0,05$ artinya kelompok berbeda secara signifikan. Oleh karena uji *One-Way ANOVA* signifikan, Maka dilakukan analisa *Post-hoc Bonferroni* dan Hasil Uji *Post-hoc* menunjukkan perbedaan signifikan pada kelompok konsentrasi 12,5% dengan konsentrasi 3,125%, Konsentrasi 12,5% dengan 1,5625%, Konsentrasi 12,5% dengan Kontrol Media, Konsentrasi 12,5% dengan Kontrol Negatif. Nilai hasil uji dapat diamati pada **tabel 7**.

Tabel 7. Hasil *Post-hoc Bonferroni* Uji Antibiofilm.

	E12,5%	E6,25%	E3,125%	E1,5625%	KP	KM	KN
E12,5%	-	1,000	0,020	0,007	0,537	0,064	0,001
E6,25%	1,000	-	0,298	0,098	0,036	0,005	0,010
E3,125%	0,020	0,298	-	1,000	0,000	0,000	1,000
E1,5625%	0,007	0,098	1,000	-	0,000	0,000	1,000
KP	0,537	0,036	0,000	0,000	-	1,000	0,000
KM	0,064	0,005	0,000	0,000	1,000	-	0,000
KN	0,001	0,010	1,000	1,000	0,000	0,000	-

Keterangan: E = Konsentrasi Ekstrak; KP = Kontrol Positif; KM = Kontrol Media ; KN = Kontrol Negatif

4.2 Pembahasan

4.2.1. Purifikasi dan Karakterisasi Jamur Uji

Menurut (Coronado-Castellote dan Jiménez-Soriano, 2013) indentifikasi spesies dapat dilakukan dengan uji morfologi dan kultur jamur untuk uji spesifitas dan uji sensitivitas. Identifikasi pada *yeast* dapat ditentukan berdasarkan empat kriteria: morfologi dan biokimia atau imunologi dan genetik. Konfirmasi diagnosis dapat ditegakan dengan pengamatan mikroskopis dan pengamatan makroskopis. Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengkultur jamur pada medium *Sabouroud Dextrose Agar* sebagai media selektif pertumbuhan jamur (Mutiawati, 2016). Koloni *Candida albicans* dapat dilihat berwarna putih kekuningan, timbul di atas permukaan media, memiliki permukaan yang halus dan licin dan dapat agak keriput dengan aroma ragi yang khas (Mutiawati, 2016).

Candida albicans pada pemberian larutan KOH dapat diamati memiliki gambaran *Budding yeast cells* dan pseudohifa (Yahaya *et al.*, 2018).

Pewarnaan gram pada *yeast Candida albicans* berwarna ungu yang mengindikasikan Gram Positif (Padilha *et al.*, 2014). Semua jamur adalah gram positif, oleh sebab itu penggunaan pewarna Cat Gram memungkinkan untuk melihat morfologi dan indentifikasi *Candida sp* (Mutiawati, 2016). Gambaran *Candida albicans* pada pewarnaan gram dapat diidentifikasi sekumpulan jamur dalam bentuk *budding yeast*, *Pseudomycelium*, hifa, *pseudohifa* dan *blastospora* (Vivian dan Elizabeth, 2013; Wanger *et al.*, 2017).

Lactophenol Cotton Blue (LPCB) adalah pewarnaan yang digunakan untuk mengidentifikasi jamur dengan sampel yang diambil dari selotip atau kerokan. Pewarnaan LPCB mengandung fenol yang akan membunuh organisme, konsentrasi fenol yang tinggi menonaktifkan enzim seluler litik sehingga sel organisme tidak lisis. asam laktat mengawetkan struktur jamur dengan merubah gradien osmotik yang membentuk lapisan protektif di bagian dalam jamur dan *Cotton blue* berikatan dengan kitin pada dinding sel jamur yang memberikan warna biru (Mulyati *et al.*, 2002). Gambaran *Candida albicans* pada pewarnaan LPCB tampak adanya sel *yeast* dengan atau tanpa *pseudohifa* (Fisher *et al.*, 2017).

4.2.2. Pembahasan Pentuan KHM dan KBM

Berdasarkan hasil pengujian antijamur pada mikroplate diperoleh konsentrasi 25% sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM). Penentuan kadar KBM mendasar kepada kejernihan sumuran pada konsentrasi 25% dibanding kontrol

negatif setelah inkubasi 24 jam dan tidak adanya pertumbuhan koloni jamur pada cawan petri nomor dua setelah inkubasi 24 jam (da Silva *et al.*, 2019).

Konsentrasi 12,5% merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari senyawa ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur sehingga sumuran lebih jernih dibanding kontrol negatif tetapi masih terdapat pertumbuhan koloni jamur pada cawan petri nomor tiga. Berdasarkan hasil eksperimen didapatkan konsentrasi hambat minimum ekstrak daun *Cymbopogon citratus* adalah 12,5% (Afrina *et al.*, 2017).

Hasil Konsentrasi penghambatan lebih baik dari penelitian yang dilakukan oleh (Afrina *et al.*, 2017) menggunakan ekstrak metanol didapatkan konsentrasi hambat minimum pada 25% dan konsentrasi bunuh minimum pada 100%. Namun, daya hambat ekstrak kloroform masih kurang dibanding penelitian yang dilakukan oleh (Sukma P. *et al.*, 2012) yang menggunakan ekstrak metanol didapatkan konsentrasi hambat minimum *Cymbopogon citratus* sebesar 0,4%. Berdasarkan penelitian Stringaro *et al.*, (2014) Observasi yang dilakukan menggunakan *Scanning Electrom Microscope* (SEM) dan *Atomic Force Microscoperce Microscope* (AFM) pada biofilm *Candida albicans* yang diberikan perlakuan minyak esensial *Cymbopogon citratus* mendapatkan gambaran sel yang deformitas dan mengkerut. Berdasarkan penelitian Taweechaisupapong,, *et al.*, (2012) minyak atsiri *Cymbopogon citratus* dikategorikan sebagai Inhibitor moderat sebagai penghambat pembentukan biofilm *Candida albicans*.

Penelitian yang dilakukan oleh Taweechaisupapong, *et al.*, (2012a) menyatakan bahwa ekstrak tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki beberapa senyawa antijamur seperti; *citral*, *limonene*, *citronellal*, β -*myrcene*, *linalool* dan *geraniol*. Senyawa *citral* menghambat *Candida albicans* pada fase *yeast* dan *mycelial*, *geraniol* menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan memiliki aktivitas antibiofilm. Berdasarkan uji fitokimia ditemukan metabolit aktif flavonoid, tanin, alkaloid. Flavonoid bekerja dengan mendenaturasi protein dan penghambatan pertumbuhan jamur melalui perusakan permeabilitas membran sel. Senyawa saponin bekerja dengan berinteraksi dengan membran sterol sel jamur dan kemampuannya merusak membran sel (Pangalinan dan Yamlean, 2012).

Perbedaan konsentrasi pada hasil penelitian disebabkan oleh berbagai mekanisme pertahanan *Candida albicans* dalam menghadapi *stress* yang

disebabkan pemberian ekstrak serai (McLaughlin dan Spatafora, 2014). Ekstrak serai mengandung berbagai macam mikronutrien penting seperti karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, seng, tembaga dan potasium yang dibutuhkan dalam pertumbuhan dan pertahanan hidup *Candida albicans* pada fase komensal maupun patogen. Zat besi yang terkandung dalam ekstrak serai merupakan komponen penting dalam berbagai enzim yang berperan dalam sintesis dan degradasi karbohidrat, lipid, protein dan asam nukleat serta metabolisme mikronutrien lain (McLaughlin dan Spatafora, 2014). Zat besi berperan menstabilkan komponen seluler, membran dan pemeliharaan integritas sel dan organ (Cannon *et al.*, 2007). *Candida albicans* dapat mengkompensasi gangguan yang disebabkan oleh terpenoid melalui jalur MAP kinase yang mengaktifkan remodeling dinding sel dengan melakukan influks kalsium dan fosfor pada ekstrak serai secara ekstraseluler melalui membran plasma yang membantu meregulasi siklus dan morfogenesis sel (Afrina *et al.*, 2017). *Candida albicans* beradaptasi terhadap senyawa alkaloid pada ekstrak dengan *Phenotype switching* dengan merubah morfologinya menjadi sel opak dengan ukuran lebih besar dan lebih elongasi (Sachikonye dan Mukanganyama, 2016). *Candida albicans* dapat menurunkan aktivitas ekstrak dengan pompa efluks. Efluks merupakan pemindahan senyawa toksik keluar dari sel, sehingga senyawa ekstrak serai tidak berakumulasi hingga dosis letal di dalam sel (Cannon *et al.*, 2007).

4.2.3. Pembentukan Biofilm

Nilai *ODcut off* yang dihitung dari kontrol negatif (*Media blank*) sebesar 0,2503. Rata – rata OD biofilm *Candida albicans* adalah 0,3175 merupakan nilai $OD_{cut} < OD \text{ Mikroba} \leq 2 \times OD_{cut}$. Maka dapat disimpulkan Biofilm *Candida albicans* pada penelitian ini merupakan *Weak Biofilm Former* (Kirmusaoğlu, 2019).

4.2.4. Uji Antibiofilm

Nilai OD ditentukan oleh kekeruhan sumuran. Semakin jernih sumuran setelah diberikan pewarna maka nilai OD yang dihasilkan semakin kecil. Tingkat kekeruhan menandakan biofilm yang terbentuk dalam sumuran (Chaerunisa, 2015). Berdasarkan formula persentasi penghambatan didapatkan bahwa semakin tinggi nilai OD larutan uji maka semakin rendah nilai presentase penghambatannya (Kawsud *et al.*, 2014). Nilai OD larutan uji dan kontrol positif lebih rendah dari nilai OD larutan kontrol negatif. Berdasarkan nilai absorbansi/OD, aktivitas paling baik untuk menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*

adalah 12,5% dengan OD 0,2880 memiliki presentase penghambatan 54,2%. Perbandingan OD kontrol negatif dengan Kontrol Positif didapatkan hasil 77,21%. Hal ini menandakan bahwa persentase penghambatan pada kontrol positif lebih optimum dibandingkan larutan uji konsentrasi ekstrak. Nilai presentase penghambatan oleh larutan ekstrak sebesar 12,5% mencapai syarat MBIC₅₀ yaitu konsentrasi penghambatan biofilm minimal sebesar 50% (Sahal *et al.*, 2020).

Hasil triplo nilai absorbansi kemudian dianalisis menggunakan uji statistik. Hasil uji normalitas *saphiro-wilk* digunakan karena subjek penelitian kurang dari 50, didapatkan hasil $p > 0,05$ pada setiap kelompok larutan uji yang menandakan bahwa semua data terdistribusi secara normal. Uji selanjutnya menggunakan *levene's test* untuk mengkalkulasi homogenitas data dan didapatkan hasil $p > 0,05$ pada setiap kelompok data memiliki variasi yang sama/homogen. Selanjutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA* dan didapatkan hasil $p < 0,05$ dengan signifikansi 0,000. Hasil *One-Way ANOVA* menunjukan bahwa terdapat perbedaan bermakna. Agar dapat mengetahui perbedaan antara kelompok maka dilakukan uji *Post-hoc Bonferroni*. Pada uji *Post-hoc Bonferroni* menunjukan ekstrak 12,5% memiliki nilai optimum yaitu 1,000 dibanding konsentrasi ekstrak lainnya. Pada hasil signifikansi ekstrak 12,5% dibandingkan kontrol positif adalah 0,537 sehingga tidak adanya perbedaan bermakna pada penghambatan pembentukan biofilm *Candida albicans*. Berdasarkan uji yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Konsentrasi 12,5% merupakan konsentrasi minimal penghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*.

Terdapat beberapa faktor yang menentukan konsentrasi ekstrak serai 12,5%. Adesi merupakan langkah pertama dalam membentuk biofilm. Pembentukan biofilm dipengaruhi oleh nutrisi lingkungan, pH, temperatur serta kandungan kimia dan fisika permukaan benda. Hidrofobisitas benda menjadi salah satu faktor penting dalam adesi mikroba dan/atau pembentukan biofilm. Ekstrak *Cymbopogon citratus* dapat merubah hidrofobisitas sel *Candida albicans*. Ekstrak *Cymbopogon citratus* memiliki komponen *Citronella* dan *geraniol* sebagai komposisi utama sebagai *Broad spectrum antifungal*. Bahan *Citronella* dan *geraniol* menginduksi perubahan dinding sel dan mengganggu membran sel menyebabkan sel ragi di dalam biofilm lisis (Sahal *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian Taweechaisupapong, *et al.*, (2012b) tanaman genus *Cymbopogon* memiliki banyak manfaat seperti antijamur dan menghambat

pertumbuhan biofilm. Tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki khasiat antibiofilm terhadap beberapa strain *Candida albicans* yang resisten terhadap antijamur, pengamatan pada mikroskop cahaya dan *Scanning electron Microscope* (SEM) menunjukkan adanya deformitas pada struktur biofilm yang terdapat ekstrak tanaman serai pada konsentrasi dibawah MIC.

Berdasarkan hasil ekstrak kloroform terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, aktivitas antibiofilm dipengaruhi oleh berbagai senyawa dan resistensi jamur *Candida albicans* diperantarai oleh berbagai mekanisme pertahanan. Oleh sebab itu, diperlukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa isolat yang berperan serta mekanismenya dalam menghambat pertumbuhan biofilm dan potensi penghancuran biofilm *Candida albicans* oleh ekstrak kloroform daun serai dapur (*Cymbopogon citratus*).



BAB V. SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Ekstrak kloroform daun serai dapur (*Cymbopogon citratus*) efektif dalam menghambat pembentukan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 pada konsentrasi 12,5%.

5.2 Saran

Mengembangkan penelitian dengan menguji aktivitas penghancuran biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 oleh ekstrak *Cymbopogon citratus*.



DAFTAR PUSTAKA

- Afrina, Nasution A I, dan Rahmania N. (2017). Konsentrasi Hambat dan Bunuh Minimum Ekstrak Serai (*Cymbopogon citratus*) Terhadap candida albicans. *Cakradonya Dent*, 9(1), 55–61.
- Al-Bukhaiti, W. Q., Noman, A., Qasim, A. S., dan Al-Farga, A. (2017). Gas Chromatography: Principles, Advantages and Applications in Food Analysis. *Analysis Article in International Journal of Science Innovations and Discoveries*, 6(1), 123–128. <https://www.researchgate.net/publication/342360886>
- Angraini Mery, Nazip, K., dan Meilinda. (2012). *Efektivitas Daya Anti Jamur Daun Salam (syzygium polyanthum W) terhadap pertumbuhan Jamur Candida Albicans dan Sumbangannya pada Pelajaran Biologi di SMA*.
- Balafif, F. F., Satari, M. H., dan Dhianawaty, D. (2017). *Aktivitas Antijamur Fraksi Air Sarang Semut Myrmecodia Pendens Pada Antifungal Activity of Ant Hill Myrmecodia Pendens Water Fraction against Candida Albicans ATCC 10231*. 49(1). <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.15395/mkb.v49n1.984>
- Berberi, A., Noujeim, Z., dan Aoun, G. (2015). Epidemiology of Oropharyngeal Candidiasis in Human Immunodeficiency Virus/Acquired Immune Deficiency Syndrome Patients and CD4+ Counts. *Journal of International Oral Health : JIOH*, 7(3), 20–23. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25878473> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC4385720>
- Bongomin, F., Gago, S., Oladele, R. O., dan Denning, D. W. (2017). Global and multi-national prevalence of fungal diseases—estimate precision. In *Journal of Fungi* (Vol. 3, Issue 4). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/jof3040057>
- Cannon, R. D., Lamping, E., Holmes, A. R., Niimi, K., Tanabe, K., Niimi, M., dan Monk, B. C. (2007). *Candida albicans drug resistance - Another way to cope with stress*. In *Microbiology* (Vol. 153, Issue 10, pp. 3211–3217). <https://doi.org/10.1099/mic.0.2007/010405-0>
- Chaerunisa, R. (2015). *Pengujian Aktivitas Penghancuran Biofilm Staphylococcus aureus Oleh Seduhan Daun Teh Putih (Camellia sinensis (L.) Kuntze)*.
- Chen, X. M., Li, Y. Y., dan Guo, S. X. (2013). *Candida albicans biofilms*. *Chinese Pharmaceutical Journal*, 48(19), 1629–1633. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002.Candida>
- Coronado-Castellote, L., dan Jiménez-Soriano, Y. (2013). Clinical and microbiological diagnosis of oral candidiasis. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 5(5), 279–286. <https://doi.org/10.4317/jced.51242>
- da Silva, N. B., Rangel, M. D. L., Castro, R. D. de, Lima, J. M. de, Castellano, L. R. C., Valenca, A. M. G., dan Cavalcanti, A. L. (2019). *Anti-Biofilm and Hemolytic Effects of Cymbopogon citratus (Dc) Stapf Essential Oil*. 19(1), 1–10. <https://doi.org/http://doi.org/10.4034/PBOCI.2019.191.103>
- Ewansiha J. U., Garba S. A., Mawak J. D., dan Oyewole O. A. (2013). Antimicrobial Activity of Cymbopogon Citratus (Lemon Grass) and It's Phytochemical Properties. *Frontiers in Science*, 2(6), 214–220. <https://doi.org/10.5923/j.fs.20120206.14>
- Fisher, K. N., Garmana, A. N., Aziz, N., Penulis, I., Neng, K., dan Kurniati, F. (2017). Aktivitas Antibakteri dan Antijamur Ekstrak Etanol Akar, Bunga dan Daun Turi (*Sesbania Grandiflora L. Poir*). *Acta Pharmaceutica Indonesia*, 42(1), 1–8.

- Fitria, A. (2018). The Bactericidal and Antibiofilm Activity of Stem Bark of *Jatropha multifida* L. Against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *JURNAL EKSAKTA*, 18(1), 42–55. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art5>
- Gulati, M., dan Nobile, C. J. (2017). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. 18(5), 310–321. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002.Candida>
- Hosida, T. Y., Cavazana, T. P., Henriques, M., Pessan, J. P., Delbem, A. C. B., dan Monteiro, D. R. (2018). Interactions between *Candida albicans* and *Candida glabrata* in biofilms: Influence of the strain type, culture medium and glucose supplementation. *Mycoses*, 61(4), 270–278. <https://doi.org/10.1111/myc.12738>
- Kawsud, P., Puripattanavong, J., dan Teanpaisan, R. (2014). Screening for anticandidal and antibiofilm activity of some herbs in Thailand. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(9), 1495–1501. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i9.16>
- Kirmusaoğlu, S. (2019). The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents. In *Antimicrobials, Antibiotic Resistance, Antibiofilm Strategies and Activity Methods*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.84411>
- Kojic, E. M., dan Darouiche, R. O. (2004). *Candida* Infections of Medical Devices. In *Clinical Microbiology Reviews* (Vol. 17, Issue 2, pp. 255–267). <https://doi.org/10.1128/CMR.17.2.255-267.2004>
- Kumar, A., dan Jha, A. (2017). Drug Development Strategies. In *Anticandidal Agents* (pp. 63–71). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-811311-0.00007-7>
- Luthfi, M., Kriswandini, I. L., dan Zaba, F. H. (2017). Synergistic effect of the combination of *Cinnamomum burmanii*, *vigna unguiculata*, and papain extracts derived from carica papaya latex against *C. albicans* biofilms degradation. *Dental Journal (Majalah Kedokteran Gigi)*, 49(2), 71. <https://doi.org/10.20473/j.djmk.v49.i2.p71-75>
- Madeira, P. L. B., Carvalho, L. T., Paschoal, M. A. B., de Sousa, E. M., Moffa, E. B., da Silva, M. dos S. A. S., Tavares, R. de J. R., dan Gonçalves, L. M. (2016). In vitro effects of lemongrass extract on *Candida albicans* biofilms, human cells viability, and denture surface. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 6(JUN), 1–9. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2016.00071>
- Magill, S. S., O’Leary, E., Janelle, S. J., Thompson, D. L., Dumyati, G., Nadle, J., Wilson, L. E., Kainer, M. A., Lynfield, R., Greissman, S., Ray, S. M., Beldavs, Z., Gross, C., Bamberg, W., Sievers, M., Concannon, C., Buhr, N., Warnke, L., Maloney, M., ... Edwards, J. R. (2018). Changes in prevalence of health care-associated infections in U.S. Hospitals. *New England Journal of Medicine*, 379(18), 1732–1744. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1801550>
- Manvitha, K., dan Bidya, B. (2014). Review on pharmacological activity of *Cymbopogon citratus*. *International Journal of Herbal Medicine*, 1(6), 5–7.
- McLaughlin, D. J., dan Spatafora, J. W. (2014). Systematics and evolution: Part A: Second edition. In *Systematics and Evolution: Part A: Second Edition*. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55318-9>
- Moran, C., Grussemyer, C. A., Spalding, J. R., Benjamin, D. K., dan Reed, S. D. (2009). *Candida albicans* and non-*albicans* bloodstream infections in adult and pediatric patients: Comparison of mortality and costs. *Pediatric Infectious*

- Disease Journal*, 28(5), 433–435.
<https://doi.org/10.1097/INF.0b013e3181920ffd>
- Muhamad, S. H. A., On, S., Sanusi, S. N. A., Hashim, A. A., dan Addinna Zai, M. H. (2019). Antioxidant activity of Camphor leaves extract based on variation solvent. *Journal of Physics: Conference Series*, 1349(1).
<https://doi.org/10.1088/1742-6596/1349/1/012102>
- Mulyati, Wahyuningsih, R., Widiastuti, dan Sjarifuddin, P. (2002). Isolasi Spesies Candida dari Tinja Penderita HIV/AIDS. *Makara Kesehatan*, 6(2), 50–54.
- Mutiawati, V. K. (2016). Pemeriksaan Mikrobiologi Pada Candida albicans. *Jurnal Kedokteran Syiah Kuala*, 16(1), 53–63.
- Nasution, D. L. (2017). The Effectivity of Lemongrass (*Cymbopogon Citratus*) Extract Against Porphyromonas Gingivalis ATCC® 33277™ (IN-VITRO). *International Dental Conference of Sumatera Utara 2017 (IDCSU 2017) The*, 8(IIdcsu 2017), 169–172.
- Nobile, C. J., dan Johnson, A. D. (2015). Candida albicans Biofilms and Human Disease . *Annual Review of Microbiology*, 69(1), 71–92.
<https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>
- O’Toole, G. A. (2010). Microtiter dish Biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, 47. <https://doi.org/10.3791/2437>
- Padilha, C. M. L., Picciani, B. L. S., Santos, B. M. dos, Silva, A., dan Dias, E. P. (2014). Comparative analysis of gram’s method and PAS for the identification of candida spp. samples from the oral mucosa. *Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial*, 50(5), 352–358. <https://doi.org/10.5935/1676-2444.20140039>
- Pangalanan, F. R., dan Yamlean, P. V. Y. (2012). Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Batang Rambutan (*Nephelium lappaceum L.*) Terhadap Jamur Candida Albicans Secara In Vitro.
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-Zeichner, L., Reboli, A. C., Schuster, M. G., Vazquez, J. A., Walsh, T. J., Zaoutis, T. E., dan Sobel, J. D. (2015). Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis: 2016 Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clinical Infectious Diseases*, 62(4), e1–e50.
<https://doi.org/10.1093/cid/civ933>
- Pratama, H. Y., Ernawati, dan Mahmud, N. R. A. (2018). Uji Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Pisang Kepok (*Musa paradisiaca x balbisiana*) Mentah Terhadap Pertumbuhan Bakteri Staphylococcus aureus Antibacterial Teest of *Musa paradisiaca x balbisiana* Peel Extract against the Growth of Staphylococcus aureus. *Sainsmat*, VII(2), 147–152. <http://ojs.unm.ac.id/index.php/sainsmat>
- Rachmawaty, F. J., Akhmad, M. M., Pranacipta, S. H., Nabila, Z., dan Muhammad, A. (2018). Optimasi Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum*) sebagai Antibakteri terhadap Bakteri Staphylococcus Aureus. *Mutiara Medika: Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 18(1).
<https://doi.org/10.18196/mm.180109>
- Sachikonye, M., dan Mukanganyama, S. (2016). Antifungal and Drug Efflux Inhibitory Activity of Selected Flavonoids Against Candida albicans and Candida krusei. *Journal of Biologically Active Products from Nature*, 6(3), 223–236. <https://doi.org/10.1080/22311866.2016.1231078>
- Sahal, G., Woerdenbag, H. J., Hinrichs, W. L. J., Visser, A., Tepper, P. G., Quax, W. J., van der Mei, H. C., dan Bilkay, I. S. (2020). Antifungal and biofilm inhibitory effect of Cymbopogon citratus (lemongrass) essential oil on biofilm

- forming by *Candida tropicalis* isolates; an in vitro study. *Journal of Ethnopharmacology*, 246. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112188>
- Sellam, A., dan Whiteway, M. (2016). Recent advances on *Candida albicans* biology and virulence. *F1000Research*, 5(0), 2582. <https://doi.org/10.12688/f1000research.9617.1>
- Shah, G., Shri, R., Panchal, V., Sharma, N., Singh, B., dan Mann, A. S. (2011). Scientific basis for the therapeutic use of *Cymbopogon citratus*, stapf (Lemon grass). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research*, 2(1), 3–8. <https://doi.org/10.4103/2231-4040.79796>
- Singh, A., Verma, R., Murari, A., dan Agrawal, A. (2014). Oral candidiasis: An overview. *Journal of Oral and Maxillofacial Pathology*, 18(5), 81–85. <https://doi.org/10.4103/0973-029X.141325>
- Staib, P., dan Morschhäuser, J. (2007). Chlamydospore formation in *Candida albicans* and *Candida dubliniensis* - An enigmatic developmental programme. *Mycoses*, 50(1), 1–12. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2006.01308.x>
- Stankovic, M. S., Niciforovic, N., Topuzovic, M., dan Solujic, S. (2011). Total phenolic content, flavonoid concentrations and antioxidant activity, of the whole plant and plant parts extracts from *Teucrium montanum* L. var. *montanum*, f. *supinum* (L.) reichenb. *Biotechnology and Biotechnological Equipment*, 25(1), 2222–2227. <https://doi.org/10.5504/bbeq.2011.0020>
- Stringaro, A., Vavala, E., Colone, M., Pepi, F., Mignogna, G., Garzoli, S., Cecchetti, S., Ragno, R., dan Angiolella, L. (2014). Effects of mentha suaveolens essential oil alone or in combination with other drugs in *Candida albicans*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/125904>
- Sukma P., Mamat R., Ai D., dan Gustira R. (2012). Uji Efektivitas Serai Dapur (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans* Metode Makrodilusi. *Jurnal Riset Kesehatan Poltekkes Kemenkes Bandung*, 11(2), 267–273.
- Takahashi, C., Saito, S., Suda, A., Ogawa, N., Kawashima, Y., dan Yamamoto, H. (2015). Antibacterial activities of polymeric poly(dl-lactide-co-glycolide) nanoparticles and Soluplus® micelles against *Staphylococcus epidermidis* biofilm and their characterization. *RSC Advances*, 5(88), 71709–71717. <https://doi.org/10.1039/c5ra13885j>
- Taweechaisupapong, S., Aieamsaard, J., Chitropas, P., dan Khunkitti, W. (2012). Inhibitory effect of lemongrass oil and its major constituents on *Candida* biofilm and germ tube formation. *South African Journal of Botany*, 81, 95–102. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2012.06.003>
- Taweechaisupapong, S., Ngaonee, P., Patsuk, P., Pitiphat, W., dan Khunkitti, W. (2012). Antibiofilm activity and post antifungal effect of lemongrass oil on clinical *Candida dubliniensis* isolate. *South African Journal of Botany*, 78, 37–43. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2011.04.003>
- Thompson, D. S., Carlisle, P. L., dan Kadosh, D. (2011). Coevolution of morphology and virulence in *Candida* species. *Eukaryotic Cell*, 10(9), 1173–1182. <https://doi.org/10.1128/EC.05085-11>
- Tiwari, P., Kumar, B., Kaur, mandeep, Kaur, G., dan kaur, H. (2011). Phytochemical screening and Extraction: A Review. *Internationale Pharmaceutica Scientia*, 1(1), 98–106. <http://www.ipharmsciencia.com>
- Tsay, S., Williams, S., Mu, Y., Epton, E., Johnson, H., Farley, M. M., Harrison, L. H., Vonbank, B., Shrum, S., Dumyati, G., Magill, S., dan Vallabhaneni, S.

- (2018). National Burden of Candidemia, United States, 2017. *Fungal Disease: Management and Outcomes*, 32(Suppl 1), 43–43.
- Tsui, C., Kong, E. F., dan Jabra-Rizk, M. A. (2016). Pathogenesis of *Candida albicans* biofilm. *Pathogens and Disease*, 74(4), ftw018. <https://doi.org/10.1093/femspd/ftw018>
- Vivian, M., dan Elizabeth, N. M. (2013). Mycological Findings of Sputum Samples from Pulmonary Tuberculosis Patients Attending TB Clinic in Nairobi, Kenya. *Virology dan Mycology*, 02(03). <https://doi.org/10.4172/2161-0517.1000119>
- Wahjono, H. (2007). *Peran Mikrobiologi Klinik pada Penanganan Penyakit Infeksi*.
- Wanger, A., Chavez, V., Huang, R. S. P., Wahed, A., Actor, J. K., dan Dasgupta, A. (2017). Biochemical Tests and Staining Techniques for Microbial Identification. In *Microbiology and Molecular Diagnosis in Pathology* (pp. 61–73). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-805351-5.00005-3>
- Weerasekera, M. M., Wijesinghe, G. K., Jayarathna, T. A., Gunasekara, C. P., Fernando, N., Kottegoda, N., dan Samaranayake, L. P. (2016). Culture media profoundly affect *Candida Albicans* and *Candida tropicalis* growth, adhesion and biofilm development. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 111(11), 697–702. <https://doi.org/10.1590/0074-02760160294>
- World Health Organization. (2003). *WHO Traditional Medicine Strategy 2002 - 2005*.
- Yahaya, H., Sharif, A. A., dan Leslie, T. L. T. (2018). *Candida albicans* interdigital foot infection: A case report highlighting the importance of antifungal susceptibility testing. *African Journal of Microbiology Research*, 12(36), 889–896. <https://doi.org/10.5897/ajmr2018.8897>
- Yeşil, Y., dan Akalin, E. (2015). Comparative morphological and anatomical characteristics of the species known as lemongrass (*limonotu*): *Melissa officinalis* L., *Cymbopogon citratus* (DC) Stapf, and *Aloysia citriodora* Palau. *Journal of Pharmacy of Istanbul University*, 45(1), 29–37.
- Zhang, Q. (2018). Global situation and WHO strategy on traditional medicine. *Traditional Medicine and Modern Medicine*, 01(01), 11–13. <https://doi.org/10.1142/s257590001820001x>

NASKAH PUBLIKASI

PENDAHULUAN

Candidiasis merupakan penyakit yang disebabkan oleh spesies jamur dari genus *Candida sp.* Terdapat banyak spesies dari genus *Candida*, namun umumnya spesies penyebab *Candidiasis* adalah *Candida albicans*. *Candida albicans* merupakan organisme yang umum terdapat di kavitas orofaringeal, gastrointestinal, dan vagina manusia, tetapi dapat menjadi organisme oportunistik pada keadaan terganggunya flora normal, rusaknya barrier mukosa atau defek mekanisme imunitas (Pappas *et al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan di Rumah Sakit *Duke University of Medical Center* dari Februari tahun 1996 hingga Juli 2007 menunjukkan mortalitas kandidemia oleh *Candida albicans* pada bayi 38,5%, anak 18,2%, dan dewasa 41,5% (Tsay *et al.*, 2018).

Penelitian Tsay *et al.*, (2018) menunjukan kandidemia merupakan salah satu penyakit infeksi sistemik paling umum di Amerika Serikat. Pada tahun 2013 hingga 2017, perkiraan insidensi mencapai 9 dari 100.000 orang dengan perkiraan terdapat 25.000 kasus baru kandidemia terjadi setiap tahunnya berdasarkan data statistik (Berberi A., Noujeim, Z. dan Aoun, G., 2015). Tiga puluh lima dari lima puluh pasien HIV – AIDS mengidap *Candidiasis* dengan lima macam bentuk klinis yaitu pseudomembran kandidiasis (52,6%), eritematosa (13,15%), *angular cheilitis* (13,15%), kombinasi *angular cheilitis* dan eritematosa (10,52%) dan kombinasi ketiga bentuk klinis (10,52%) (Nobile dan Johnson., 2015).

Biofilm dapat tumbuh di alat implan medis seperti kateter intra vaskular, kateter dialisa, kateter urin, *pacemaker*, katup prostetik, *implantable cardioverter defibrillators* dan sendi prostetik. Biofilm *Candida* memiliki resistensi tinggi terhadap obat antijamur. Pemberian obat antijamur dosis tinggi dan mencabut implan prostetik diperlukan untuk mengobati infeksi. Prosedur pencabutan implan prostetik membutuhkan biaya besar, berbahaya dan pemberian antijamur dosis tinggi dapat menyebabkan komplikasi seperti kerusakan hati dan ginjal (Nobile dan Johnson, 2015). Obat yang lebih baik diperlukan untuk menangani infeksi yang berhubungan dengan biofilm *Candida albicans* (Zhang, 2018).

Berdasarkan penelitian oleh (Shah *et al.*, 2011) menyatakan bahwa lebih dari 80% orang di Afrika menggunakan obat tradisional, terutama untuk

pengobatan primer. Obat herbal lebih sering digunakan karena lebih mudah diakses, harga terjangkau dan mencakup *Universal Health Coverage* (UHC). *Cymbopogon citratus* merupakan tanaman yang banyak digunakan untuk berbagai aspek kehidupan seperti bahan makanan dan terapi. *Cymbopogon citratus* memiliki banyak manfaat diantaranya sebagai antiamuba, antibakterial, antijamur, antidiare, antilarial, dan antiinflamatori (Madeira *et al.*, 2016).

Ekstraksi tanaman dilakukan untuk memisahkan komponen aktif tanaman dengan komponen tidak aktif/ampas menggunakan pelarut selektif. Saat proses ekstraksi terjadi, senyawa aktif dari tanaman akan terlarut sesuai dengan polaritas yang sama. Produk hasil ekstraksi tersusun dari komponen metabolit tanaman seperti alkaloid, glikosida, terpenoid, flavonoid dan lignan. Komponen metabolit tanaman dapat di ambil dari bagian tumbuhan seperti daun, bunga, akar, buah dan biji. Pelarut kloroform pelarut semi polar dapat melarutkan tanin, flavonoid dan terpenoid lakton karena sifat senyawa yang kurang polar (Tiwari *et al.*, 2011).

Penelitian ini dilakukan karena belum adanya penelitian yang menguji tentang manfaat ekstrak *Cymbopogon citratus* dengan pelarut kloroform sebagai antibiofilm terhadap *Candida albicans*. Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Sellam dan Whiteway, (2016) diketahui bahwa ekstrak etanol tanaman *Cymbopogon citratus* efektif mengurangi biofilm *Candida albicans*. Penelitian oleh Singh *et al.*, (2014) menyatakan bahwa lima bahan aktif yang berasal dari minyak esensial tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki aktivitas antibiofilm pada *Candida albicans* dan *Streptococcus mutant*.

METODE PENELITIAN

Jenis dan desain penelitian

Penelitian ini adalah uji eksperimental secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post-test control group design*. Uji efektivitas ekstrak serai (*Cymbopogon citratus*) terhadap pertumbuhan biofilm *Candida albicans* ATCC 10231. Uji antibiofilm menggunakan metode *Microtiter Plate Biofilm Assay* secara triplo (Fitria, 2018; O'Toole, 2010).

Waktu dan Tempat Penelitian

Proses determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada dan proses ekstraksi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Islam Indonesia. Uji antibiofilm *Candida albicans* ATCC 10231 dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia, Yogyakarta. Penelitian dilaksanakan pada Agustus 2020 – September 2020.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat – alat yang digunakan dalam penelitian ini di antaranya; timbangan, *cabinet dryer*, *miller device*, sendok pengaduk, *rotatory vaccum evaporator*, *waterbath*, *Laminar Air Flow* (LAF), gelas beaker, tabung erlenmeyer, desikator, penyaring bubuk, tabung reaksi, ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, inkubator, bunsen, mikropipet, vial, mikroskop, lidi steril, cawan petri, *microtitter plate 96-well flat bottom* (Iwaki®). Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini adalah jamur *Candida albicans* ATCC 10231, Media Sabouraud's dextrose agar (SDA), Medium Sabouraud's dextrose Broth (SDB), Phosphate Buffered Saline (PBS), Akuades, Crystal Violet 0.1%, Asam asetat 33%, daun Serai (*Cymbopogon citratus*), Kloroform, Cat Gram, Kalium Hidroksida (KOH), Lactophenol Cotton Blue (LPCB).

Pembuatan Ekstrak Daun Serai Dapur dan Uji Fitokimia

Daun Serai Dapur didi potong pada bagian pseudo batang dan dicuci. Proses Ekstraksi dimulai dari perajangan sampel, pengeringan sampel di *cabinet dryer*, penyerbukan menggunakan *miller device*, simplisia kering dimaserasi dengan pelarut kloroform, penyaringan, penguapan dan pengemasan. Setelah didapatkan ekstrak, kemudian diuji fitokimia.

Purifikasi dan karakterisasi Jamur

Purifikasi dan karakterisasi jamur dilakukan dengan menginokulasi jamur uji pada media *Sabouraud Dextrose Agar*, Pewarnaan Gram, Pewarnaan KOH, Pewarnaan LPCB (Mutiawati, 2016).

Penentuan Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum

Uji antijamur menggunakan suspensi jamur pada mikroplate dan ditambah ekstrak dengan konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, 6,25% dibandingkan dengan kontrol positif (Nistatin 100.000 IU), kontrol negatif (suspensi jamur) dan kontrol media yang dilakukan secara triplo (Fisheri *et al.*, 2017; Pangalinan dan Yamlean, 2012).

Uji deteksi produksi biofilm *Candida albicans* ATCC 10231

Uji Deteksi Biofilm dilakukan dengan metode *Microtiter Plate Assay*. MtP merupakan metode kuantitatif untuk menentukan produksi biofilm menggunakan *Microplate Reader ELISA*. Kontrol Negatif merupakan sumuran yang berisi media dan digunakan sebagai nilai blank. Nilai OD blank digunakan untuk mengidentifikasi pembentukan biofilm pada mikroba. $OD_{cut\ off}$ dikalkulasi dengan formula pertama ($OD_{cut\ off} = OD_{rata-rata\ kontrol\ negatif} + [3 \times standar\ deviasi\ OD_{kontrol\ negatif}]$) dan dilanjutkan mengkalkulasi OD mikroba dengan formula kedua ($OD_{Mikroba} = Rata-rata\ OD\ mikroba - OD_{cutt\ off}$). Hasil dari formula kedua di interpretasikan sebagai produksi biofilm *Candida albicans* (Kirmusaoğlu, 2019).

Uji Kemampuan Antibiofilm

Uji antibiofilm menggunakan metode mikrodilusi dengan pengenceran secara serial menggunakan *Microplate Flat-Bottomed*. Kelompok diberikan konsentrasi 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625% dan di inkubasi selama dua hari serta pengulangan secara triplo. Cairan hasil inkubasi pada mikroplate kemudian dibuang dengan cara membalikan mikroplate. Mikroplate dicuci menggunakan *Phosphate Buffer saline* sebanyak dua kali, proses ini bertujuan mencuci sel yang tidak menempel pada mikroplate. Masukkan larutan *Crystal Violet* 0,1% sebanyak 125 µL ke dalam sumuran dan diinkubasi selama 10 – 15 menit. Bilas mikroplate dengan akuades sebanyak tiga sampai empat kali. Tambahkan 125 µL asam asetat 30% pada mikrotiter yang telah diwarnai *Crystal violet* 0.1% (Takahashi *et al.*, 2015). Untuk uji kuantitatif, lakukan pembacaan di ELISA dengan panjang gelombang 625 mn (Luthfi *et al.*, 2017).

Metode Analisis Data

Pada Hasil penelitian, data yang sudah didapatkan dianalisis menggunakan SPSS. Penghambatan pembentukan biofilm didapatkan dari hasil pembacaan *Microplate Reader* berupa nilai *Optical Density* (OD). Data tersebut diuji menggunakan *Saphiro-Wilk* untuk mengetahui normalitas data dan *Levene's Test* untuk mengetahui homogenitas data. Hasil menunjukkan ($p > 0,05$), menunjukkan data homogen dan terdistribusi normal. Uji selanjutnya menggunakan *One-Way ANOVA* untuk melihat perbedaan bermakna pada uji antibiofilm. Hasil Uji *One-Way ANOVA* didapatkan hasil ($p < 0,05$) yang menandakan terdapat perbedaan signifikan. Untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang memiliki perbedaan bermakna, dilakukan uji *post-hoc Bonferroni*.

Etika Penelitian

Penelitian diajukan ke Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia. Penelitian yang dilakukan mendapat persetujuan dari Komite Etik dengan nomor **45/Ka.Kom.Et/70/KE/III/2020**.

HASIL

Berdasarkan hasil determinasi pada 28 Agustus 2020 membuktikan bahwa tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Cymbopogon citrates* (DC.) *Stap* dengan sinonim *Andropogon cintratus* DC. Dari 1.000 gram bahan sampel didapatkan ekstrak seberat 13.3248 gram. Hasil Uji fitokimia menunjukkan ekstrak memiliki bahan aktif flavonoid, alkaloid, saponin dan polifenol. Hasil purifikasi dan karakterisasi jamur yang tumbuh pada media *Sabouraud Dextrose Broth* tumbuh jamur berwarna putih kekuningan, Pengecatan gram menunjukkan gambaran sel ragi berbentuk bulat, Pemberian Kalium Hidroksida memberikan gambaran sel ragi dan pengecatan LPCB (*Lactophenol Cotton Blue*) menunjukkan gambaran sel *Pseudohifa* dan sel ragi berwarna ungu pada mikroskop.

Hasil uji antijamur pada cawan petri nomor satu (konsentrasi 50%) dan nomor dua (konsentrasi 25%) tampak jernih serta tidak terdapat pertumbuhan lapisan putih pada media agar. Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh cawan petri nomor tiga (konsentrasi 6,25%), nomor empat (konsentrasi 3,125%) dan nomor lima (konsentrasi 1,5625%) terdapat gumpalan putih yang menandakan pertumbuhan

jamur *Candida albicans*. Hasil Uji Pembentukan Biofilm jamur *Candida albicans* didapatkan Nilai Absorbansi/OD biofilm *Candida albicans* dan media blanko pada **tabel 1** serta Uji antibiofilm pada **tabel 2**.

Tabel 1. Nilai Absorbansi/OD Pembentukan Biofilm

Agen	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3	Rata-rata	Std. deviasi
Media Blanko	0,1181	0,1245	0,1842	0,1423	0,03645
<i>Candida albicans</i>	0,6355	0,5940	0,4738	0,5678	0,08398

Data primer peneliti.

Tabel 2. Densitas Optik Penghambatan Biofilm *Candida albicans*

Uji	Absorbansi			Rata – rata	% Penghambatan
	1	2	3		
12,5%	0,2719	0,2509	0,3411	0,2880	54,2498
6,25%	0,3893	0,2724	0,4396	0,3671	41,6777
3,125%	0,5297	0,6203	0,4374	0,5291	15,9349
1,562%	0,6092	0,4500	0,6258	0,5617	10,7663
Kontrol Positif	0,1295	0,1316	0,1691	0,1434	77,2176
Kontrol Media	0,0826	0,0793	0,0819	0,0813	
Kontrol Negatif	0,6617	0,5326	0,6940	0,6294	

Data primer peneliti.

Ketiga data triplo dihitung menggunakan uji normalitas *saphiro-Wilk* didapatkan nilai $p > 0,05$ pada setiap kelompok uji yang artinya data terdistribusi normal. Analisis hasil kemudian diuji homogenitas didapatkan nilai $p > 0,05$ maka data homogen. Analisis hasil selanjutnya uji *One-way ANOVA* didapatkan nilai $p < 0,05$ artinya kelompok berbeda secara signifikan. Oleh karena uji *One-Way ANOVA* signifikan, Maka dilakukan analisa *Post-hoc Bonferroni* dan Hasil Uji *Post-hoc* menunjukkan perbedaan signifikan pada kelompok konsentrasi 12,5% dengan konsentrasi 3,125%, Konsentrasi 12,5% dengan 1,5625%, Konsentrasi 12,5% dengan Kontrol Media, Konsentrasi 12,5% dengan Kontrol Negatif. Nilai hasil uji dapat diamati pada **tabel 3**.

Tabel 3. Hasil Analisis *Post-Hoc* Jenis *Bonferroni*

	E12,5%	E6,25%	E3,125%	E1,5625%	KP	KM	KN
E12,5%	-	1,000	0,020	0,007	0,537	0,064	0,001
E6,25%	1,000	-	0,298	0,098	0,036	0,005	0,010
E3,125%	0,020	0,298	-	1,000	0,000	0,000	1,000
E1,5625%	0,007	0,098	1,000	-	0,000	0,000	1,000
KP	0,537	0,036	0,000	0,000	-	1,000	0,000
KM	0,064	0,005	0,000	0,000	1,000	-	0,000
KN	0,001	0,010	1,000	1,000	0,000	0,000	-

Keterangan: E = Konsentrasi Ekstrak; KP = Kontrol Positif; KM = Kontrol Media ; KN = Kontrol Negatif.

PEMBAHASAN

Pengamatan makroskopis dilakukan dengan mengkultur jamur pada medium *Sabouroud Dextrose Agar* sebagai media selektif pertumbuhan jamur (Mutiawati, 2016). Koloni *Candida albicans* dapat dilihat berwarna putih kekuningan, menimbulkan di atas permukaan media, memiliki permukaan yang halus dan licin dan dapat agak keriput dengan aroma ragi yang khas (Mutiawati, 2016). Gambaran pada larutan KOH *Candida albicans* memiliki gambaran *Budding yeast cells* dan pseudohifa (Yahaya *et al.*, 2018). Gambaran *Candida albicans* pada pewarnaan gram dapat diidentifikasi sekumpulan jamur dalam bentuk *budding yeast*, *Pseudomycelium*, hifa, *pseudohifa* dan *blastospora* (Vivian dan Elizabeth, 2013). Gambaran *Candida albicans* pada pewarnaan LPCB tampak adanya sel ragi dengan atau tanpa *pseudohifa* (Fisheri *et al.*, 2017).

Berdasarkan hasil pengujian antijamur pada mikroplate diperoleh konsentrasi 25% sebagai konsentrasi bunuh minimum (KBM). Penentuan kadar KBM mendasar kepada kejernihan sumuran pada konsentrasi 25% dibanding kontrol negatif setelah inkubasi 24 jam dan tidak adanya pertumbuhan koloni jamur pada cawan petri nomor dua setelah inkubasi 24 jam (da Silva *et al.*, 2019).

Konsentrasi 12,5% merupakan konsentrasi hambat minimum (KHM) dari senyawa ekstrak yang mampu menghambat pertumbuhan koloni jamur sehingga sumuran lebih jernih dibanding kontrol negatif tetapi masih terdapat pertumbuhan koloni jamur pada cawan petri nomor tiga. Berdasarkan hasil eksperimen didapatkan konsentrasi hambat minimum ekstrak daun *Cymbopogon citratus* adalah 12,5% (Afrina *et al.*, 2017).

Hasil Konsentrasi penghambatan lebih baik dari penelitian yang dilakukan oleh (Afrina *et al.*, 2017) menggunakan ekstrak metanol didapatkan konsentrasi hambat minimum pada 25% dan konsentrasi bunuh minimum pada 100%. Namun, daya hambat ekstrak kloroform masih kurang dibanding penelitian yang dilakukan oleh Sukma P. *et al.*, (2012) yang menggunakan ekstrak metanol didapatkan konsentrasi hambat minimum *Cymbopogon citratus* sebesar 0,4%.

Penelitian yang dilakukan oleh (Taweechaisupapong, *et al.*, 2012) menyatakan bahwa ekstrak tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki beberapa senyawa antijamur seperti; *citral*, *limonene*, *citronellal*, β -*myrcene*, *linalool* dan *geraniol*. Senyawa *citral* menghambat *Candida albicans* pada fase *yeast* dan *mycelial*, *geraniol* menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan memiliki aktivitas antibiofilm. Berdasarkan uji fitokimia ditemukan metabolit aktif flavonoid, tanin, alkaloid. Flavonoid bekerja dengan mendenaturasi protein dan penghambatan pertumbuhan jamur melalui merusak permeabilitas membran sel. Senyawa saponin bekerja dengan berinteraksi dengan membran sterol dan kemampuannya merusak membran sel jamur (Pangalinan dan Yamlean, 2012).

Perbedaan konsentrasi pada hasil penelitian disebabkan oleh berbagai mekanisme pertahanan *Candida albicans* dalam menghadapi *stress* yang disebabkan pemberian ekstrak serai (McLaughlin dan Spatafora, 2014). Ekstrak serai mengandung berbagai macam mikronutrien penting seperti karbohidrat, kalsium, fosfor, zat besi, seng, tembaga dan potasium yang dibutuhkan dalam pertumbuhan dan pertahanan hidup *Candida albicans* pada fase komensal maupun patogen. Zat besi yang terkandung dalam ekstrak serai merupakan komponen penting dalam berbagai enzim yang berperan dalam sintesis dan degradasi karbohidrat, lipid, protein dan asam nukleat serta metabolisme mikronutrien lain (McLaughlin dan Spatafora, 2014). *Candida albicans* dapat mengkompensasi gangguan yang disebabkan oleh terpenoid melalui jalur MAP kinase yang mengaktifkan remodeling dinding sel dengan melakukan influx kalsium dan fosfor pada ekstrak serai secara ekstraseluler melalui membran plasma yang membantu meregulasi siklus dan morfogenesis sel (Afrina *et al.*, 2017).

Nilai OD ditentukan oleh kekeruhan sumuran. Semakin jernih sumuran setelah diberikan pewarna maka nilai OD yang dihasilkan semakin kecil. Tingkat kekeruhan menandakan biofilm yang terbentuk dalam sumuran (Chaerunisa,

2015). Nilai *ODcut off* yang dihitung dari kontrol negatif (*Media blank*) sebesar 0,2503. Rata – rata OD biofilm *Candida albicans* adalah 0,3175 merupakan nilai $OD_{cut} < OD \text{ Mikroba} \leq 2x \text{ } OD_{cut}$. Maka dapat disimpulkan Biofilm *Candida albicans* pada penelitian ini merupakan *Weak Biofilm Former* (Kırmusaoğlu, 2019). Nilai OD larutan uji dan kontrol positif lebih rendah dari nilai OD larutan kontrol negatif. Berdasarkan nilai absorbansi/OD, aktivitas paling baik untuk menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans* adalah 12,5% dengan OD 0,2880 memiliki presentase penghambatan 54,2%. Perbandingan OD kontrol negatif dengan Kontrol Positif didapatkan hasil 77,21%. Hal ini menandakan bahwa persentase penghambatan pada kontrol positif lebih optimum dibandingkan larutan uji konsentrasi ekstrak. Nilai presentase penghambatan oleh larutan ekstrak sebesar 12,5% mencapai syarat $MBIC_{50}$ yaitu konsentrasi penghambatan biofilm minimal sebesar 50% (Sahal *et al.*, 2020).

Hasil triplo nilai absorbansi kemudian dianalisis menggunakan uji statistik. Hasil uji normalitas *saphiro-wilk* digunakan karena subjek penelitian kurang dari 50, didapatkan hasil $p > 0,05$ pada setiap kelompok larutan uji yang menandakan bahwa semua data terdistribusi secara normal. Uji selanjutnya menggunakan *levne's test* untuk mengkalkulasi homogenitas data dan didapatkan hasil $p > 0,05$ pada setiap kelompok data memiliki variasi yang sama/homogen. Selanjutnya dilakukan uji *One-Way ANOVA* dan didapatkan hasil $p < 0,05$ dengan signifikansi 0,000. Hasil *One-Way ANOVA* menunjukan bahwa terdapat perbedaan bermakna. Agar dapat mengetahui perbedaan antara kelompok maka dilakukan uji *Post-hoc Bonferroni*. Pada uji *Post-hoc Bonferroni* menunjukan ekstrak 12,5% memiliki nilai optimum yaitu 1,000 dibanding konsentrasi ekstrak lainnya. Pada hasil signifikansi ekstrak 12,5% dibandingkan kontrol positif adalah 0,537 sehingga tidak adanya perbedaan bermakna pada penghambatan pembentukan biofilm *Candida albicans*. Berdasarkan uji yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa Konsentrasi 12,5% merupakan konsentrasi minimal penghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*.

Terdapat beberapa faktor yang menentukan konsentrasi ekstrak serai 12,5%. Adesi merupakan langkah pertama dalam membentuk biofilm. Pembentukan biofilm dipengaruhi oleh nutrisi lingkungan, pH, temperatur serta kandungan kimia dan fisika permukaan benda. Hidrofobisitas benda menjadi salah satu faktor penting dalam adesi mikroba dan/atau pembentukan biofilm. Ekstrak *Cymbopogon*

*citratu*s dapat merubah hidrofobisitas sel *Candida albicans*. Ekstrak *Cymbopogon citratus* memiliki komponen *Citronella* dan *geraniol* sebagai komposisi utama sebagai *Broad spectrum antifungal*. Bahan *Citronella* dan *geraniol* menginduksi perubahan dinding sel dan mengganggu membran sel menyebabkan sel ragi di dalam biofilm lisis (Sahal *et al.*, 2020).

Berdasarkan hasil penelitian Taweechaisupapong, *et al.*, (2012) tanaman genus *Cymbopogon* memiliki banyak manfaat seperti antijamur dan menghambat pertumbuhan biofilm. Tanaman *Cymbopogon citratus* memiliki khasiat antibiofilm terhadap beberapa strain *Candida albicans* yang resisten terhadap antijamur, pengamatan pada mikroskop cahaya dan *Scanning electron Microscope* (SEM) menunjukkan adanya deformitas pada struktur biofilm yang terdapat ekstrak tanaman serai pada konsentrasi dibawah MIC.

Berdasarkan hasil ekstrak kloroform terhadap *Candida albicans* ATCC 10231, aktivitas antibiofilm dipengaruhi oleh berbagai senyawa dan resistensi jamur *Candida albicans* diperantarai oleh berbagai mekanisme pertahanan. Oleh sebab itu, diperlukannya penelitian lebih lanjut untuk mengetahui senyawa isolat yang berperan serta mekanismenya dalam menghambat pertumbuhan biofilm dan potensi penghancuran biofilm *Candida albicans* oleh ekstrak kloroform serai dapur (*Cymbopogon citratus*).

UCAPAN TERIMAKASIH

Terima Kasih saya ucapkan kepada dosen, orang tua peneliti dan kawan – kawan khususnya mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia yang telah mendukung serta mendoakan peneliti sehingga dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan Naskah Publikasi Ini.

SIMPULAN DAN SARAN

Simpulan

Ekstrak kloroform daun serai dapur (*Cymbopogon citratus*) efektif penghambatan pembentukan biofilm *Candida albicans* yang setara dengan kontrol positif dengan *Minimum Biofilm Inhibitory Concentration* (MBIC₅₀) pada konsentrasi 12,5%.

Saran

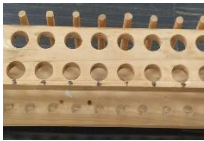







Mengembangkan penelitian dengan menguji aktivitas penghancuran biofilm *Candida albicans* ATCC 10231 oleh ekstrak *Cymbopogon citratus*.



Lampiran

Lampiran I. Gambar Alat dan Bahan Penelitian

			
Aquades	Asam Asetat 30%	Tabung Reaksi	Korek
			
Vortex	Autoklaf	Gelas Ekstrak	Bunsen
			
Kristal violet	Mikroplate Reader ELISA	Komputer	Inkubator
			
Oven	96-Wells Microplate Flat-Bottomed	Mikrotip 100 µL	Mikrotip 1 mL
			
Mikroskop	Multichanel Pippet	Neraca Analitik	Antijamur (Nistatin 100.000 IU)
			
Phospate Buffer Saline	Sabouraud Dextrose Agar	Sabouraud Dextrose Broth	Rak Besi Tabung Reaksi

 <p>Rak Kayu Tabung Reaksi</p>	 <p><i>Candida albicans</i></p>	 <p>Ose</p>	 <p>Cat Gran</p>
 <p>Desikator</p>	 <p>Lemari Pendingin</p>	 <p>Kalium Hidroksida 10%</p>	 <p>Lactophenol Cotton Blue</p>



Lampiran II. Minimum Information Guideline for Spectrofotometric and Fluorometric Methods to Assess Biofilm Formation in Microplates (Ailjka et al., 2020)

Journal Pre-proof			
	<i>Staphylococcus aureus</i> spp.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> spp.	<i>Candida albicans</i>
Inoculum preparation			
Media	TSB, TSB wS*, LBb**, Water ^{8,11,18,36-41}	TSB, TSB wS*, LBb**, LB**, BHI**, MHI**, T-broth**, AB* ^{8,42-49}	YNB**, YPD**, RPMI-1640**, SDB** ^{8,50-57}
Inoculum incubation temperature (°C)	35-37 ^{8,11,18,36-41}	25-37 ^{8,42-49}	30-37 ^{8,50-57}
Incubation time (hours)	0***-24 ^{8,11,18,36-41}	0***-24 ^{8,42-49}	12-24 ^{8,50-57}
Inoculum shaking conditions	0-200 rpm/min ^{8,11,18,36-41}	0-250 rpm/min ^{8,42-49}	0-200 rpm/min, Roller drum ^{8,50-57}
Inoculum concentration / OD / growth phase at harvest	10 ³ -10 ⁸ CFU/mL, 0.5 McFarland, OD _{600nm} =0.1 ^{8,11,18,36-41}	10-10 ⁸ CFU/mL, OD _{600nm} =0.0025, OD ₅₉₅ =1.5 ^{8,42-49}	10 ⁴ -10 ⁸ CFU/mL, OD _{600nm} =1 ^{8,50-57}
Biofilm growth			
Media	TSB, LB**, BHI** ^{8,11,18,36-41}	TSB, T-broth**, AB**, BHI**, MHI** ^{8,42-49}	YNB**, YPD**, RPMI-1640**, ASM**, SDB**, PBS**** ^{8,50-57}
Incubation temperature (°C)	35-37 ^{8,11,18,36-41}	25-37 ^{8,42-49}	37 ^{8,50-57}
Incubation time (hours)	18-48 ^{8,11,18,36-41}	2-48 ^{8,42-49}	2-48 ^{8,50-57}
Shaking conditions	0-200 rpm/min ^{8,11,18,36-41}	0-180 rpm/min ^{8,42-49}	0-120 rpm/min ^{8,50-57}
Biofilm Assessment			
Washing agent	Water, Saline, PBS****, MilliQ water ^{8,11,18,36-41}	Saline, Water, PBS**** ^{8,42-49}	PBS****, Water, Saline ^{8,50-57}
Washing (x times)	1-3 ^{8,11,18,36-41}	1-3 ^{8,42-49}	1-3 ^{8,50-57}
Crystal violet concentration	0.01-2.3 % ^{8,11,18,36-41}	0.1-2 % ^{8,42-49}	0.02-1 % ^{8,50-57}
Staining time	1-20 min ^{8,11,18,36-41}	5-30 min ^{8,42-49}	5-45 min ^{8,50-57}
Solubilisation agent	33 % acetic acid, 95-100 % ethanol ^{8,11,18,36-41}	30-33 % acetic acid, 95-100 % ethanol, DMSO**** ^{8,42-49}	30-33% acetic acid, 95 % ethanol, 0.1% Triton-X ^{8,50-57}
Absorbance wavelength (nm)	540-595 ^{8,11,18,36-41}	550-595 ^{8,42-49}	540-595 ^{8,50-57}

Lampiran III. Ethical Clearance



FAKULTAS
KEDOKTERAN

Lembang, Jl. Sekeloa Utara No.100
Kampus Terpadu Universitas Islam Indonesia
Jl. Kaliurang km 14,5 Yogyakarta 55584
T. 0271-898441 ext. 2096, 2097
F. 0271-898439 ext. 2087
E. info@iain.id
W. iain.id

Nomor : 45/Ka.Kom.Et/70/KE/III/2020

KETERANGAN LOLOS KAJI ETIK

ETHICAL APPROVAL

Komite Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Indonesia dalam upaya melindungi hak asasi dan kesejahteraan subyek penelitian kedokteran dan kesehatan, telah mengkaji dengan teliti protokol berjudul :

The Ethics Committee of the Faculty of Medicine, Islamic University of Indonesia, with regards of the protection of human rights and welfare in medical and health research, has carefully reviewed the research protocol entitled :

"Uji Efektivitas Serai (Cymbopogon citratus) terhadap Biofilm *Candida albicans* ATCC 10231"

Peneliti Utama : Muhammad Fariz Cahya Pratama
Principal Investigator

Nama Institusi : Program Studi Pendidikan Dokter FK UII
Name of the Institution

dan telah menyetujui protokol tersebut diatas,
and approved the above-mentioned protocol.

Yogyakarta, 30 Maret 2020

Ketua
Chairman




Bahmi Yantari, M.Sc, Sp.PK

*Ethical Approval berlaku satu tahun dari tanggal persetujuan

**Peneliti berkewajiban

1. Menjaga kerahasiaan identitas subyek penelitian
2. Membertahukan status penelitian apabila :
 - a. Setelah masa berlakunya keterangan lolos kaji etik, penelitian masih belum selesai, dalam hal ini ethical clearance harus diperpanjang
 - b. Penelitian berhenti di tengah jalan
3. Melaporkan kejadian serius yang tidak diinginkan (serious adverse events)
4. Peneliti tidak boleh melakukan tindakan apapun pada subyek sebelum penelitian lolos kaji etik dan informed consent

Lampiran IV. Hasil Determinasi Tanaman Serai Dapur (*Cymbopogon Citratus*)


UNIVERSITAS GADJAH MADA
FAKULTAS BIOLOGI
LABORATORIUM SISTEMATIKA TUMBUHAN
Jalan Teknika Selatan Sekeloa Utara Yogyakarta 55281 Telpun (0274) 6492262/6492272; Fax (0274) 508839

SURAT KETERANGAN
Nomor : 014885/S.Tb./VIII/2020

Yang bertanda tangan dibawah ini, Kepala Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi UGM, menerangkan dengan sesungguhnya bahwa,

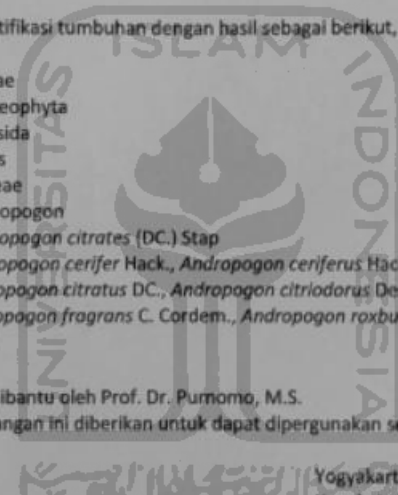
Nama : Muhammad Fariz Cahya Pratama
 NIM : 16711085
 Asal instansi : Fakultas Kedokteran UII Yogyakarta

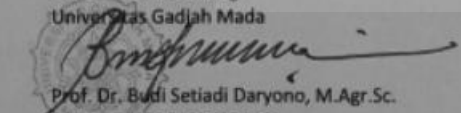
telah melakukan identifikasi tumbuhan dengan hasil sebagai berikut,

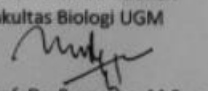
Kingdom : Plantae
 Divisio : Tracheophyta
 Class : Liliopsida
 Ordo : Poales
 Familia : Poaceae
 Genus : *Cymbopogon*
 Species : *Cymbopogon citratus* (DC.) Stap
 Sinonim : *Andropogon cerifer* Hack., *Andropogon ceriferus* Hack.
Andropogon citratus DC., *Andropogon citriodorus* Desf. nom. inval.
Andropogon fragrans C. Cordem., *Andropogon roxburghii* Nees ex Steud.

Nama lokal : Serai

identifikasi tersebut dibantu oleh Prof. Dr. Purnomo, M.S.
 Demikian surat keterangan ini diberikan untuk dapat dipergunakan seperlunya.



Mengetahui,
 Dekan Fakultas Biologi
 Universitas Gadjah Mada

 Prof. Dr. Budi Setiadi Daryono, M.Agr.Sc.
 NIP. 197003261995121001

Yogyakarta, 28 Agustus 2020
 Kepala Laboratorium
 Sistematika Tumbuhan
 Fakultas Biologi UGM

 Prof. Dr. Purnomo, M.S.
 NIP. 195504211982031005

Lampiran V. Pembuatan Ekstrak Daun Serai dapur (*Cymbopogon citratus*)

No.	Gambar Proses Ekstraksi (Sumber : Dokumen Pribadi)	Keterangan
1		Daun serai yang telah di potong dan di cuci
2		Menimbang daun serai
3		Daun serai diratakan pada kabinet dryer
4		Proses pengeringan pada suhu 50°C selama 8 jam
5		Hasil Pengeringan
6		Proses sebelum perajangan

7		Setelah proses perajangan oleh alat miller
8		Penimbangan serbuk simplisia
9		Proses maserasi, serbuk simplisia direndam pelarut kloroform selama 24 jam sesekali diaduk
10		Penyaringan menggunakan corong bucher dan vaccum untuk memisahkan maserat dan ampas
11		proses penguapan oleh alat evaporator advance
12		proses penguapan sisa pelarut dengan waterbath

13		Hasil Ekstrak dgn berat 13,3248 gram
----	---	---



**Lampiran VI. Hasil Uji Fitokomia Ekstrak Kloroform Daun Serai Dapur
(Cymbopogon citratus)**

 **LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK**
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor: 091A.POMK/IX/2020
Number:
Halaman: 1 dari 3
Page:

Dibuat untuk : Fariz
Certified to

Alamat : Yogyakarta
Address

Jenis>Nama Sampel : Terlampir
Type/Name of sample

Asal Sampel : Pelanggan
Origin of sample

Jumlah Sampel : 1 (satu) buah
Amount of sample

Kode Sampel : Terlampir
Sample code

Parameter : Fitokimia
Parameters

Tanggal Pengambilan Sampel :
Sample taken on

Tanggal Penerimaan Sampel :
Sample received on

Tanggal Pengujian Sampel :
Sample tested on







LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
 Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. [0274] 898444 ext. 3037 - Fax. [0274] 896439

SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor: 091/LPOMK/IX/2020
 Nomor:
 Halaman: 2 dari 3
 Page

HASIL PENGUJIAN
TEST RESULT

No	Uji	Hasil	Kesimpulan	Pustaka
1	Flavonoid	Terbentuk warna kuning 	+ Flavonoid	Terbentuk fluoresensi warna kuning intensif (Depkes RI, 1979)
2	Alkaloid	Terbentuk warna orange dengan pereaksi dragendrof 	+ Alkaloid	Terbentuk warna orange dengan pereaksi dragendrof (Depkes RI, 1979)





LABORATORIUM PENGUJIAN OBAT, MAKANAN DAN KOSMETIK
UNIVERSITAS ISLAM INDONESIA
 Jl. Kaliurang KM. 14,5 Sleman Yogyakarta - Telp. (0274) 898444 ext. 3037 - Fax. (0274) 896439


SERTIFIKAT PENGUJIAN
TEST CERTIFIED

Nomor 091/LPOMK/IX/2020
 Number
 Halaman 3 dari 3
 Page

HASIL PENGUJIAN
TEST RESULT

No	Uji	Hasil	Kesimpulan	Pustaka
3	Saponin	Terbentuk buih setinggi 1 cm 	+ Saponin	Buih 1-10 cm selama 10 menit (Depkes RI, 1979)
4	Polifenol	Terbentuk warna ungu biru 	+ Polifenol	Terbentuk warna ungu biru (Depkes RI, 1979)

Yogyakarta, Juni 2020
 Manajer Teknis


 Ani Wibowo, M.Sc., Apt
 NIP. 086130404

Catatan : 1. Hasil pengujian ini hanya berlaku untuk sampel yang diuji
 Notes : These test result are only valid for the tested samples
 2. Sertifikat ini tidak boleh diperbanyak/digandakan tanpa izin dari Manajer Teknis Laboratorium

The certificate shall not be reproduced (copied) without the written permission of the Laboratory Technician Manager

Lampiran VII. Analisis Statistik Aktivitas Penghambatan Biofilm *Candida albicans* oleh Ekstrak Daun Serai (*Cymbopogon citratus*)

A. Uji Normalitas *Saphiro-Wilk*

Tujuan : Untuk mengetahui normalitas distribusi data densitas optik uji penghambatan biofilm.

Hipotesis :

- H₀ : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm terdistribusi normal.
- H_a : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak terdistribusi normal

Pengambilan kesimpulan :

- Jika nilai signifikansi > 0,05 maka H₀ diterima
- Jika nilai signifikansi < 0,05 maka H₀ ditolak

Hasil Uji	Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
	Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
12,5%	.300	3	.	.913	3	.428
6,25%	.269	3	.	.950	3	.568
3,125%	.175	3	.	1.000	3	.990
1,5625%	.355	3	.	.820	3	.164
KP	.368	3	.	.790	3	.090
KM	.309	3	.	.900	3	.387
KN	.314	3	.	.893	3	.363

a. Lilliefors Significance Correction

Kesimpulan : Data densitas optik penghambatan biofilm seluruh kelompok terdistribusi normal ($p > 0,05$).

B. Uji homogenitas *Levene*

Tujuan : Untuk mengetahui homogenitas data dari densitas optik penghambatan biofilm

Hipotesis :

- H₀ : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm homogen
- H_a : Data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak homogen

Pengambilan kesimpulan :

- Jika Nilai signifikansi > 0,05 maka H₀ diterima

- Jika Nilai signifikansi $< 0,05$ maka H_0 ditolak

Test of Homogeneity of Variances

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
Nilai OD	Based on Mean	2.416	6	14	.082
	Based on Median	.618	6	14	.713
	Based on Median and with adjusted df	.618	6	8.050	.713
	Based on trimmed mean	2.229	6	14	.102

Kesimpulan : Data densitas optik biofilm homogen ($p > 0,05$) kemudian dilanjutkan ke Uji *One-Way ANOVA*.

A. Uji *One-Way ANOVA*

Tujuan : untuk mengetahui adanya perbedaan signifikan data densitas optik biofilm.

Hipotesis :

- H_0 : data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak memiliki perbedaan bermakna.
- H_a : data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm memiliki perbedaan bermakna.

Pengambilan Kesimpulan :

- Jika nilai signifikansi $> 0,05$ maka H_0 diterima
- Jika nilai signifikansi $< 0,05$ maka H_a diterima

ANOVA

Nilai OD

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.812	6	.135	26.955	.000
Within Groups	.070	14	.005		
Total	.883	20			

Kesimpulan : Densitas optik biofilm berbeda secara bermakna ($p < 0,05$), lalu dilanjutkan dengan Uji *Post-hoc* terhadap densitas antibiofilm.

B. Uji *Post-hoc* terhadap densitas biofilm

Tujuan : Untuk mengetahui data densitas biofilm kelompok yang memberikan nilai signifikan dengan densitas biofilm kelompok lainnya.

Hipotesis :

- H₀ : data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm tidak memiliki perbedaan bermakna.
- H_a : data densitas optik aktivitas penghambatan biofilm memiliki perbedaan bermakna.

Pengambilan Kesimpulan :

- Jika nilai signifikansi > 0,05 maka H₀ diterima
- Jika nilai signifikansi < 0,05 maka H_a diterima

Post Hoc Tests Multiple Comparisons

Dependent Variable: Nilai OD
Bonferroni

(I) Hasil Uji	(J) Hasil Uji	Mean Difference			95% Confidence Interval	
		(I-J)	Std. Error	Sig.	Lower Bound	Upper Bound
12,5%	6,25%	-.07913333	.05786960	1.000	-.2932063	.1349396
	3,125%	-.24116667*	.05786960	.020	-.4552396	-.0270937
	1,5625%	-.27370000*	.05786960	.007	-.4877729	-.0596271
	KP	.14456667	.05786960	.537	-.0695063	.3586396
	KM	.20670000	.05786960	.064	-.0073729	.4207729
	KN	-.34146667*	.05786960	.001	-.5555396	-.1273937
6,25%	12,5%	.07913333	.05786960	1.000	-.1349396	.2932063
	3,125%	-.16203333	.05786960	.298	-.3761063	.0520396
	1,5625%	-.19456667	.05786960	.098	-.4086396	.0195063
	KP	.22370000*	.05786960	.036	.0096271	.4377729
	KM	.28583333*	.05786960	.005	.0717604	.4999063
	KN	-.26233333*	.05786960	.010	-.4764063	-.0482604
3,125%	12,5%	.24116667*	.05786960	.020	.0270937	.4552396
	6,25%	.16203333	.05786960	.298	-.0520396	.3761063
	1,5625%	-.03253333	.05786960	1.000	-.2466063	.1815396
	KP	.38573333*	.05786960	.000	.1716604	.5998063

	KM	.44786667*	.05786960	.000	.2337937	.6619396
	KN	-.10030000	.05786960	1.000	-.3143729	.1137729
1,5625%	12,5%	.27370000*	.05786960	.007	.0596271	.4877729
	6,25%	.19456667	.05786960	.098	-.0195063	.4086396
	3,125%	.03253333	.05786960	1.000	-.1815396	.2466063
	KP	.41826667*	.05786960	.000	.2041937	.6323396
	KM	.48040000*	.05786960	.000	.2663271	.6944729
	KN	-.06776667	.05786960	1.000	-.2818396	.1463063
KP	12,5%	-.14456667	.05786960	.537	-.3586396	.0695063
	6,25%	-.22370000*	.05786960	.036	-.4377729	-.0096271
	3,125%	-.38573333*	.05786960	.000	-.5998063	-.1716604
	1,5625%	-.41826667*	.05786960	.000	-.6323396	-.2041937
	KM	.06213333	.05786960	1.000	-.1519396	.2762063
	KN	-.48603333*	.05786960	.000	-.7001063	-.2719604
KM	12,5%	-.20670000	.05786960	.064	-.4207729	.0073729
	6,25%	-.28583333*	.05786960	.005	-.4999063	-.0717604
	3,125%	-.44786667*	.05786960	.000	-.6619396	-.2337937
	1,5625%	-.48040000*	.05786960	.000	-.6944729	-.2663271
	KP	-.06213333	.05786960	1.000	-.2762063	.1519396
	KN	-.54816667*	.05786960	.000	-.7622396	-.3340937
KN	12,5%	.34146667*	.05786960	.001	.1273937	.5555396
	6,25%	.26233333*	.05786960	.010	.0482604	.4764063
	3,125%	.10030000	.05786960	1.000	-.1137729	.3143729
	1,5625%	.06776667	.05786960	1.000	-.1463063	.2818396
	KP	.48603333*	.05786960	.000	.2719604	.7001063
	KM	.54816667*	.05786960	.000	.3340937	.7622396

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