

LEMBAR PENGERESAHAN

Judul : Uji Efektivitas Air Perasan Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)
dalam Menghambat Jamur (*Candida albicans*) Secara *In Vitro*.

Nama : Yance Teblig

NPM : 20000021

Dosen Pembimbing I

Dosen Pembimbing II

(dr. Joice Soaya Gani Pangastika, Sp.KK)

(dr. Owen Santopriyo, Sp.Ked Sp.B)

Dosen Penguji

Ketua PSSH Sekeloa

(dr. Kristo Alberto Nababan, Sp.KK(K),

(dr. Ade Pryta Santopriyo, M.Biomed,

M.Ked(DV), PAADY, PINSDV)

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas HKBP Nommensen

(Dr. dr. Leo J. Simanjuntak, Sp.UG)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Candidiasis adalah sekelompok infeksi yang disebabkan oleh jamur *Candida albicans* yang sering dijumpai pada vagina, kulit, bagian bawah jari-jari kuku tangan dan kaki, saluran pencernaan, saluran pernafasan, serta selaput mulut.¹ *Candida albicans* merupakan jamur flora normal yang dapat ditemukan di seluruh dunia yang menyerang pria maupun wanita dengan segala usia.² Penelitian yang dilakukan Hosein, K dkk tahun 2015-2019 di kota Shiran, Iran dari 750 pasien mengalami penyakit kulit terdapat 304 pasien mengalami penyakit kulit yang disebabkan jamur *Candida albicans*.³ Penelitian yang dilakukan Xioa, dkk tahun 2018 di China infeksi kulit disebabkan jamur *Candida albicans* yang menempati urutan ketiga diseluruh dunia sebesar 14%.⁴ Berdasarkan *Center for Disease Control and Prevention (CDC) di United Statet of America (USA)* tahun 2021 sebanyak 7.199 kematian disebabkan Infeksi Jamur *Candia albicans*.⁵ Masalah infeksi jamur terjadi karena ketidak seimbangan flora normal sehingga menjadi patogen ketika adanya faktor predisposisi seperti penggunaan antibiotik jangka panjang, kondisi penurunan sistem kekebalan tubuh salah satunya pada penderita Diabetes Melitus (DM) sehingga meningkatkan pertumbuhan dan perlekatan jamur *Candida albicans*.⁶

Indonesia adalah negara iklim tropis dengan karakteristik seperti suhu udara, dan kelembaban yang cukup tinggi. Ciri-ciri iklim tropis yaitu panas yang menyebabkan masyarakat banyak berkeringat. Kondisi masyarakat yang berkeringat dan kurang peduli terhadap kebersihan diri serta rendahnya pengetahuan dalam menjaga kesehatan merupakan faktor risiko pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Di Indonesia tahun 2021 menurut penelitian Wahyuningsih, dkk terdapat 2,89% mengalami infeksi jamur *Candida albicans*.⁷

Candidiasis merupakan penyakit yang disebabkan jamur *Candida albicans*, jamur ini dapat tumbuh secara berlebih yang dipengaruhi oleh suhu, cahaya, udara, ph, serta nutrisi seperti karbon dan nitrogen.⁸ Jamur *Candida*

albicans merupakan flora normal dalam tubuh yang dapat berkembang tanpa mengganggu kinerja tubuh, Jamur ini dapat membantu dalam keseimbangan flora normal lain, sistem imun yang ada pada tubuh manusia akan mengontrol pertumbuhan flora normal sesuai jumlah yang dibutuhkan tubuh dengan adanya pertahanan asam lemak, kadar asam basa, bantuan dari regenerasi permukaan kulit dan mukosa. Namun dapat berbanding terbalik jika koloni jamur dapat berkembang pesat dan mengganggu keseimbangan flora normal dalam tubuh, karena sistem imun yang menurun akan menimbulkan masalah kesehatan, terganggunya aktivitas, dan penampilan tubuh.⁹

Beberapa Tatalaksana obat penyakit candidiasis yang disebabkan jamur *Candida albicans* dengan menggunakan obat anti jamur seperti, *Nystatin*, *Amfoterisin B* dan golongan azol seperti *Ketokonazol*, *Itrakonazol*, *Flukonazol*. Penderita candidiasis dengan golongan azol memiliki efek samping dalam mengonsumsi obat yang menimbulkan gejala seperti muntah dan mual, diare, kemerahan pada kulit, sampai kerusakan hati.^{10,11} Pada obat *nystatin* memiliki gejala efek samping kulit mengalami inflamasi, mual, muntah serta diare.¹²

Penelitian yang dilakukan Andiarna, dkk tahun 2020 terdapat 44% responden membeli obat anti jamur atau antibiotik tanpa pemeriksaan dan resep dari dokter karena alasan lebih murah, selain itu memilih obat anti jamur yang mudah didapat dan sering digunakan tanpa mengetahui indikasi dari obat tersebut yang membuat resistensi terhadap obat anti jamur semakin banyak, sehingga obat yang digunakan tidak dapat mematikan jamur.¹³ Menurut penelitian Khan, dkk tahun 2018 resistensi obat pada isolat jamur *Candida albicans* seperti *Flukonazol* sebanyak 53,3%, *Nystatin* sebanyak 55,5%, dan *Itraconazol* 28,8%.¹⁴

Pemanfaatan senyawa alami sebagai bahan alternatif atau adjuvant dalam pengobatan anti jamur memiliki bahan aktif yang bermanfaat dan digunakan sebagai anti jamur.¹³ Salah satu bahan yang sering digunakan untuk pengobatan anti jamur adalah jeruk nipis.¹⁵

Jeruk nipis merupakan rempah tradisional yang digunakan masyarakat Indonesia sebagai bahan pembuatan makanan, air perasan buah jeruk nipis juga dapat digunakan sebagai obat-obatan herbal untuk mengobati penyakit seperti

ketombean (*Pityriasis Capitis*), sariawan (*Stomatitis*), panu (*Tinea Versicolor*), kurap (*Tinea Corporis*), jerawat (*Acne Vulgaris*), dan bisa membantu meluruhkan dahak. Jeruk nipis mengandung berbagai senyawa kimia yang bermanfaat, yaitu asam sitrat, asam amino (*triptofan dan lisin*), minyak atsiri (*sital, limonene, geranyl acetate, linalyl acetate, felandrene, cadine, actaldehyde, neilaldehyde*), glikosida, lemak, resin, asam sitrat, kalsium, fosfor, besi, belerang, vitamin B dan C, saponin, flavonoid, hesperidin, naringin, tangeretin, eriocotrin dan eriocitroside.^{16,17}

Hasil penelitian yang dilakukan BATERUN tahun 2016, menunjukkan pada air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 20%, 40%, 60%, 80%, 100% menggunakan metode dilusi padat (KBM) Kadar Bunuh Minimal didapati terdapat penurunan jumlah koloni jamur *Candida albicans* pada konsentrasi 60% dengan rerata koloni jamur 0,75 hal ini menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis dapat menghambat jamur *Candida albicans*.¹⁸ Penelitian lain juga dilakukan oleh Lubis, dkk. tahun 2020, menunjukkan bahwa air perasan jeruk nipis pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, dan 100% menggunakan metode difusi cakram terbukti memiliki peningkatan zona hambat untuk konsentrasi tertinggi 100% dengan diameter 18,06mm.¹⁵ Penelitian yang dilakukan Sukmawati dkk tahun 2021, menunjukkan pada air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 125%, 150%, 175%, dan 200% menggunakan metode dilusi padat terdapat pertumbuhan koloni jamur *Candida albicans* menunjukkan setiap konsentrasi yang diberikan tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.¹⁹

Berdasarkan latar belakang diatas, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk mengetahui efektivitas air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara In Vitro.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimanakah efektivitas air perasan jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*?

1.3. Hipotesis

Air perasan jeruk nipis efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui bagaimana efektivitas dari air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.4.2 Tujuan Khusus

1. Untuk menilai daya hambat air perasan jeruk nipis pada konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100% terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
2. Untuk mengetahui efektivitas konsentrasi air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) paling efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
3. Untuk membandingkan daya hambat air perasan jeruk nipis dengan obat anti jamur *flukonazol* sebagai kontrol positif.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1 Bagi Peneliti

Menambah wawasan, pengetahuan, dan pengalaman dalam melaksanakan penelitian khususnya mengenai uji efektivitas air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.5.2 Bagi Institusi

Menambah referensi penelitian di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan dan juga dapat digunakan sebagai rujukan bagi penelitian selanjutnya.

1.5.3 Bagi Masyarakat

Memberikan informasi mengenai uji efektivitas air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* bagi masyarakat sebagai bahan alternatif dari bahan alami untuk penyakit infeksi jamur *Candida albicans*.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Candida albicans*

2.1.1 Morfologi *Candida albicans*

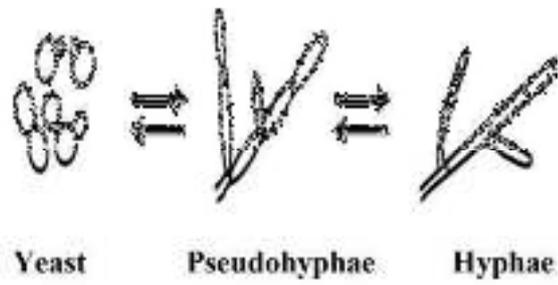
Candida albicans merupakan flora normal di rongga mulut, kerongkongan, saluran genital, dan kulit yang bersifat oportunistik, yaitu tidak patogen pada manusia sehat tetapi akan menjadi patogen pada manusia yang kondisi *immunocompromised*. Menurut okeye, dkk tahun 2020 jamur dapat tumbuh dan berkembang pada beberapa faktor seperti suhu, cahaya, udara, ph, serta kandungan nutrisi seperti karbon dan nitrogen.²⁰

Jamur *Candida albicans* memiliki bentuk bulat, lonjong dan mempunyai tunas, warnanya putih kekuningan, tepinya rata, permukaan dindingnya halus, licin, dan berlipat-lipat.²¹ Beberapa media untuk mengidentifikasi jamur *candida albicans* yaitu *Sheep blood agar*, *Sabouraud's dextrose agar* (SDA), *CHROM agar*, *methyl blue-sabouraud agar* dan *candi Select 4*. Media yang sering digunakan untuk mengidentifikasi jamur *Candida albicans* adalah *Sabouraud's dextrose agar* (SDA).²² Morfologi jamur *Candida albicans* diidentifikasi secara makroskopis dan mikroskopis. Jamur dimorfik ini memiliki tiga bentuk yaitu, yeast berbentuk bulat dan oval yang mudah dipisahkan satu sama lain. pseudohifa mirip dengan sel yeast ellipsoid panjang, melekat diantara septasi yang menyempit, dan tumbuh secara bercabang. Hifa berbentuk Panjang, sisinya sejajar, terpolarisasi, diantara sel tidak memiliki penyempitan, dan pertumbuhan silindiris dari faktor lingkungan membentuk tabung germinal pada permukaan blastopora.²² *Candida albicans* memiliki kemampuan membentuk germ tubes/tabung bening dengan bentuk sel berkecambah seperti raket pada suhu 37°C selama 2-3 jam.



Gambar 2. 1 Koloni *Candida albicans* pada Media SDA

(Sumber: Suryani, S, 2023, Jurnal Biologi Makassar)



Gambar 2. 2 Gambar Yeast, Pseudohifa, Hifa

(Sumber: Steffi, B, 2021, Text Book On Medical Microbiology)



Gambar 2. 3 Germ tube *Candida albicans*

(Sumber: Suryani, S, 2023, Jurnal Biologi Makassar)

2.1.2 Taksonomi

Berdasarkan Taksonomi, Jamur *Candida albicans* diklasifikasikan sebagai berikut²²:

Domain	: <i>Eukarya</i>
Kingdom	: <i>Fungi</i>
Phylum	: <i>Ascomycota</i>
Class	: <i>Saccharomycetes</i>
Subclass	: <i>Saccharomycetidae</i>
Ordo	: <i>Saccharomycetales</i>
Genus	: <i>Candida</i>
Species	: <i>albicans</i>

2.1.3 Infeksi *Candida albicans*

Candida albicans merupakan salah satu dari golongan *deuteromycota* yang salah satu penyebab infeksi oportunistik di kulit, mukosa, dan organ dalam manusia. *Candida albicans* memiliki kemampuan untuk menempel pada sel inang dan membentuk kolonisasi pada saluran napas dan saluran cerna yang kurang steril, dapat dijumpai kolonisasi candida akibat penggunaan antibiotik yang lama, pasien dengan *immunocompromised*, penggunaan steroid yang mengubah kondisi fisiologis mengakibatkan flora normal candida dalam tubuh akan meningkat.²³

Beberapa faktor predisposisi penyebab *Candida albicans* mengubah saprofit menjadi patogen antara lain²⁴ :

1. Gangguan endokrin

Penderita Diabetes Melitus (DM) memiliki mekanisme pertahanan tubuh yang lemah. Pada wanita penderita DM kadar gula berlebih dalam dinding vagina membuat glukosa pada urin tertumpuk di vulva yang menyediakan makanan untuk jamur.²⁵

2. Immunosupresi

Sistem kekebalan tubuh yang kurang atau lemah rentan terhadap infeksi pasien oral candidiasis dan pasien HIV mempengaruhi limfosit T-helper membuat pasien terinfeksi kandida oportunistik²⁴

3. Xerostomia

Air liur penting sebagai pertahanan mikroflora normal mulut antimikroba dalam mulut seperti air liur dapat mengurangi kolonisasi jamur. Aliran air liur dapat terganggu oleh penuaan, radioterapi kepala dan leher, obat-obatan dan sindrom *Sjogren* yang menyebabkan peningkatan risiko Candidiasis oral.²⁴

4. Gigi palsu

Gigi palsu memiliki pH yang relative asam sehingga kurangnya aliran oksigen dan saliva ke jaringan bawah membuat enzim hidrolitik ekstraseluler *Candida albicans* menjadi aktif. Iritasi gigi meningkatkan pertumbuhan jamur di lingkungan yang lembab. gigi palsu dapat mengurangi resistensi jaringan dan meningkatkan kemampuan antigen, pengobatan toksin *Candida epitheliumtosoluble* sehingga meningkatkan infeksi.²⁴

5. Merokok

Merokok dapat menyebabkan perubahan epitel lokal yang memfasilitasi kolonisasi kandida. Selain itu asap rokok mengandung faktor nutrisi untuk *Candida albicans*. Hidrokarbon aromatik yang terkandung dalam asap rokok dapat diubah menjadi produk akhir karsinogen oleh spesies *Candida*. yang membuat beberapa perokok lebih mudah terkena infeksi jamur *candida albicans*.²⁴

Penyebab utama *Candida albicans* dapat menginfeksi host dengan infeksi sistemik, dan infeksi superfisial pada candidiasis oral dan vagina. *Candida albicans* akan menjadi patogen apabila didukung dengan faktor-faktor virulensi antara lain:²⁶

a. Kemampuan sel mukosa melekat melalui mekanisme spesifik (interaksi ligand reseptor) dan mekanisme non spesifik (ikatan elektrostatis dan ikatan van der Waals)²⁶.

b. Kemampuan dimorfik

Kondisi lingkungan dengan pH > 7 *Candida albicans* akan membentuk hifa, sedangkan pada pH < 6 dominan akan membentuk yeast. Perubahan morfologi yeast ke bentuk hifa disebut dimorfik. Kemampuan perubahan ini merupakan cara candida bisa bertahan hidup dalam lingkungan yang tidak mendukung.

Salah satunya perubahan pH, suhu, perubahan warna menjadi putih buram atau tidak tembus cahaya, dan ciri bentuknya seperti sel ellipsoid memanjang dan memiliki sekat. Selain itu hifa memiliki sifat thigmotropism bisa tumbuh sepanjang sulkus dan menembus pori-pori yang mendukung kemampuan infiltrasi pada sel epitel²⁶.

c. Permukaan sel *Candida albicans* memiliki sifat hidrofobik

Molekul pada adhesin dan invasins memiliki protein yang bisa membantu *Candida albicans* dalam melekat dengan mikroorganisme lain. Permukaan sel *Candida albicans* memiliki derajat glikosilasi dari mannoprotein yang bisa mempengaruhi hidrofobisitas dan kemampuan adhesi sel candida terhadap sel epitel²⁶.

d. Sekresi Enzim *aspartyl proteinase*

Candida albicans memiliki Enzim *aspartyl proteinase* yang bisa bisa menghidrolisis protein sel penjamu, sehingga bisa menembus barrier jaringan selain itu bisa mensekresi fosfolipase yang dapat merusak sel penjamu dan menginvasi ke jaringan lain²⁶.

e. Kemampuan perubahan *Phenotypic switching*

Terjadinya perubahan glikoprotein dipermukaan sel candida, sekresi enzim preteolitik, kerusakan oksidatif oleh neutrofil. Hal ini dapat mempengaruhi terjadinya peningkatan virulensi yang bisa menginvasi jaringan lain, formasi biofilm, kondisi genotoksik, bisa menembus respon kekebalan tubuh, dan cepat beradaptasi terhadap stress lingkungan²⁶.

2.1.4. Patofisiologi

Candida albicans merupakan mikroorganisme endogen pada rongga mulut, traktus gastrointestinal, traktus genitalia wanita dan kulit.²⁷ Jamur *Candida albicans* sering dijumpai pada bagian lipatan kulit, lipatan aksila, selangkangan, tubuh yang lembab, sehingga pada daerah yang terinfeksi menjadi merah dan lembab.²⁸

Selama infeksi jamur *Candida albicans* melepaskan komponen dinding sel seperti mannan, glucan, polisakarida, dan glikoprotein yang menyebabkan respon inflamasi. Respon inflamasi ditandai dengan produksi sitokin dan faktor nekrosis

tumor- α yang akan mengaktifkan neutrofil dan monosit. Pada Jamur *Candida albicans* memiliki ragi dan pseudohifa yang menghasilkan faktor virulensi yaitu fosfolipase (PLB1). Akumulasi ragi dan pseudohifa akan membentuk biofilm jamur yang dilindungi oleh bahan matriks ekstraseluler yang tahan terhadap penetrasi respon imun inang dan obat anti jamur.²⁹

2.1.5 Uji Antijamur

Penelitian ekperimental ini menggunakan metode difusi dan dilusi. Metode uji aktivitas antijamur secara difusi paling sering digunakan sebagai analisis aktivitas antijamur jenis metode difusi yang sering digunakan yaitu¹³:

a. Metode Cakram

Metode difusi cakram ini menggunakan cakram dengan menempatkan kertas cakram ke media yang ditanami jamur. Kertas cakram berukuran 6 mm direndam pada bahan aktif yang akan dilakukan pengujian terhadap jamur, kemudian diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C. Area atau zona bening di sekitar kertas cakram menandakan adanya zona hambat pada aktivitas anti jamur. Jika terdapat pertumbuhan jamur pada kertas cakram menunjukkan resistensi pada bahan anti jamur yang diujikan. Selah dilakukan perhitungan zona hambat dilakukan interpretasi dengan acuan Tabel 2.1.^{13,30}

Tabel 2. 1 Diameter zona terang dan respon hambat pertumbuhan ³¹

Diameter Zona Terang	Respon Hambatan Pertumbuhan
>20 mm	Kuat
16-20 mm	Sedang
10-15 mm	Lemah
<10 mm	Tidak ada

b. Metode Dilusi

Metode uji aktivitas anti jamur dengan dilusi ada 2 yaitu dilusi cair dan metode dilusi padat. Pada metode KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) dilakukan dengan seri pengenceran menggunakan tabung reaksi berisi jamur dan bahan anti jamur yang akan diujikan, setelah itu diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C. Metode dilusi padat yaitu KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur yang berasal dari tabung jernih pada

media kultur, lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pada metode KBM menunjukkan nilai OD (*Optical Density*) mendekati angka 0 atau tidak ada koloni pertumbuhan jamur.¹³

2.2 Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*)

2.2.1 Deskripsi Tanaman

Jeruk nipis berasal dari negara Hindia Timur. termasuk tumbuhan perdu yang banyak memiliki dahan dan ranting Batang pohonnya berkayu ulet, berduri, keras, dan bercabang. Daunnya majemuk, berbentuk elips dengan pangkal membulat, ujung tumpul, dan tepi beringgit, memiliki buah yang kulitnya tipis, berwarnan hijau atau kuning, memiliki diameter 3-6 cm, memiliki rasa asam dan pahit. Tumbuhan ini bisa dapat ditemukan di Iklim tropis, menurut swingle jeruk nipis berasal dari Asia Tenggara. Tumbuhan ini semakin baik bila ditanam terbuka tanpa ada wadah dan langsung terkena paparan sinar matahari^{32,33}

2.2.2 Taksonomi

Berdasarkan sistem taksonomi tumbuhan jeruk nipis menurut klasifikasinya.³²

Kingdom	: <i>Plantae</i>
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i>
Super Divisi	:
<i>Spermathophyta</i> Divisi	:
<i>Magnoliophyta</i>	
Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Sub Kelas	: <i>Rosidae</i>
Ordo	: <i>Sapindales</i>
Famili	: <i>Rutaceae</i>
Genus	: <i>Citrus</i>
Spesies	: <i>Citrus aurantifolia (Christm.)Swingle</i>

Jeruk nipis memiliki nama yang berbeda-beda disetiap daerah-daerah tertentu antara lain: Jeruk Pecel (Jawa), Jeruk dunga (Madura), Kelangsa (Aceh), Lemo (Bali), Dongaceta (Bima), Madutelong (Flores), Lemau nipis (Kalimantan), Lemao ape (Sulawesi), Puhat em nepi (Maluku). Pada Negara tertentu nama lain

jeruk nipis antara lain: Limau asam/ limau nipis (Malaysia), Somma nao/manao (Thailand), Lime, sour lime, common lime (Amerika dan Eropa).^{33,34}

2.2.3 Morfologi

Tumbuhan jeruk nipis memiliki tinggi 150-350 cm. Pertumbuhan tanaman ini mencapai 10-10.000 mdpl, dan sistem ketahanan asam pada pH 5-6, rerata curah hujan 1000-2000mm/tahun, kecepatan angin 40-48%, kelembapan 70-80%, dan temperatur 25-30°C. Tumbuhan jeruk nipis memiliki pohon kecil, lebat dan bercabang, tapi tidak beraturan. Batangnya memiliki banyak cabang, percabangan dikotom, tinggi mencapai 0,5-3,5 m, batangnya berduri, tajam, kaku dan keras. Mempunyai daun tunggal, bentuknya lonjong, ujungnya tumpul, warna bagian atas daun hijau tua gelap dan bagian bawahnya hijau muda dengan ukuran panjang 2,5-9 cm dan lebar 2-5 cm, serta memiliki tangkai bersayap kecil. Buah jeruk nipis ukurannya bulat memiliki diameter 3,5-5 cm, kulitnya tipis berwarna hijau apabila matang berubah menjadi warna kuning, buahnya memiliki banyak biji yang ukurannya kecil-kecil dan licin yang memiliki rasa air yang asam.^{17,34}



Gambar 2. 4 Tanaman Jeruk Nipis

(Sumber: Dalimartha, S, 2000, Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 2)

2.2.4 Kandungan Unsur Senyawa Kimia

Buah jeruk nipis memiliki kandungan senyawa asam sitrat 7-7,6%, asam amino, minyak atsiri, lemak, mineral, vitamin B1, sitral limonene, felandren, lemon kamfer, geranil asetat, cadinen, linalin asetat.³⁵ Selain itu jeruk nipis mengandung flavonoid seperti poncirin, hesperidine, rhoifolin, dan naringin.³⁴

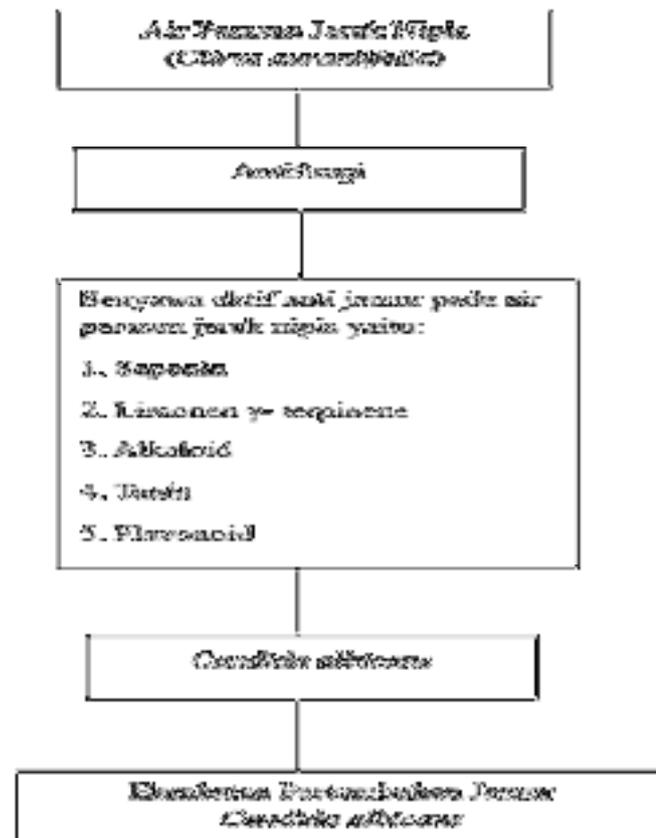
2.2.5 Khasiat dan Kegunaan

Jeruk nipis merupakan tanaman herbal yang dijadikan masyarakat sebagai obat alternatif penyakit tertentu.³³ Jeruk nipis memiliki senyawa flavonoid yang manfaatnya sebagai anti fungi, melindungi struktur sel, meningkatkan efektivitas, dapat menghambat pertumbuhan mikroba, sebagai anti inflamasi, mengatasi jerawat (*Acne Vulgaris*). Selain itu, bisa membantu mengurangi risiko kanker, penyakit jantung, stroke, penurunan kolesterol, perawatan gigi, gusi berdarah, dan bisul.^{36,17} Kegunaan jeruk nipis untuk pengobatan dengan campuran bahan lain dengan cara dioles atau dikompreskan misalnya membantu mengobati seperti, sakit perut, sakit gigi, jerawat (*Acne Vulgaris*), rematik, obat kumur untuk sakit tenggorokan. Selain itu air perasan jeruk nipis juga bisa menyembuhkan penyakit anti jamur seperti kurap (*Tinea Corporis*), panu (*Tinea Versicolor*), sariawan (*Stomatitis*), Ketombean (*Pityriasis Capitis*). Selain itu jeruk nipis bisa diminum untuk membantu melangsingkan badan, mengecilkan perut, obat batuk, dengan tambahan campuran lain.^{17,34}

2.2.6 Efek Anti jamur pada jeruk nipis

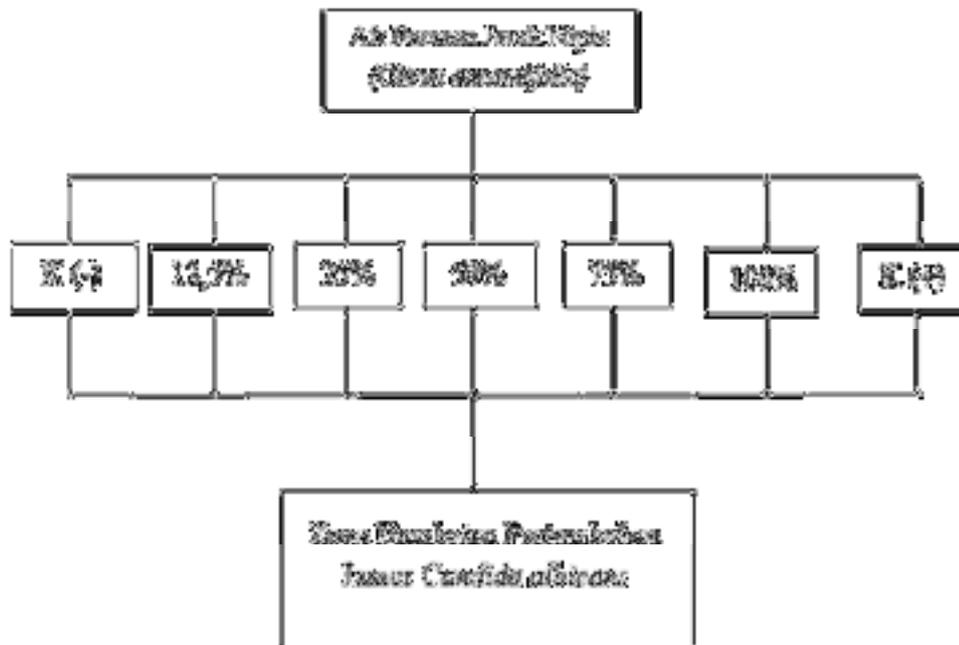
Jeruk nipis memiliki kandungan ekstrak etanol yang dapat menghambat pertumbuhan jamur. Kandungan senyawa jeruk nipis seperti limonen γ - terpinen, alkaloid, saponin, tanin, flavonoid. Senyawa pada jeruk nipis memiliki manfaat seperti senyawa limonen memiliki kandungan hidrokarbon sebagai antimikroba yang bekerja membantu menghancurkan integritas membran sel mikroba, saponin merupakan senyawa yang bisa merusak membran sel di jamur yang menyebabkan kebocoran dan kematian sel. Struktur pertumbuhan dan pembentukan dinding sel jamur dapat terhambat dengan adanya senyawa tanin, Senyawa flavonoid quercetin dapat membantu , menghambat jamur dengan merusak DNA, *sophoraflavone G* dan *epigallocatechin gallate* merusak bagian membran sitoplasma, dan *licochalcones A dan C* menghambat metabolisme energi pada jamur, dan manfaat alkaloid untuk anti jamur bisa membantu esterase DNA serta RNA *polymerase* dan menghambat respirasi sel yang berperan dalam interaksi DNA.³⁷

2.3 Kerangka Teori



Bagan 2. 1 Kerangka Teori

2.4 Kerangka konsep penelitian



Bagan 2. 2 Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Desain Penelitian

Desain penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratorium (*True Eksperimental Design*) secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *Post Test Only Control Group Desain*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difus cakram pada media SDA (*Sabouraud Agar Dexrose*).

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

Penelitian dilakukan di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan.

3.2.2 Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan September sampai November 2023.

3.3 Sampel

3.3.1 Sampel Jamur

Jamur yang digunakan pada penelitian ini yaitu jamur *Candida albicans* yang didapatkan dari Laboratorium Indilab di kota Samarinda.

3.3.2 Sampel Uji

Bahan uji yang digunakan pada penelitian ini adalah air perasan jeruk nipis (*Citrus aurantifolia*) yang dibuat dalam beberapa konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%.

3.4 Pengulangan Sampel

Untuk penelitian ini dilakukan pengulangan sampel agar mendapatkan hasil yang signifikan, jumlah pengulangan dengan menentukan rumus federer yaitu:

$$(n - 1) (t - 1) \geq 15^{38}$$

Keterangan:

n = jumlah pengulangan perkelompok setiap sampel

t = jumlah sampel (kontrol +, kontrol -, 5 konsentrasi air perasan jeruk nipis).

Dilakukannya sebanyak 7 kali dalam perlakuan pada air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%. Serta perlakuan kontrol negatif pada aquades dan kontrol positif pada *Flukonazol* maka.

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

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

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

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3.5 = 4$$

Untuk mendapatkan hasil yang signifikan, jumlah pengulangan perkelompok setiap sampel (n) yang digunakan untuk penelitian yaitu 4 kali pengulangan.

3.5 Alat dan Bahan Penelitian

3.5.1 Alat yang digunakan

- a. Tabung Reaksi
- b. Cawan Petri
- c. Baker glass
- d. Erlenmeyer
- e. Jarum ose
- f. Pipet tetes
- g. Autoclave
- h. Jangka sorong dan alat tulis
- i. Timbangan analitik
- j. Korek api
- k. Alat pemeras jeruk nipis (handheld reamer)

- l. Lampu Bunsen
- m. Mikroskop dan Kaca preparate
- n. Inkubator
- o. Golf stick
- p. Kertas Label

3.5.2 Bahan yang digunakan

- a. Isolat Jamur *Candida albicans*
- b. Air perasan jeruk nipis
- c. Media *Sabouraud Dextrose Agar*
- d. Aquadest steril
- e. NaCl 0,9%
- f. Alumunium Foil
- g. Kertas cakram flukonazol dan cakram kosong

3.6 Prosedur Kerja

3.6.1 Sterilisasi Alat dan Bahan

Semua alat yang digunakan sebelumnya dibersihkan dengan air mengalir dan ditunggu sampai kering, kemudia akan dibungkus dengan kertas Alumunium foil dan disterilkan menggunakan autoklaf selama 15 menit pada suhu 121° C.

3.6.2 Pembuatan Perasan Jeruk Nipis

Buah jeruk nipis dibeli di pasar MMTC jalan Pancing, Medan Buah jeruk nipis yang akan dibeli dengan kondisi kulit yang bagus, tidak cacat atau busuk, berwarna hijau. Cara pembuatan dengan jeruk nipis dicuci bersih lalu dibelah dua, setelah itu buahnya diperas menggunakan handheld reamer, lalu disaring menggunakan saringan untuk memisahkan bulir-bulir hasil air perasan untuk mendapatkan air yang maksimal.

3.6.3 Pembuatan Konsentrasi Air Perasan Jeruk Nipis

Air perasan jeruk nipis yang digunakan menggunakan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100% yang dimasukan ke dalam beaker glass dilarutkan dengan aquades sebanyak 10ml. dengan rumus untuk mendapatkan masing-masing konsentrasi dengan perbandingan (V/V):

$$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$$

Keterangan:

V_1 = Volume air perasan jeruk nipis yang diencerkan (ml)

N_1 = Konsentrasi air perasan jeruk nipis yang tersedia (%)

V_2 = Volume air perasan jeruk nipis (air perasan jeruk nipis + aquades yang diinginkan) (ml)

N_2 = Konsentrasi air perasan jeruk nipis yang diinginkan (%)

Tabel 3. 1 Jumlah air perasan jeruk nipis yang diencerkan

$V_1 = V_2 \cdot N_2 / N_1$	N_1	V_2	N_2
1,25 ml	100%	10 ml	12,5%
2,5 ml	100%	10 ml	25%
5 ml	100%	10 ml	50%
7,5 ml	100%	10 ml	75%
10 ml	100%	10 ml	100%

Sebagai contoh, Air perasan jeruk nipis dengan konsentrasi 12,5% didapatkan dengan mengencerkan 1,25 ml air perasan jeruk nipis dengan 8,75 ml aquades demikian seterusnya.

3.7 Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans*

Pembuatan suspensi jamur *Candida albicans* pertama mengambil isolate jamur *Candida albicans* menggunakan ose steril, setelah itu masukan kedalam tabung yang berisi larutan NaCl 0,9% lalu dihomogenkan. Setelah itu bandingkan tingkat kekeruhan suspensi jamur dengan larutan standar Mc Farland 0,5 (10^8 CFU/ml) dengan cara menambahkan aquades steril hingga diperoleh tingkat kekeruhan yang sama.

3.8 Penanaman Jamur *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* dilakukan penanaman dengan teknik penyebaran menggunakan golf stick yang dimasukkan ke dalam cawan petri media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA).

3.9. Uji Efektivitas air perasan jeruk nipis sebagai pengambat jamur

Candida Albicans.

Uji efektivitas air perasan jeruk nipis dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dilakukan dengan metode difus cakram. Cakram kosong (*blank disk*) direndam kedalam air perasan jeruk nipis yang dibuat dalam konsentrasi yang diinginkan, cakram oksoid *Flukonazol* sebagai kontrol positif, dan aquades sebagai kontrol negatif. Suspensi jamur *Candida albicans* yang sudah dimasukan kedalam media SDA dengan cara melakukan metode penyebaran menggunakan golf stick dan memutar, pastikan permukaan media SDA kering. Lalu masing-masing cakram yang sudah direndam dalam beberapa konsentrasi air perasan jeruk nipis dimasukan pada setiap media SDA yang sudah ditanam jamur *Candida albicans*. lakukan hal yang sama dengan air perasan konsentrasi berikutnya lalu, masukkan kedalam inkubator bersuhu 37°C selama 48 jam.

Adanya zona bening di sekitar cakram oksoid menandakan air perasan jeruk nipis mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan jamur *Candida Albicans*. Kemudian penilaian efektivitas dilihat dari panjang diameter zona bening disekitar kertas cakram. Lalu diukur menggunakan jangka sorong pada panjang diameter zona bening disekitar cakram, hasil pengukuran diklasifikasikan berdasarkan respon daya hambat, masing- masing perlakuan dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali.

3.10 Identifikasi variabel

3.10.1 Variabel Independen

Variabel Independent pada penelitian ini yaitu air perasan jeruk nipis yang dilakukan dengan konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%.

3.10.2 Variabel Dependen

Variabel Dependen pada penelitian ini yaitu diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Pada Identifikasi jamur *Candida albicans* uji germ tube ditemukan bentuk Pseudohifa, dan Hifa.^{20,39}

3.10.3 Variabel Kontrol

Varibael kontrol pada penelitian ini yaitu anti jamur *flukonazol* sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif.

3.11 Definisi Operasional

Tabel 3. 2 Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat ukur	Cara ukur	Hasil	Skala
Air perasan jeruk nipis (<i>Citrus aurantifolia</i>)	Hasil dari perasan buah jeruk nipis yang dibuat dalam konsentrasi 12,5%, 25%, 50%, 75%, 100%.	Pipet steril, gelas ukur, neraca analitik	$V_1 \cdot N_1 = V_2 \cdot N_2$	Konsentr -asi air perasan jeruk nipis (%)	Rasio
Diameter zona hambat	Zona bening di sekitar cakram yang menandakan adanya hambatan pertumbuhan bakteri	Jangka sorong	Mengukur zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram	Zona hambat (mm)	Numerik
<i>Candida albicans</i>	Mikroorganisme <i>Candida albicans</i> yang dikultur dari Isolat murni yang didapat di Indilab Samarinda	Media Kultur	Didapati pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i>	Ya atau Tidak	Nominal

3.12 Analisis Data

Analisis hasil dari data dengan uji normalitas dan homogenitas dilakukan untuk mengetahui apakah data hasil penelitian berdistribusi normal atau tidak pada seluruh data. Pertama dilakukan uji normalitas *Saphir-Wilk* dengan nilai signifikansi $p > 0.05$ pada seluruh data. Pada salah satu data yaitu data diameter zona hambat kontrol (+) didapatkan nilai signifikan adalah 0.004 ($p < 0.05$) yang disimpulkan data tidak berdistribusi normal dan tidak bisa dilanjutkan karena tidak memenuhi syarat uji *One-way ANOVA* karena syarat uji *One-way ANOVA* yaitu data dari sampel harus berdistribusi normal dan varian data harus sama dan homogen. Kemudian dilakukan uji analisis non parametrik *Kruskal Wallis* untuk membandingkan kelompok variabel yang tidak terikat, kemudian dilanjutkan dengan uji lanjutan yaitu *Mann-Whitney U* untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap perlakuan satu dengan yang lainnya.

