IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

KK
KKA
KG·162/11
Saa
d

DAYA ANTI JAMUR KOMBINASI EKSTRAK THE HIJAU-*NYSTATIN* TERHADAP KOLONISASI CANDIDA ALBICANS RESISTEN

SKRIPSI

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

Oleh :
IKA ROUDLOTUS SA'ADAH
020710012

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2011

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

LEMBAR PENGESAHAN

DAYA ANTI JAMUR KOMBINASI EKSTRAK AIR TEH HIJAU-*NYSTATIN* TERHADAP KOLONISASI CANDIDA ALBICANS RESISTEN

SKRIPSI

Diajukan sebagai Salah Satu Syarat Untuk Menyelesaikan Pendidikan Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya

Oleh :
IKA ROUDLOTUS SA'ADAH
020710012

Menyetujui,

Pembimbing Utama	Pembimbing Serta
Dr. A. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes	Prof. Dr. Istiati, drg., SU
NIP. 195911141986032002	NIP. 195005261978022001

FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2011

PENETAPAN PANITIA PENGUJISKRIPSI

SKRIPSI ini telah diuji pada tanggal 3 Januari 2011

PANITIA PENGUJI SKRIPSI

1. Dr. Theresia Indah B. drg., M.Kes. (Ketua Penguji)
2. Dr. Retno Puji Rahayu. drg., M.Kes. (Pembimbing Utama/ Anggota)
3. Prof. Dr. Istiati. drg., S.U. (Pembimbing Serta/ Anggota)
4. Dr. Rento Indrawati. drg., M.Si. (Anggota)
5. Dr. Agung Sosiawan. drg., M.Kes. (Anggota)

KATA PENGANTAR

Puji dan syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan nikmat-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan pembuatan skripsi dengan judul "Daya Anti Jamur Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin* terhadap Kolonisasi *Candida albicans* Resisten". Pembuatan skripsi ini merupakan kewajiban bagi mahasiswa jenjang Strata 1 Program Studi Pendidikan Dokter Gigi, sekaligus sebagai salah satu syarat untuk melengkapi Gelar Dokter Gigi di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

Pembuatan skripsi ini tidak terlepas dari segenap bantuan, dukungan serta bimbingan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini, sudah sepantasnya penulis menyampaikan penghargaan yang setinggi-tingginya dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Prof. R.M Coen Pramono D., SU., drg., Sp.BM. (K) selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya yang telah memberi kesempatan untuk menempuh pendidikan di Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga Surabaya
2. Prof. Dr. Jenny Sunariani, drg., MS selaku Kepala Departemen Biologi Oral. Terima kasih telah memberi ijin untuk pembuatan skripsi.
3. Dr. Retno Pudji Rahayu, drg., M.Kes. dan Prof. Dr. Istiati, drg., S.U. selaku dosen pembimbing utama dan pembimbing serta yang telah memberikan saran berharga dan selalu meluangkan waktu serta membimbing dengan penuh kesabaran demi penyempurnaan skripsi ini.

4. Dr.Djoko Agus Purwanto, Apt., M.Si selaku konsultan yang telah memberi masukan dan motivasi dalam mengerjakan skripsi
5. Kedua orang tua saya, Muhammad Munir dan Mariya Ulfah, atas doa, kasih sayang, semangat, dan pengorbanan yang sangat berarti.
6. Kedua adik saya, Tsany Lutfiyanti dan Anis Khoirunnisa', atas do'a, semangat serta bantuannya.
7. Mbak Nur, Mas Eta, Mas Heri, dan Pak Munajib, terima kasih atas bantuannya selama ini.
8. Arindah Hadi dan Anggia Hapsari, teman seperjuangan saya dalam skripsi ini. Terimakasih untuk semangat dan bantuan yang diberikan.

Semoga Allah SWT menganugerahkan pahala yang sebesar-besarnya dan berlipat ganda atas segala bantuan yang telah diberikan.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu saran dan kritik yang membangun sangat penulis harapkan demi penyempurnaan skripsi ini dikemudian hari. Demikian, semoga bermanfaat bagi semua pihak.

Surabaya, 28 Desember 2010

Penulis

ABSTRACT

Background. *Oral candidiasis is a manifestation of the oral cavity that often occurs in people with HIV/ AIDS. This is caused by immunocompromise condition in patients with HIV/ AIDS, so will be easier to facilitate the occurrence of oral candidiasis. Treatment of oral candidiasis which common given is anti-fungal, but recently, there are many cases of C. albicans resistance to the anti-fungal polyene, because of this condition, we have to think about another alternatives to face this fact.* ***Purpose.*** *To investigate the effect of combination green tea extract-nystatin on C.albicans colonization.* ***Method.*** *The In vitro combined effects of nystatin and extract of green tea against clinical isolates of Candida albicans which common given anti-fungal were invesgated using serial dilution method and calculation of the colony. This Candida albicans stock derived from HIV/ AIDS patients and had received ARV therapy in UPIPI RSUD Dr Soetomo Surabaya.* ***Result.*** *The organism was suspectible to combination of green tea extract-nystatin with MIC of 12,5% and single nystatin had MIC of 12,5%.* ***Conclusion.*** *There was no difference MIC between combination of green tea extract-nystatin and single nystatin.*

KEYWORDS : *C. albicans, nystatin, green tea, HIV/ AIDS*

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB I
PENDAHULUAN

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

HIV dan AIDS adalah masalah kesehatan masyarakat yang memerlukan perhatian serius. Ini terlihat dari jumlah kasus AIDS yang dilaporkan tiap tahunnya meningkat secara signifikan. Menurut komisi penanggulangan AIDS, data dari Departemen Kesehatan Republik Indonesia sampai dengan bulan Maret 2009 jumlah penderita AIDS mencapai 16.964 orang. Prevalensi terjadinya kasus AIDS banyak ditemukan pada laki-laki yaitu 74,5%, sedangkan pada perempuan 25,5%.

Dampak dari penyakit AIDS mampu menimbulkan manifestasi penyakit lain pada diri penderita, termasuk manifestasi di rongga mulut. Manifestasi di rongga mulut yang sering terjadi adalah *xerostomia*, *oral candidiasis, oral hairy leukoplakia, periodontal disease, necrotizing ulcerative periodontitis, kaposi's Sarcoma*, dan terjadinya ulser lainnya (Greenspan, 2005). *Oral candidiasis* adalah manifestasi rongga mulut yang paling banyak dijumpai pada penderita HIV/AIDS karena kondisi *immunodeficiency* dan merupakan salah satu komplikasi yang paling tinggi angka kejadiannya di rongga mulut. Manifestasi dapat merupakan gejala dan tanda infeksi virus akut, keadaan asimptomatis berkepanjangan hingga manifestasi AIDS berat (Reznik, 2005).

Dari hasil penelitian pendahuluan dilaporkan bahwa ditemukan *Candida albicans* dalam konsentrasi yang tinggi dibandingkan dengan spesies *Candida*

yang lain pada penderita HIV/AIDS (Retno *et al*, 2009). Hal ini sesuai dengan penemuan beberapa peniliti terdahulu, antara lain Leblond *et al* (2000); Yokoyama *et al* (2000) dan Regina (2001) yang mengatakan bahwa *C.albicans* merupakan jamur yang dominan pada penderita dengan keadaan *immunocompromised* seperti halnya pada penderita HIV/AIDS.

Hasil penelitian Retno *et al*, (2009) menyebutkan bahwa perawatan dengan pemberian obat ARV (*Anti Retroviral Virus*) pada penderita HIV/AIDS dapat mempengaruhi *C.albicans* secara genetik yang ditunjukkan dengan adanya polimorfisme *C.albicans*. Hal inilah yang dapat menyebabkan terjadinya resistensi *C.albicans* terhadap beberapa obat antifungal seperti *nystatin* dan menjadi problem yang serius pada efektifitas *nystatin*, sehingga mulai dipikirkan alternatif lain untuk mengatasi masalah tersebut. Perkembangan terakhir dari penelitian tentang teh didapatkan bahwa polifenol teh hijau yaitu -(-)*epigallo catechin gallate* (EGCG) mampu merusak dan meningkatkan permeabilitas membran sel bakteri maupun jamur sehingga beberapa antibiotik maupun anti jamur menjadi sangat efektif meskipun pada konsentrasi di bawah MIC (*Minimum Inhibition Concentration*) terhadap bakteri maupun jamur yang resisten (Hirasawa *et al*, 2003).

Mengingat obat antifungal generasi terbaru dirasa mahal oleh sebagian besar penderita HIV/AIDS, maka sangat perlu dicari solusi dengan mengkaji efek kombinasi dari *nystatin*, hal ini dikarenakan antifungal tersebut adalah obat yang masih terjangkau oleh masyarakat di Indonesia. Berdasarkan hal tersebut di atas, maka penelitian ini dapat menjadi kajian ilmiah bagi pengembangan obat tradisional yang diharapkan mampu meningkatkan efektifitas *nystatin* terhadap

C.albicans yang resisten. Selain itu, diharapkan dengan adanya kombinasi antara EGCG dengan *nystatin* mampu menurunkan MIC pada antifungal tersebut. Tujuan penelitian ini akan menguji kemampuan ekstrak air teh hijau dalam meningkatkan efektifitas *nystatin* pada *C.albicans* yang resisten. Harapannya adalah kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin* memiliki MIC yang sama atau lebih kecil daripada MIC *nystatin* tunggal terhadap *C. albicans*. Untuk maksud tersebut akan diuji pengaruh dari ekstrak air teh hijau dengan kadar antara 12,5 hingga 100 mg/L pada pH 7,0 terhadap efektifitas *nystatin* dengan kadar di bawah MIC.

1.2 Rumusan Masalah

Apakah ada perbedaan MIC pada pemberian kombinasi ektrak air teh hijau–*nystatin* dibandingkan dengan pemberian *nystatin* tunggal dalam menghambat kolonisasi *C.ablicans* yang telah resisten ?

1.3 Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Menguji pengaruh kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin* pada pertumbuhan *C.albicans*.

1.3.2 Tujuan Khusus

1. Membuktikan bahwa kombinasi ekstrak air teh hijau -*nystatin* dapat lebih efektif pengaruhnya pada kolonisasi *C. albicans* dibandingkan dengan *nystatin* yang diberikan secara tunggal.

2. Mengetahui konsentrasi optimum pemberian kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin* dalam menghambat kolonisasi *C.albicans.*

1.4 Manfaat

1. Memberikan kontribusi keilmuan tentang pengaruh kombinasi ekstrak air teh hijau–*nystatin* dalam menghambat pertumbuhan koloni *C.albicans.*
2. Memberikan pertimbangan untuk pengembangan produksi komponen bioaktif ekstrak air teh hijau untuk menurunkan resistensi obat anti jamur (*nystatin*) pada industri farmasi.

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 2
TINJUAN PUSTAKA

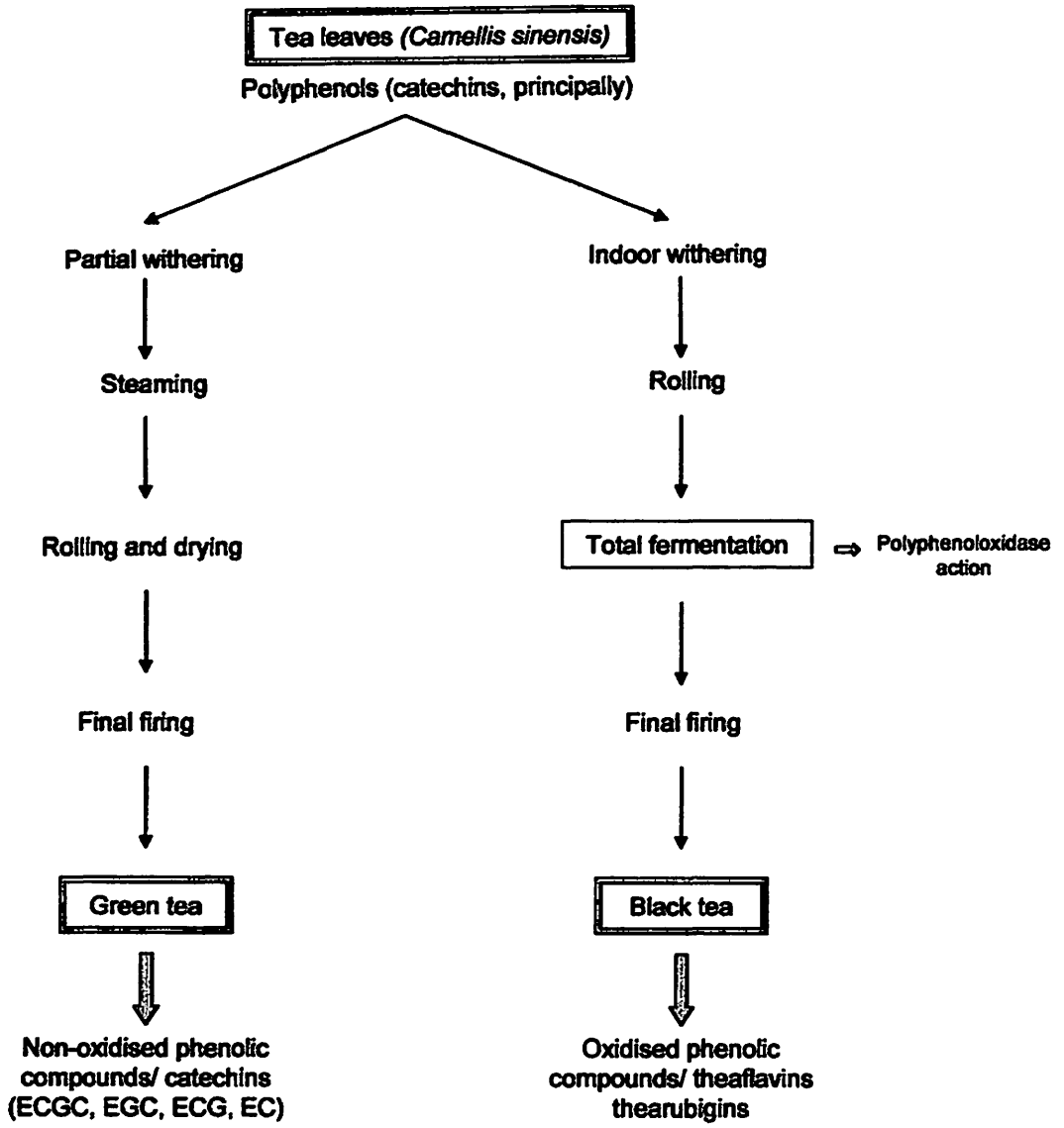
BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Tentang Teh Hijau

Teh hijau diperoleh dari daun tumbuhan *Camellia sinensis* dari familia *Theaceae* dan merupakan salah satu minuman tertua yang digunakan di negara Jepang, China dan Negara Timur jauh yang lain (Wang *et al*., 1992). Teh diklasifikasikan menjadi tiga jenis utama, yaitu teh hijau-non fermentasi, teh oolong-semi fermentasi dan teh hitam-fermentasi. Teh hijau diproduksi dengan cara mengeringkan dan mengukus daun segar untuk menonaktifkan polifenol yang bisa mengalami oksidasi sehingga tidak terjadi oksidasi. Teh oolong dihasilkan dengan melakukan fermentasi parsial pada daun teh sebelum tahap pengeringan dan pengukusan. Teh hitam mengalami proses fermentasi sebelum pengeringan dan pengukusan. (Cabrera *et al,* 2006)

Gambar 2.1 : Tanaman Teh hijau (Noerhayati (2010); wikipedia (2003))



Gambar 2.2 : perbedan proses pembuatan teh hiaju dan teh hitam dan pengaruhnya terhadap kandungan polifenol (Cabrera *et al,* 2006)

Walaupun manfaat kesehatan dari teh hijau telah diketahui sejak lama, namun penelitian tentang teh hijau ini mash sering dilakukan selama kurang dari tiga dekade. Pengujian secara *in vitro*, hewan percobaan dan juga uji klinis menunjukkan bahwa polifenol teh hijau (GTP) dapat berperan dalam menangani beberapa penyakit kronis diantaranya adalah penyakit jantung dan kanker, selain

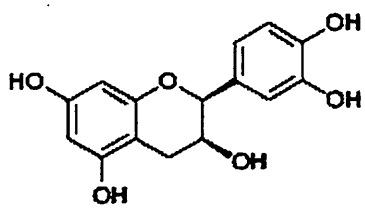
itu beberapa penelitian menunjukkan adanya manfaat teh hijau terhadap masalah kepadatan tulang, fungsi kognitif, karies gigi, batu ginjal, dll.

Komposisi kandungan dari teh hijau merupakan komposis kimia yang kompleks, yaitu terdiri dari:

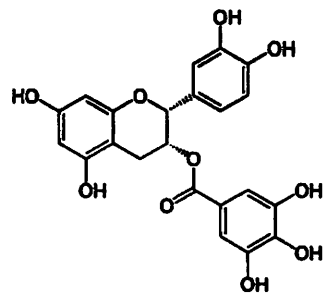
1. Protein (15-20% berat kering) merupakan suatu fraksi enzim yang penting.
2. Asam amino (1-4% berat kering) seperti tanin atau *5-Nethylglutamine*, asam glutamat, triptofan, glisin, serin, asam asparat, tirosin, valin, leusin, treonin, arginin, lisin
3. Karbohidrat (5-7% berat kering) seperti selulosa, pectin, glukosa, fruktosa, sukrosa.
4. *Lipid* seperti linoleat dan asam linolenat
5. Sterol seperti stigmasterol
6. Vitamin (vitamin B, C, E)
7. *Xanthic* pigmen dasar seperti kafein dan teofilin
8. Sebagai klorofil dan karotenoid
9. Senyawa volatil seperti aldehid, alkohol, ester, lactones, hidrokarbon, dll.
10. Mineral dan elemen tambahan (5% berat kering) seperti Ca, Mg, Cr, Mn, Fe, Cu, Zn, Mo, Se, Na, P, Co, Sr, Ni, K, F dan Al.

Pilofenol merupakan bagian yang menarik dari daun teh hijau, khsusnya flavonoid. Flavonoid disintesis dari turunan fenol dalam jumlah yang besar (0.5-1.5%) dan memiliki variasi (lebih dari 4.000 variasi yang teridentifikasi), serta terdistribusi secara luas di berbagai tanaman. Flavonoid pada teh hijau di tunjukkan termasuk dalam bentuk *catechin*. Empat *catechin* utama yaitu (-)-*epigallocatechin-3-gallate* (EGCG) 15,1%, (-)-*epigallocatechin* (EGC) 6,9%, (-)-

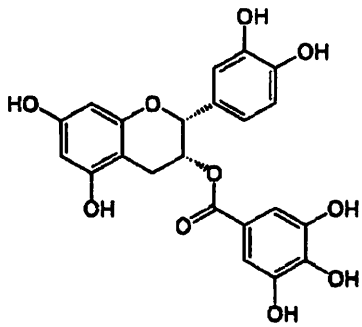
epicatechin-3-gallate (ECG) 3,0%, (-)-*epicatechin* (EC) 1,8 %, (+)-*catechin* 0,5 %, *caffein* 8,1 % dan *theobromin* 0,4 % atau jika dibuat 1,25 % ekstrak teh dalam air panas kira-kira mengandung EGCG 708 ppm, EGC 324 ppm, EGC 141 ppm, EC 84 ppm, katekin 23 ppm, *caffein* 380 ppm dan teobromin 19 ppm (Wang *et al*, 2001). Rumus kimia dari beberapa senyawa *catechin* dapat dilihat pada gambar 2.3 di bawah ini.



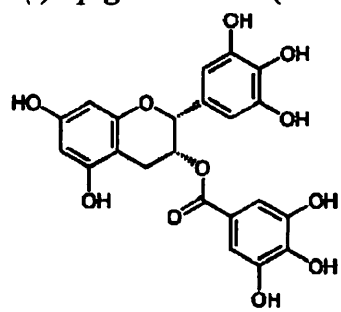
(-)-epicatechin (EC)



(-)-epigalloctechin (EGC)



(-)-epicatechin gallate (ECG)



(-)-epigallo catechin gallate (EGCG)

Gambar 2.3 : Struktur kimia beberapa senyawa *catechin* (Bigelow *et al*, 2006)

Catechin teh hijau dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri dan antivirus (Cabrera *et al*, 2006; Sudano *et al*, 2004). Ekstrak air teh hijau (*Camellia sinensis*) telah terbukti memiliki aktivitas *reverse β-lactam resistance* pada *methicillin-resistant Staphylococcus aureus* (MRSA). Hal ini membuktikan bahwa ekstrak air teh hijau dapat digunakan untuk mengembalikan aktivitas beberapa antibiotik akibat terjadinya resistensi. Pemberian (-)-*epicatechin gallate* (ECG) dan (-)-

catechin gallate (CG) pada MRSA akan menurunkan *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) masing-masing dari 256 mg/L dan 512 mg/L menjadi hanya sekitar 1-4 mg/L (Stapleto *et al.*, 2004). Efek sinergisme pada pemberian teh hijau dengan *amphotericin B* dan *fluconazole* telah dipelajari oleh Hirasawa dan Takada (2004). Kombinasi EGCG dari teh hijau 3.12-12.5 mg/L dan *amphotericin B* 0.5 mg/L (di bawah MIC) menunjukkan penurunan pertumbuhan dari *amphotericin B-resistant C.albicans* dan kombinasi EGCG dari teh hijau 12.5 mg/L dengan *fluconazole* 10-50 mg/L (di bawah MIC) dapat menghambat pertumbuhan dari *fluconazole-resistant C.albicans* hingga 98,5-99,7%. Yanagawa *et al* (2003) juga mengatakan bahwa -(-)*epigallo catechin gallate* (EGCG) hanya memiliki aktivitas antibiotik yang kecil terhadap *Helicobacter pylori*, tetapi setelah dikombinasikan dengan amoksisilin, ternyata EGCG mampu meningkatkan aktivitas amoksisilin.

Menurut Ahmad (2009) kandungan *catechin* memiliki daya anti jamur yang lebih kuat dibandingkan dengan kandungan *caffein*. Hal ini disebabkan karena *catechin* mengandung komponen yang disebut dengan EGCg (*epigallo-catechin gallate*) dimana komponen ini memiliki kemampuan dalam mengganggu atau menghambat metabolisme *folic acid*. Dengan terganggunya metabolisme *folic acid*, maka *Candida albicans* tidak dapat tumbuh karena *folic acid* merupakan komponen yang mempengaruhi kerja enzim dimana enzim – enzim tersebut berperan dalam sintesis dinding sel. Hal ini berdampak pada terhambatnya pertumbuhan *Candida albicans*.

2.2 *Nystatin*

Nystatin merupakan antibiotik polien yang diambil dari *Streptomyces noursei*, sangat aktif dalam menghambat pertumbuhan dari berbagai jamur, tetapi sedikit atau hampir tidak ada efek terhadap bakteri, protozoa, dan virus. *Nystatin* merupakan obat yang berupa bubuk, berwarna kuning kemerahan dan bersifat higroskopis, berbau khas, sukar larut dalam air, kloroform dan eter (Rahardjo, 2008).

2.2.1 Aktivitas Anti jamur

Nystatin memiliki spektrum aktivitas yang lebih sempit dari *amphotericin B*, tapi *nystatin* masih aktif melawan sejumlah spesies *candida, histoplasma, cryptococcus, blastomyces*, dan *dermatofita epidermophyton, trichophyton*, dan *microsporum*. Sama seperti *amphotericin B, nystatin* bisa bersifat fungisid maupun fungistatik tergantung dari konsentrasi obat yang ada, pH medium yaitu sekitar 6,5-8. Pada penelitian pendahuluan yang dilakukan oleh Jackson *et al* (2009), ditemukan bahwa MIC dari *nystatin* terhadap *C.albicans* sebesar 0.165 mg/ml. Mekanisme aksi *nystatin* yaitu berikatan kuat dengan ergosterol yang terdapat pada membran jamur. Ergosterol adalah golongan sterol yang merupakan komponen penyusun membran spesifik pada jamur dan tidak terdapat pada mikroorganisme lain.Ikatan ini akan menyebabkan membran mengalami peningkatan permeabilitas sehingga beberapa bahan intraseluler akan keluar dan mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut. In vitro, beberapa spesies *Candida*, seperti *C.tropicalis, C.Guillermondi,* dan *C.stellatiodes* dapat mengembangkan resistensi pada *nystatin*, tapi resistensinya jarang diteliti secara klinis. Sedangkan

menurut Rahardjo (2008) menyatakan bahwa kemungkinan resistensi dapat timbul karena menurunnya jumlah sterol, perubahan sifat struktur dan perubahan sifat ikatan pada membran sel jamur.

2.2.2 Farmakokinetik

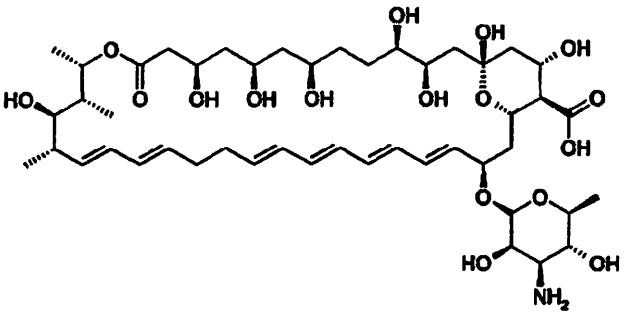
Nystatin hampir tidak diabsorbsi oleh kulit, membran mukosa, atau saluran cerna. Semua *nystatin* yang masuk ke dalam saluran cerna dikeluarkan kembali melalui tinja, sehingga tidak ditemukan adanya *nystatin* di dalam darah atau jaringan. Karena toksisitas sistemik yang tidak dapat diterima, *nystatin* tidak pernah diberikan secara parenteral. Bentuk terbaru dari *nystatin* yang terbungkus dalam liposom menunjukkan pengurangan toksisitas sistemik, membuatnya menjadi agent antifungal yang aktif. Selain itu juga, *nystatin* dengan liposom telah disarankan untuk target spesies *Candida* yang resisten terhadap *amphotericin B* (Gunawan, 2007).

2.2.3 Indikasi

Nystatin digunakan terutama untuk merawat infeksi *candidiasis* di mukosa, kulit, traktus intestinal, dan vagina. Walaupun efektifitas *nystatin oral* untuk *candidiasis enteric* masih dipertanyakan, namun *nystatin* topikal masih menjadi obat pilihan untuk perawatan infeksi *candidiasis* di rongga mulut (moniliasis oral, sariawan, stomatitis). Dosis *nystatin* dinyatakan dalam unit, tiap 1 mg obat mengandung 200 unit *nystatin*. Untuk perawatan *candidiasis oral*, 2 – 3 ml suspensi mengandung 100.000 unit/ml *nystatin* ditaruh di tiap sisi mulut, dikibaskan, dan ditahan 5 menit sebelum ditelan. Pemberian ini diulangi setiap 6

jam selama kurang lebih 10 hari atau 48 jam setelah remisi gejala. *Nystatin* dapat ditoleransi dengan baik, hanya gangguan saluran pencernaan ringan dan sementara seperti mual, vomitus dan diare pernah terjadi setelah ingesti oral. Keluhan utama dihubungkan dengan rasa *nystatin* yang pahit. (Gunawan, 2007)

Di bawah ini adalah struktur kimia dari *Nystatin.*



Gambar 2.4 : Struktur Kimia *Nystatin* (wikipedia, 2010)

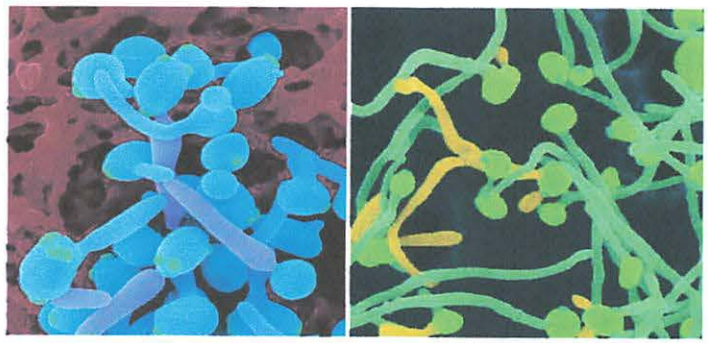
2.3 *Candida albicans*

Candida albicans (*C.albicans)* adalah jamur yang berbentuk bulat, agak lonjong, dan berwarna putih, merupakan genus yang termasuk dalam keluarga *Cryptococcaceae* yang memiliki 11 genus, akan tetapi hanya 7 spesies yang ditemukan di rongga mulut, vagina dan saluran pencernaan manusia yaitu *C.albicans, C.tropicalis, C.stellatoidea, C.pseudotropicalis, C.crusei, C.parapsilosis* dan *C.guilliermondii.* Dari beberapa spesies *candida* yang ada, spesies yang paling patogen adalah *C.albicans* karena merupakan spesies yang banyak ditemukan di permukaan mukosa dan paling sering menyebabkan infeksi di mukosa rongga mulut (Casadevall, 2002). Konsep penting dari patogenesis infeksi *C.albicans* adalah multifaktorial yang melibatkan faktor virulensi dari *C.albicans* dan *immunological state* dari host. Faktor virulensi *C.albicans* ditentukan oleh dinding sel dan sifat dimorfik dari *C.albicans.* Dinding sel

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

berperan penting karena merupakan bagian yang berinteraksi langsung dengan sel pejamu. Dinding sel *candida* mengandung zat yang penting untuk virulensinya, antara lain turunan *mannoprotein* yang mempunyai sifat imunosupresif sehingga mempertinggi pertahanan jamur terhadap imunitas pejamu. *Candida* tidak hanya menempel, namun juga berpenestrasi ke dalam mukosa. Enzim *proteinase aspartil* membantu *Candida* pada tahap awal invasi jaringan untuk menembus lapisan mukokutan yang berkeratin. Selain dinding sel, virulensi *candida* juga ditentukan oleh sifat dimorfik yaitu kemampuan *candida* berubah bentuk menjadi *pseudohifa.* Sifat morfologi yang dinamis merupakan cara untuk beradaptasi *C.albicans* dengan keadaan sekitar.



Gambar 2.5 : gambar *C.albicans* (Dennys K, 2004)

Untuk menimbulkan penyakit atau menginfeksi manusia oleh *C.albicans*, dibutuhkan :

1. Kemampuan untuk melekat atau menyerang jaringan host
2. Kemampuan untuk berkolonisasi
3. Kemampuan untuk menghindar dari sistem imun host
4. Kemampuan untuk merusak jaringan host

Sesuai dengan berjalannya waktu sering ditemukan adanya resistensi dari *C. albicans* terhadap pemberian anti jamur. Berdasarkan penelitian dari Virina *et al* (2000) mengatakan bahwa didapatkan perbedaan komposisi dan karakteristik

Candida albicans yang resisten terhadap antibiotik golongan *polyene*. Sesuai dengan perkembangan resistensi *C.albicans* terhadap antibiotik *polyene*, menunjukkan adanya penurunan kemampuan dalam sintesis ergosterol dan pergantian substansi komponen sterol dengan asam lemak bebas dalam jumlah yang banyak.

2.3.1 Ciri *C.albicans*

C.albicans akan tumbuh pada media tertentu yang terdiri dari garam, karbon (misalnya glukosa), nitrogen, dan fosfat. Organisme ini akan tumbuh pada temperatur berkisar antara 20 ^{0}C – 40 ^{0}C dan pH antara 2-8.

C.albicans adalah jamur yang mempunyai dua bentuk morfologi (Samaranayake, 1990), yaitu :

1. *Yeast* atau *yeast-like,* terlihat sebagai kumpulan 1,5-5 μm dan panjang 3-14 μm. Sel tersebut melekat pada *pseudomycellium* dalam kelompok kecil dan disebut blastospora.
2. *Mycellium*, sel yang membentuk ekor yang panjang pada pembiakan serum manusia atau hewan. Bentuk ini terllihat sebagai tonjolan yang akhirnya akan membentuk sekumpulan *pseudomycellium.*

2.3.2 Identifikasi *C.albicans*

C.albicans dapat diidentifikasi untuk membedakannya dengan spesies *candida* lainnya dengan melalui berbagai metode :

1. Terbentuknya *germ-tubes* bila dibiakkan dalam serum darah manusia atau hewan selama 2 jam pada suhu 37 ^{0}C.

2. Terbentuknya *chlamydospores* bila dibiakkan pada media yang kurang nilai nutrisinya seperti *corn meal agar*.
3. Dengan reaksi fermentasi gula.
4. Dengan reaksi pembentukan antigen-antibodi komplek.

C.stelatoidea dapat dibedakan dengan *C.albicans* berdasarkan ketidak mampuannya untuk mengasimilasi sukrosa. Akan tetapi, karena homologi DNAnya yang tinggi pada kedua *candida* tersebut maka diklasifikasikan bahwa *C.steloidea* sebagai varian dari *C.albicans* yang menunjukkan reaksi negatif terhadap sukrosa.

2.4 HIV dan *oral Candidiasis*

Kasus HIV/AIDS semakin merambah dan mulai mengkhawatirkan. Sesuai dengan data dari komisi penanggulangan AIDS, di Indonesia jumlah kasus HIV/AIDS hingga akhir Maret 2009 mencapai 16.964 kasus dan proporsi terbesar terdapat pada kelompok usia 20-29 tahun yaitu sebanyak 50.50%.

Gambar 2.6 *Oral candidiasis* pada penderita HIV (Spach, 2010)

Oral Candidiasis sering dijumpai kapan saja dalam perjalanan infeksi HIV/AIDS, hal ini terjadi karena kondisi *immunocompromised* yang lazim menyertai penderita HIV/AIDS dan merupakan salah satu komplikasi yang paling tinggi angka kejadiannya di rongga mulut. Sampai saat ini masih belum jelas tipe sel dan reseptor pada mukosa rongga mulut yang dijadikan sebagai target utama dari virus HIV. Namun demikian, dilaporkan bahwa perubahan sel epitel rongga mulut yang disebabkan oleh HIV, mengakibatkan terjadinya penurunan CD4 sel T pada mukosa dan menurunnya sitokin Th1 dalam saliva penderita HIV kronis, hal ini yang memicu terjadinya infeksi oportunistik (Greenspan, 2005). Fungsi penting sel T *helper* antara lain menghasilkan zat kimia yang berperan sebagai stimulasi pertumbuhan dan pembentukan sel-sel lain dalam sistem imun dan pembentukan antibodi, sehingga penurunan sel T CD4 menurunkan imunitas dan menyebabkan penderita mudah terinfeksi (Roitt *et al*, 2001)

Di masa lalu infeksi di rongga mulut penderita HIV/AIDS kurang diperhitungkan, namun sekarang harus mendapat perhatian serius karena mempunyai potensi mendorong penderita ke arah kematian. Dilaporkan meningkatnya infeksi jamur dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas penderita *immunocompromised* (HIV/AIDS) (Nasronudin, 2007). Keadaan *immunodeficiency* pada sel host juga akan mengakibatkan terjadinya gangguan produksi sitokin, diantaranya adalah IL - 1β dan TNF – α yang mengakibatkan terjadi gangguan fungsi fagositosis *Polymorphonuclear* (PMN) dan makrofag (Dubois *et al,* 1998; Herring *et al,* 2002). Gangguan pada fungsi sel imunokompeten juga akan menurunkan pertahanan jaringan terhadap petumbuhan

C.albicans yang berlebih, sehingga akan memudahkan terjadinya ikatan *C.albicans* pada epitel mukosa. *C.albicans* adalah organisme komensal dalam rongga mulut dan merupakan jamur dimorfik yaitu patogen oportunistik. Di dalam rongga mulut terdapat berbagai strain *C.albicans* dengan karakteristik fenotip tertentu yang menentukan sifatnya sebagai komensal atau patogen. *C.albicans* dalam perkembangannya menjadi patogen dapat melalui dua perubahan yaitu kolonisasi berlebih atau dengan perubahan bentuk (*switching*) dari *blastophore* menjadi *hyphae* (Felk *et al,* 2002). Perubahan status *C.albicans* dari komensal menjad patogen ini berhubungan erat dengan faktor lokal dan sistemik yang sampai saat ini masih sulit untuk dijelaskan secara tuntas dalam eksperimen (staib *et al,* 2000; Willis *et al*, 2001). Keberhasilan *C.albicans* melekat pada epitel permukaan mukosa rongga mulut merupakan awal terjadinya infeksi oleh *C.albicans* yang besifat rekuren dan persisten sehingga sampai saat ini terapinya masih belum memuaskan.

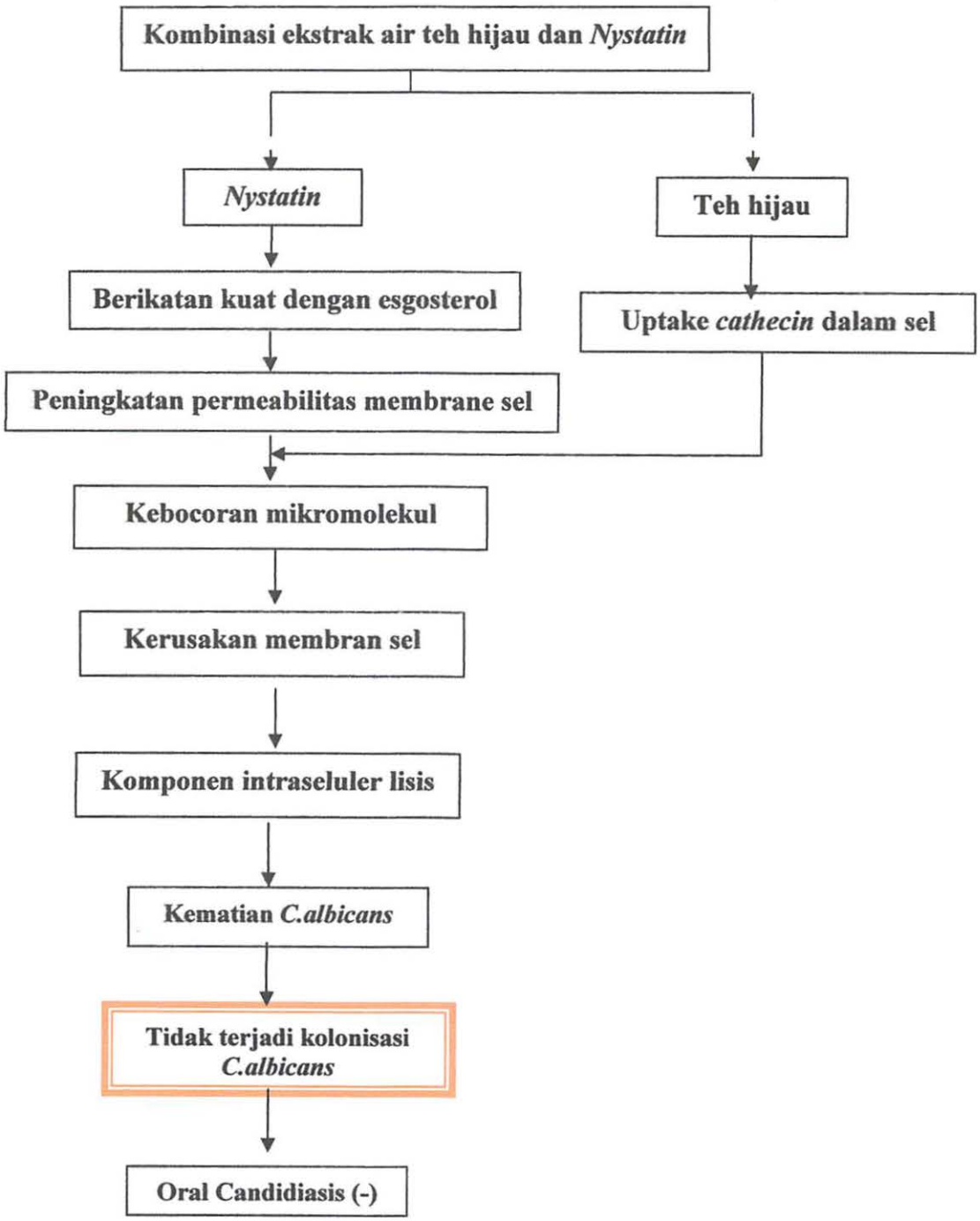
IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 3
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

BAB 3

KERANGKA KONSEPTUAL dan HIPOTESIS PENELITIAN

3.1 Kerangka Konseptual



Kondisi *immunocompromised* yang lazim menyertai penderita HIV/AIDS mengakibatkan terjadi penurunan CD4 sel T pada mukosa dan menurunnya sitokin Th1 dalam saliva penderita HIV kronis, hal ini yang memicu terjadinya infeksi oportunistik (Greenspan, 2005). Infeksi yang paling banyak ditemukan pada sekitar 90% penderita HIV/AIDS adalah oral candidiasis. *Oral candidiasis* pada penderita HIV/AIDS terjadi karena terdapat gangguan pada fungsi sel imunokompeten yang akan menurunkan pertahanan jaringan terhadap pertumbuhan *C.albicans* yang berlebih, sehingga akan memudahkan terjadinya ikatan *C.albicans* pada epitel mukosa. Keberhasilan *C.albicans* melekat pada epitel permukaan mukosa rongga mulut merupakan awal terjadinya infeksi oleh *C.albicans* yang bersifat rekuren dan persisten (Felk *et al*, 2002).

Pemberian terapi kombinasi antara ektrak air teh hijau dengan *nystatin* diharapkan dapat bekerja secara sinergis melawan kolonisasi *C.albicans*. *Nystatin* akan berikatan kuat dengan ergosterol yang terdapat pada membran jamur. Ikatan ini akan menyebabkan membran mengalami peningkatan permeabilitas sehingga beberapa bahan intraseluler akan keluar dan mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut (Rahardjo, 2008). Berdasarkan penelitian Hirasawa pada tahun 2004, yang telah membuktikan adanya efek sinergisme melalui aksi multipel fungsi antara kombinasi teh hijau dengan *amphotericin* B, maka aksi *nystatin* pada membran sel fungi diharapkan juga akan merangsang *up take* catechin ke dalam sel yang menyebabkan kebocoran mikromolekul diantara *liposomal space* dengan agregasi liposom sehingga menyebabkan kerusakan membran sel fungi, selanjutnya terjadi lisis sel sehingga tidak terdapat kolonisasi *C.albicans*.

3.2 Hipotesis Penelitian

Ada perbedaan MIC antara pemberian *nystatin* tunggal dibandingkan dengan kombinasi ektrak air teh hijau–*nystatin* dalam menghambat kolonisasi *C.ablicans* yang telah resisten.

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 4
METODE PENELITIAN

BAB 4

METODE PENELITIAN

4.1 Jenis Penelitian

Jenis penelitian adalah penelitian eksperimental laboratoris

4.2 Sampel

4.2.1 Jenis Sampel

Sampel penelitian menggunakan stok *C.albicans* yang diambil dari mukosa rongga mulut penderita dengan diagnosa pasti pasien HIV/AIDS di UPIPI RSUD dr. Soetomo Surabaya yang telah mendapatkan terapi ARV dan antjamur jangka panjang.

4.2.2 Kriteria Sampel

Kultur stok *C.albicans* isolat yang diiambil dari penderita HIV/AIDS positif yang dirawat di UPIPI RSUD dr. Soetomo Surabaya dan telah mendapatkan terapi ARV dan anti jamur jangka panjang.

4.2.3 Besar Sampel dan Replikasi

Pada penelitian ini digunakan satu sampel *C. albicans* dengan jumlah replikasi yang dihitung berdasarkan rumus replikasi oleh Gasperz (1991) :

$$r = \frac{2t^2(S)^2}{d^2}$$

Keterangan : r = Jumlah Replikasi

$t^2 = \alpha = \frac{0,05}{2}$, pada derajad kebebasan 6= $2,45^2 = 6,0$

S^2 = Simpangan baku populasi = 0,07

d^2 = Kesalahan absolut yang dapat ditolerir pada signifikansi 95% = $0,4^2$

$$r = \frac{2 \, x \, 6,0 \, x \, 0,07}{0,4^2} = 5,25 \text{ (dibulatkan menjadi 5)}$$

Pada penelitian terdahulu oleh Carillo *et al* (1999) digunakan 7 sampel Candida albicans sehingga dapat ditetapkan $t^2 = \alpha = \frac{0,05}{2}$ pada derajat kebebasan 6 = 2,45 dan S^2 = simpangan bakupopulasi = 0,07. Dari perhitungan rumus replikasi ditemukan bahwa untuk mendapatkan hasil penelitian yang valid diperlukan replikasi sebanyak 5 kali.

4.3 Variabel Penelitian

4.3.1 Variabel Bebas

Besar konsentrasi obat anti jamur (*nystatin)*.

4.3.2 Variabel Kendali

a. Stok jamur *Candida albicans* dari pasien HIV/ AIDS.

b. Konsentrasi ekstrak teh hijau

4.3.3 Variabel Terikat

Pertumbuhan *Candida albicans* pada media SDA yang telah diaplikasikan *nystatin* tunggal

Pertumbuhan *Candida albicans* pada media SDA yang telah diaplikasikan kominasi ekstrak air teh hijau-*nystatin*

4.4 Definisi Operasional

a. Variabel besar konsentrasi *nystatin* adalah konsentrasi *nystatin* mula-mula sebesar 100%, selanjutnya dilakukan penipisan serial menjadi konsentrasi 50%, 25%, 12,5% , 6,255% , 3,125% , 1,563% , dan 0,781%.

b. Variabel kultur *C.albicans* adalah jamur stok *C.albicans* yang didpatkan dari pasien dengan diagnosa pasti HIV/AIDS dan telah mendapatkan terapi ARV yang disimpan di ITD, selanjutnya stok tersebut ditanam dan dibiakkan.

c. Variabel konsentrasi ekstrak teh hijau adalah konsentrasi ekstrak teh hijau sebesar 100%.

d. Variabel Pertumbuhan *Candida albicans* pada media SDA yang telah diaplikasikan *nystatin* tunggal adalah adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada SDA yang merupakan hasil dari penanaman proses pengenceran serial *nystatin.*

e. Variabel pertumbuhan *Candida albicans* pada media SDA yang telah diaplikasikan ekstrak air teh hijau- *nystatin* adalah adanya pertumbuhan *Candida albicans* pada SDA yang merupakan hasil dari penanaman proses pengenceran serial *nystatin.*

4.5 Instrumen Penelitian

4.5.1 Bahan Penelitian

Bahan yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Teh hijau kemasan
2. *Sabouraud broth*
3. *Sabouraud* agar miring
4. *sabouraud dextrose agar* (SDA)
5. kultur *Candida albicans* isolat yang diambil dari penderita HIV/ AIDS yang dirawat di UPIPI RSUD dr.Soetomo Surabaya
6. serbuk *nystatin* N3503-50MU "sigma"
7. Akuades steril
8. *Dimethyl sulfoxide* (DMSO)

Gbr. 4.1 Bahan Penelitian

4.5.1 Alat Penelitian

Alat yang dipergunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Oese, mikropipet, pipet
2. Spiritus brender
3. Inkubator 37 ^{o} C
4. *Autoclave, Vortex*
5. 10 tabung reaksi dan rak

6. *Spreader*
7. Alat timbang, Timbangan digital
8. *Centrifugator*
9. Ependorf, *Disposable syringe* 5cc
10. *Freeze drier*

Gbr 4.2 Alat – Alat Penelitian

4.6 Lokasi Penelitian

a. Proses *freeze drying* ekstrak air teh hijau dilakukan di Balai Penelitian dan Konsultasi Industri.
b. Proses pengambilan stok *C. albicans* dilakukan di Institut Tropical Disease (ITD).
c. Proses penimbangan obat *nystatin* dilakukan di Laboratorium Analisis Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
d. Proses pengenceran serial dan perhitungan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga.

4.7 Prosedur Penelitian.

4.7.1 Tahap Pembuatan Ekstrak Air Teh Hijau

6,25 gram daun teh hijau dicampurkan dalam 500 ml air akuades mendidih. Setelah itu didiamkan terlebih dahulu, kemudian disaring dan diambil airnya. Air hasil saringan tersebut dilakukan *freeze drying* agar zat-zat yang terkandung dalam ekstrak teh hijau tidak rusak. Prinsip kerja *freeze drying* meliputi pembekuan larutan, menggranulasikan larutan yang beku tersebut, mengkondisikannya pada *vacum ultra-high* dengan pemanasan yang sedang sehingga mengakibatkan air pada bahan pangan tersebut akan menyublim dan akan menghasilkan produk padat (*solid product*). Granula-granula yang membeku tersebut kemudian dibawa menggunakan konveyor menuju ruangan vakum yang dioperasikan secara kontinyu. Selama proses pengeringan suhu produk umumnya tidak lebih dari 50°C. Proses *freeze drying* menghasilkan 2,5g serbuk ekstrak teh hijau.

4.7.2 Pengambilan Sampel (stok *C.albicans*)

Stok *C. albicans* diambil dari refrigerator bersuhu -80° C kemudian didiamkan selama 45 menit dan dilakukan vortex selama 1 menit. Stok *C.albicans* ditanam ke dalam 2 tabung berisi *sabouraud broth* cair dengan menggunakan mikropipet dan disimpan di dalam inkubator bersuhu 37° C selama 2x24 jam laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga untuk dilakukan penanaman ulang

4.7.3 Kultur stok

Setelah diinkubasi, stok dikeluarkan dan ditanam pada media SDA miring dengan teknik *stricky*, setelah itu dilakukan inkubasi selama 1x24 jam. Selanjutnya media agar miring tersebut disimpan ke dalam *refrigerator*.

4.7.4 Pemerikasaan MIC

4.7.4.1 Pemeriksaan MIC *nystatin* tunggal

Nystatin memiliki sifat sukar larut terhadap air, sehingga sebelum melakukan uji MIC, *nystatin* dilarutkan terlebih dahulu ke dalam DMSO. DMSO bersifat sebagai emulgator yang menyatukan obat *nystatin* dengan akuades steril sebagai pelarut. Pencampuran dilakukan dengan cara mencampurkan 1,65 mg *nystatin* dengan 0,2 ml DMSO ke dalam *eppendorf,* kemudian campuran tersebut dipusingkan. Untuk setiap 10 ml larutan, DMSO yang dibutuhkan hanya sebanyak 2% yang setara dengan 0,2 ml, hal ini dikarenakan DMSO dapat menimbulkan efek antimikroba apabila pemberiannya terlalu banyak (Muir, 1996). Pada pemeriksaan MIC dibutuhkan 10 tabung reaksi, pada tabung 1 diisi 10 ml akuades steril yang sudah dicampur dengan larutan nystatin (1,65mg *nystatin* + 0,2 ml DMSO) sehingga didapatkan konsentrasi larutan *nystatin* sebesar 100%, sedangkan tabung 2 sampai 10 diisi 5 ml media sabouraud broth cair steril. Dilakukan pengenceran serial 5ml dari tabung 1 ke tabung ke 2, 5ml dari tabung ke 2 ke tabung 3 demikian seterusnya sampai 8 tabung yang diperlukan, untuk volume tabung 8 dibuang sebanyak 5ml agar didapatkan volume yang sama pada tabung 1-8. Dari pengenceran tersebut didapatkan larutan *nystatin* pada tabung 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3.125%, 1,5625%

dan 0.78125%. Setelah itu pada tabung 1-8 dimasukkan 0,1 ml inokulum berupa kultur cair dengan standart Mc Farland 0.5. Sedangkan dua tabung terakhir (tabung 9 dan 10) digunakan sebagai kontrol positif dan negatif. Sebagai kontrol positif tabung diisi media dan inokulum, sedangkan sebagai kontrol negatif tabung diisi media saja tanpa inokulum. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^0 C. Sebagai cross check dari hasil yang didapat maka setiap tabung ditanam ulang pada media padat sabouraud dextrose agar (Difco). Kemudian untuk setiap pemeriksaan MIC dilakukan replikasi sebanyak 5x.

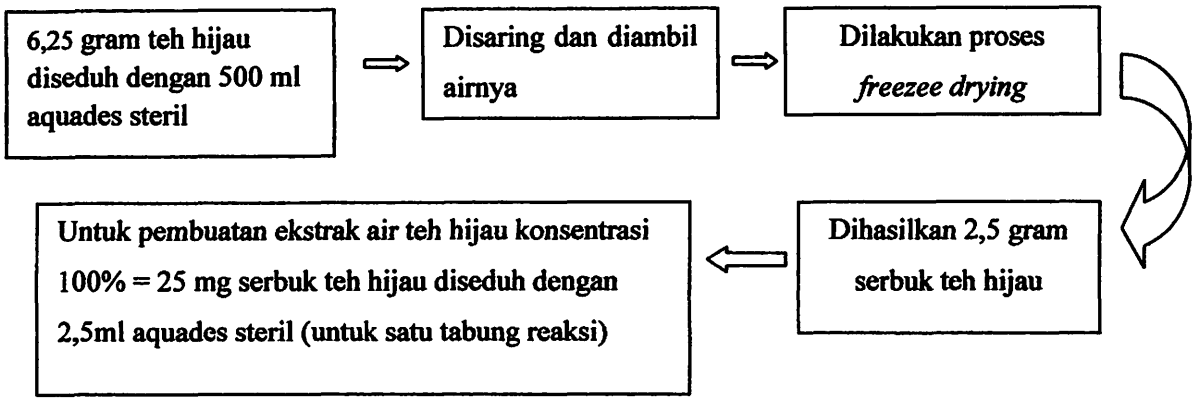
4.7.4.2 Pemeriksaan MIC kombinasi ekstrak air teh hijau dengan *nystatin*

Sebelum melakukan uji MIC, *nystatin* dilarutkan terlebih dahulu ke dalam DMSO dengan cara mencampurkan 1,65 mg *nystatin* dengan 0,2 ml DMSO ke dalam *eppendorf,* kemudian campuran tersebut dipusingkan. Selanjutnya sebanyak 200 mg serbuk teh hijau (25mg untuk 8 tabung) dipanaskan dalam 20 ml akuades murni (2,5ml untuk 8 tabung) sampai mendidih.Pada pemeriksaan MIC dibutuhkan 10 tabung reaksi, pada tabung 1 diisi 7,5 ml akuades murni yang sudah dicampur dengan larutan nystatin (1,65mg *nystatin* + 0,2 ml DMSO) dan ditambah 2,5ml larutan ekstrak teh hijau. Sedangkan tabung 2 sampai 9 diisi 2,5 ml media sabouraud broth cair steril + 2,5ml larutan ekstrak teh hijau. Dilakukan pengenceran serial 5ml dari tabung 1 ke tabung ke 2, 5ml dari tabung 2 ke tabung 3 demikian seterusnya sampai 8 tabung yang diperlukan, untuk tabung volume tabung 8 dibuang sebanyak 5ml agar di dapatkan volume yang sama. Dari pengenceran tersebut didapatkan larutan *nystatin* pada tabung 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 dan 8 adalah 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3.125%, 1,5625% dan 0.78125%.

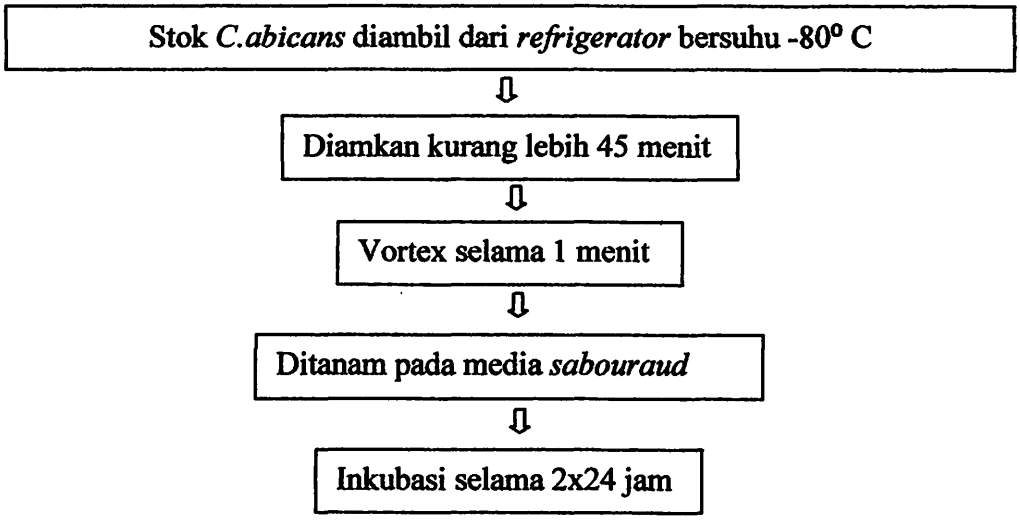
Setelah itu pada tabung 1-8 ditambahkan 0,1 ml inokulum berupa kultur cair *C.albicans* dengan standart Mc Farland 0,5. Tabung 9 digunakan sebagai kontrol positif dan tabung 10 digunakan sebgai kontrol negatif. Sebagai kontrol positif tabung diisi 2,5ml media, 2,5ml larutan ekstrak teh hijau dan 0,1ml inokulum, sedangkan sebagai kontrol negatif tabung diisi 2,5ml media dan 2,5ml larutan ekstrak teh hijau tanpa inokulum. Selanjutnya diinkubasi selama 18-24 jam pada suhu 37^0 C. Sebagai cross check dari hasil yang didapat maka setiap tabung ditanam ulang pada media padat sabouraud dextrose agar (Difco). Kemudian untuk setiap pemeriksaan MIC dilakukan replikasi sebanyak 5x.

4.8 Alur Penelitian

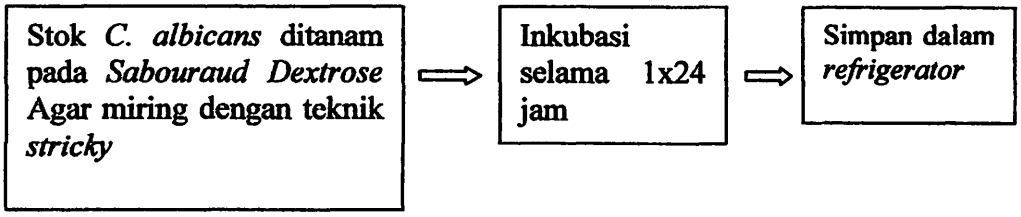
4.8.1 Pembuatan Ekstrak Air Teh Hijau



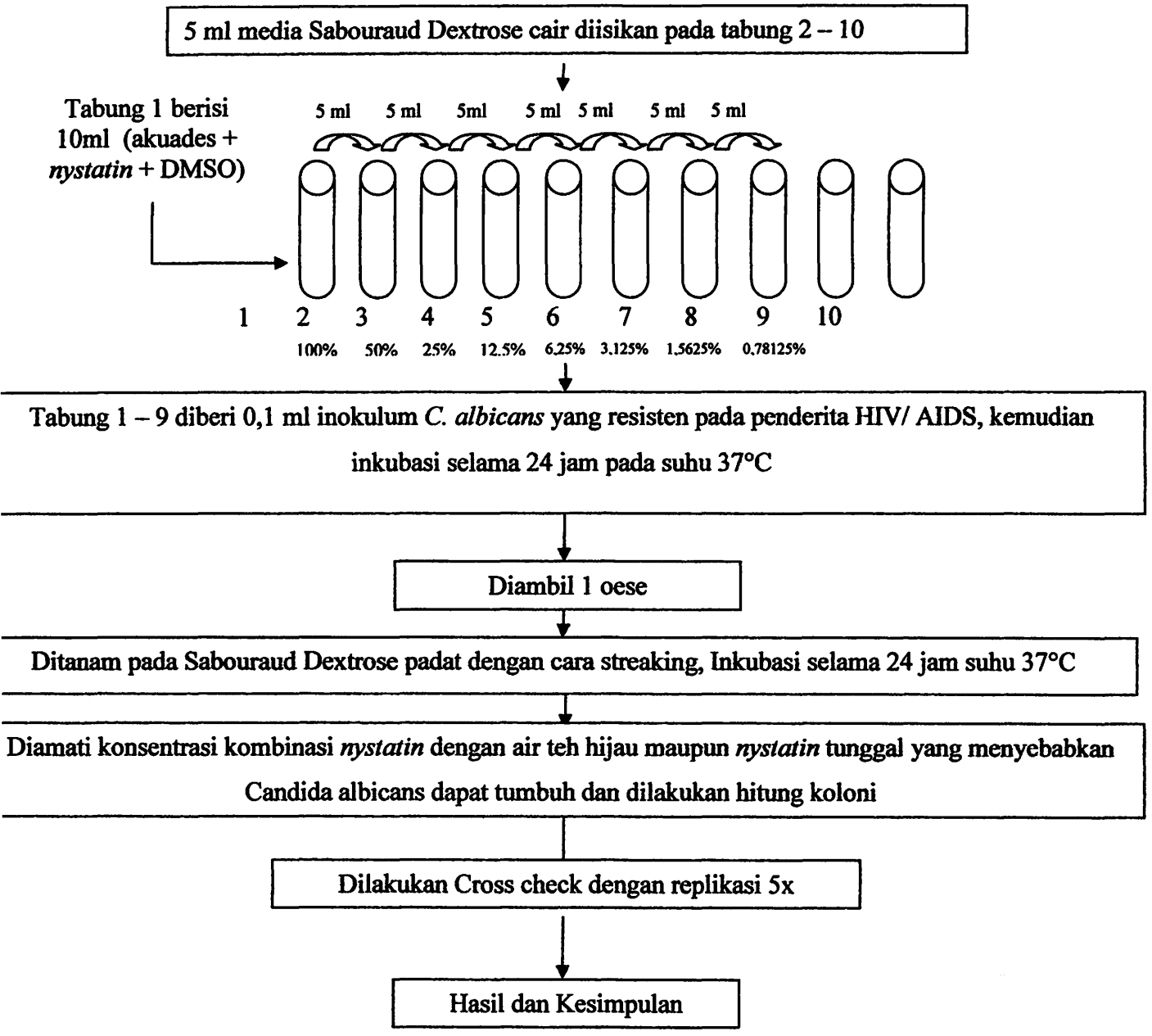
4.8.2 Pengambilan stok



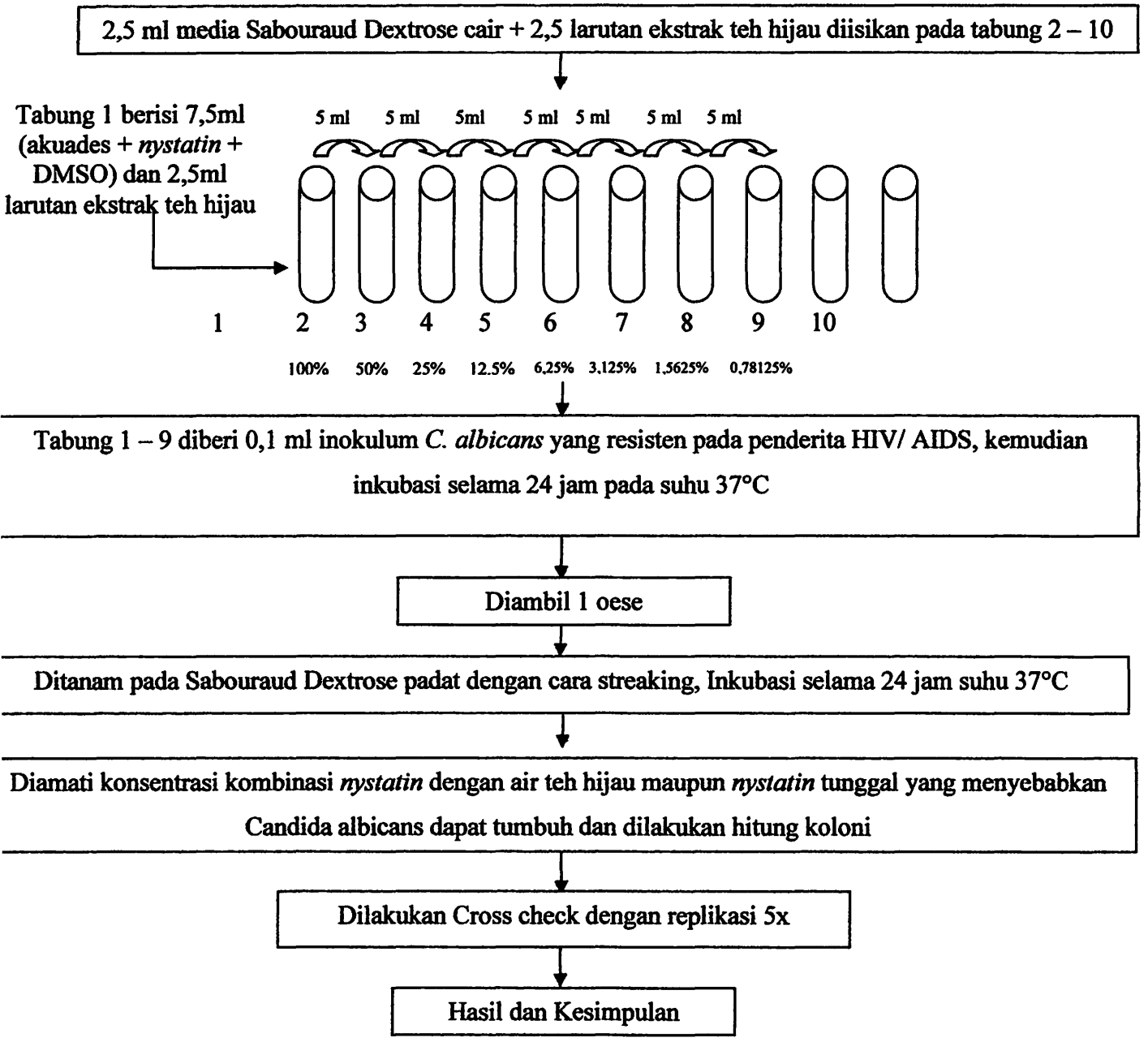
4.8.3 Kultur Stok



4.8.4 Pengenceran serial *Nystatin* tunggal



4.8.5 Pengenceran serial kombinasi ekstrak teh hijau-*Nystatin*



4.9 Analisa Data

Untuk mengetahui daya hambat ekstrak the hijau-*nystatin* terhadap kolonisasi *C.albicans* dapat dianalisa dengan uji normalitas *Kolmogorov-Smirnov Test* dilanjutkan dengan *Independent T-test* dengan taraf kepercayaan 95%.

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 5
HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

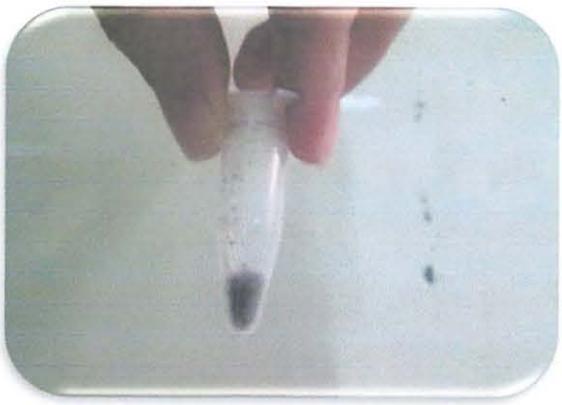
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Hasil Pembuatan Ekstrak Air Teh hijau

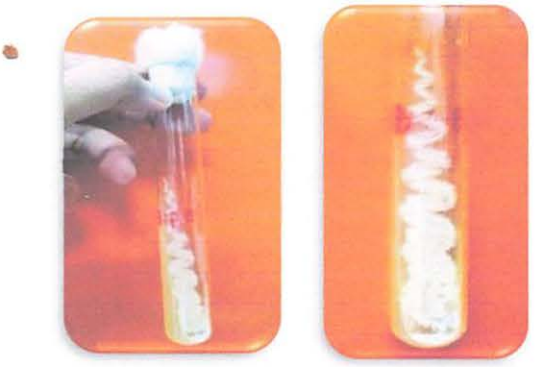
Ekstrak air teh hijau yang diproses dengan metode *freezee drying* menghasilkan 2,5 gram bentukan serbuk padat bergranula yang berwarna coklat kehitaman, berdasarkan hasil laboraturium di balai penelitian dan konsultasi industri laboratorium, di dalam ekstrak tersebut terkandung :

- Polyphenol 81,64%
- Flavonoid 4,81%
- Kafein 2,01%
- Fluoride 0,96%



Gbr 5.1 Serbuk Teh Hijau Hasil *Freeze Drying*

Kemudian dilakukan pengabilan stok dan penanaman lang stok *C.albcans* pada media *Sabouraud Dextrose Agar* serta dilanjutkan dengan pengenceran serial



Gbr 5.2 *C.albicans* yang Ditumbuhkan pada Media *Sabouraud Agar* Miring

5.2 Hasil Penipisan Kombinasi *Nystatin* dan Ekstrak Air Teh Hijau terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yang resisten terhadap penderita HVI/ AIDS

Gambar 5.3 Penipisan kombinasi *nystatin* dan ekstrak air teh hijau dengan menggunakan media *Sabouraud Dextrose* cair yg telah diberi 0,1 ml stok *Candida albicans*

Konsentrasi pada masing – masing Tabung :

Tabung 1 : 100%

Tabung 2 : 50%

Tabung 3 : 25%

Tabung 4 : 12, 5 %

Tabung 5 : 6,25 %

Tabung 6 : 3,125 %

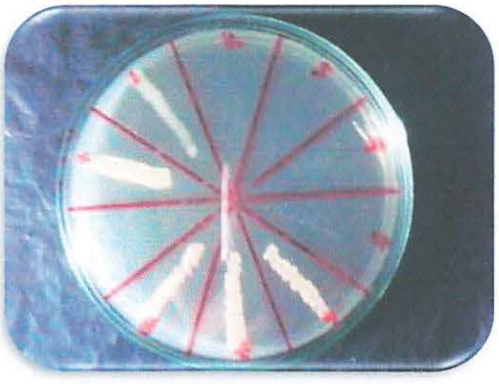
Tabung 7 : 1,5625 %

Tabung 8 : 0,78125 %

Tabung 9 : Kontrol +

Tabung 10 : Kontrol –

Setelah 24 jam, dilakukan penanaman dari tiap kultur *candida albicans* dari tabung 1 – 10 pada media padat *Sabouraud Dextrose* agar yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Adanya pertumbuhan *Candida albicans* ditandai dengan adanya koloni pada media.



Gambar 5.4 : Hasil penanaman ulang penipisan kombinasi *nystatin* dan ekstrak air teh hijau dari tiap kultur *Candida albicans* dari tabung 1 – 10 pada media padat *Sabouraud Dextrose* agar yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Keterangan :

Nomor 1 : nystatin konsentrasi 100% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 2 : nystatin konsentrasi 50% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 3 : nystatin konsentrasi 25% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 4 : nystatin konsentrasi 12.5% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 5 : nystatin konsentrasi 6.25% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 6 : nystatin konsentrasi 3.125% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 7 : nystatin konsentrasi 1.5625% + ekstrak teh hijau + C. albicans

Nomor 8 : nystatin konsentrasi 0.78125% + ekstrak teh hijau + C. Albicans

Tabung 9 : Kontrol +

Tabung 10 : Kontrol –

Pada plate *Sabouraud Dextrose Agar* padat kombinasi *nystatin* dengan ekstrak air teh hijau pada daerah nomor 5, 6, 7, dan 8 terlihat koloni *Candida albicans*. Untuk memastikan pada konsentrasi berapa konsentrasi kombinasi *nystatin* dengan ekstrak air teh hijau dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, maka dilakukan *cross check* pada masing-masing tabung.

5.3 Hasil Penipisan Seri Pemberian *Nystatin* tunggal terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

Gambar 5.5 Penipisan seri *nystatin* tunggal dengan menggunakan media *Sabouraud Dextrose* cair yg telah diberi 0,1 cc stok *Candida albicans*

Nystatin terlebih dahulu dilarutkan dalam 0,2ml DMSO pada eppendorf kemudian dipusingkan. Larutan tersebut dicampur dengan akuades steril sebanyak 9,8ml pada tabung1 sehingga menghasilkan konsentrasi *nystatin* 100%. Kemudian pada tabung 2-10 diberi media *sabouraud dextrose* cair sebaga pengencernya *Nystatin* kemudian ditipiskan dari konsentrasi 100% sampai konsentrasi terendah 0,78125% (tabung ke-8).

Konsentrasi pada masing – masing Tabung :

Tabung 1 : 100%

Tabung 2 : 50%

Tabung 3 : 25%

Tabung 4 : 12, 5 %

Tabung 5 : 6,25 %

Tabung 6 : 3,125 %

Tabung 7 : 1,5625 %

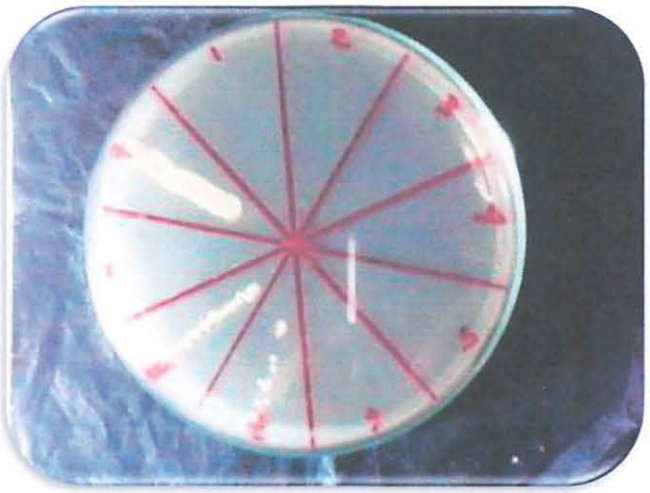
Tabung 8 : 0,78125 %

Tabung 9 : Kontrol +

Tabung 10 : Kontrol –

Setelah itu, pada tabung 1-9 ditambahkan inokulum sebanyak 0,1ml dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C.

Setelah 24 jam, dilakukan penanaman ulang untuk *cross check* dari tiap kultur *Candida albicans* dari tabung 1 – 10 pada media padat *Sabouraud Dextrose* agar yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Adanya pertumbuhan *Candida albicans* ditandai dengan adanya koloni pada media.



Gambar 5.6 :Hasil penanaman ulang dari tiap kultur *Candida albicans* dari tabung 1 – 10 pada media padat *Sabouraud Dextrose* agar yang diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C

Pada plat *Sabouraud Dextrose* agar *nystatin* tunggal pada daerah nomor 6, 7, dan 8 terlihat pertumbuhan koloni *Candida albicans*. Oleh karenanya sebelum dilakukan *cross check*, dilakukan penanaman kembali kultur *Candida albicans* pada masing-masing tabung.

Dari hasil penelitian didapatkan bahwa konsentrasi minimum kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin* yang dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (*MIC*) adalah pada konsentrasi 12,5%. Penelitian diatas melalui tahap pengulangan (replikasi) sebanyak 6 kali dan menunjukkan hasil yang sama.

Sedangkan konsentrasi minimum *nystatin* tunggal yang dapat menghambat petumbuhan *Candida albicans* (*MIC*) adalah pada konsentrasi 12,5%. Penelitian diatas melalui tahap pengulangan (replikasi) sebanyak 6 kali dan menunjukkan hasil yang sama.

Hasil pertumbuhan jumlah koloni *C.albicans* pada *SDA* dapat dilihat di lampiran. Hasil pertumbuhan tersebut diuji normalitasnya dengan menggunakan uji normalitas kolmogorov-smirnov pada masing-masing konsentrasi perlakuan, setelah melakukan uji ini didapatkan hasil bahwa distribusi data pada masing-masing konsentrasi dan seluruh perlakuan bersifat normal. Setelah uji normalitas selesai dilakukan dan hasilnya normal, maka dilanjutkan dengan uji *independent T test*, uji ini dilakukan untuk mengetahui signifikansi perbedaan antara dua kelompok sampel yang tidak berhubungan, yaitu kelompok dengan perlakuan pemberian *nystatin* tunggal dengan kelompok pemberian kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin*. Setelah melakukan pengolahan data didapatkan hasil bahwa terdapat perbedaan yang signifikan secara statistik pada masing-masing kelompok dengan nilai $p < 0,05$. Nilai ini menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada data kelompok dengan pemberian *nystatin* tunggal dibandingkan data kelompok dengan kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin*. Di bawah ini adalah hasil uji normalitas dan *independent T test* untuk konsentrasi 6,25%, 3,125%, 1,5625% dan 0,78125%.

Tabel 5.1: Perbandingan Nilai Asymp.Sig. (2-Tailed) Uji Normalitas Kolmogorov-Smirnov pada Pemberian *Nystatin* Tunggal dan Pemberian Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin*

No	Perlakuan	Konsentrasi (%)			
		62,5	3,125	1,5625	0,78125
1	*Nystatin* tunggal	0,272	0,682	0,999	0,692
2	Kombinasi ekstrak teh hijau-*Nystatin*	0,550	0,518	0,988	0,926

Tabel 5.2: Perbandingan Nilai p Uji *Independent T test* pada Pemberian *Nystatin* Tunggal dan Pemberian Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin*

Perlakuan	Konsentrasi (%)			
	62,5	3,125	1,5625	0,78125
Nystatin tunggal dan Kombinasi ekstrak teh hijau-*Nystatin*	0,000	0,000	0,000	0,000

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov pada konsentrasi 6,25% didapatkan Asymp. Sig. (2-tailed) pada *nystatin* tunggal dan kombinasi adalah 0,926 dan 0,968 berarti nilainya lebih besar dari 0,05. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa data penelitian terdistribusi normal. Sedangkan hasil uji statistik dengan menggunakan *independent T test* pada konsentrasi 6,25% didapatkan hasil p adalah 0.000 yang berarti nilai $p<0,05$, sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada data kelompok dengan pemberian *nystatin* tunggal dibandingkan data kelompok dengan kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin.*

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov pada konsentrasi 3,125% didapatkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) pada *nystatin* tunggal dan kombinasi adalah 0,681 dan 0,962 berarti nilainya lebih besar dari 0,05. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa data penelitian terdistribusi normal. Sedangkan hasil uji statistik dengan menggunakan *independent T test* pada konsentrasi 3,125% didapatkan hasil p adalah 0.000 yang berarti nilai p<0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada data kelompok dengan pemberian *nystatin* tunggal dibandingkan data kelompok dengan kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin.*

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov pada konsentrasi 1,5625% didapatkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) pada *nystatin* tunggal dan kombinasi adalah 0,999 dan 0,984 berarti nilainya lebih besar dari 0,05. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa data penelitian terdistribusi normal. Sedangkan hasil uji statistik dengan menggunakan *independent T test* pada konsentrasi 1,5625% didapatkan hasil p adalah 0.000 yang berarti nilai p<0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat perbedaan yang signifikan pada data kelompok dengan pemberian *nystatin* tunggal dibandingkan data kelompok dengan kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin.*

Hasil uji normalitas kolmogorov-smirnov pada konsentrasi 0,78125% didapatkan nilai Asymp. Sig. (2-tailed) pada *nystatin* tunggal dan kombinasi adalah 0,692 dan 1,000 berarti nilainya lebih besar dari 0,05. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa data penelitian terdistribusi normal. Sedangkan hasil uji statistik dengan menggunakan *independent T test* pada konsentrasi 0,78125% didapatkan hasil p adalah 0.000 yang berarti nilai p<0,05, sehingga dapat dikatakan bahwa terdapat

perbedaan yang signifikan pada data kelompok dengan pemberian *nystatin* tunggal dibandingkan data kelompok dengan kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin.*

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 6
PEMBAHASAN

BAB 6

PEMBAHASAN

Candida albicans (*C. albicans)* dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob atau anaerob. Pada kondisi anaerob, *C. albicans* mempunyai waktu regenerasi yang lebih panjang yaitu 248 menit dibandingkan dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Walaupun *C. albicans* tumbuh baik pada media padat, tetapi kecepatan pertumbuhan ditemukan dapat lebih tinggi pada media cair dengan suhu 37°C. Pertumbuhan juga akan lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Ahmad, 2009). Dari beberapa spesies *candida* yang ada, spesies yang paling patogen adalah *C.albicans* karena merupakan spesies yang banyak ditemukan di permukaan mukosa dan paling sering menyebabkan infeksi di mukosa rongga mulut (Casadevall, 2002). *Oral Candidiasis* sering dijumpai kapan saja dalam perjalanan infeksi HIV/AIDS, hal ini terjadi karena kondisi *immunocompromised* yang lazim menyertai penderita HIV/AIDS dan merupakan salah satu komplikasi yang paling tinggi angka kejadiannya di rongga mulut (Greenspan, 2005).

Perlu diketahui bahwa pada penelitian ini digunakan sampel kultur stok *C.albicans* resisten dari Institute Tropical Disease (ITD). *C. albicans* resisten ini didapat dari penderita HIV/AIDS yang dirawat di UPIPI RSUD dr. Soetomo dan sudah diterapi ARV dan obat antijamur dalam jangka panjang. Penelitian ini akan menguji pengaruh ekstrak teh hijau-*nystatin* pada kolonisasi *C.albicans* dengan metode pengenceran serial. Hasil penelitian menunjukkan terdapat kesamaan

pertumbuhan jamur pada SDA yang pertama kali yaitu pada konsentrasi 6,25%. Sehingga dapat dikatakan bahwa MIC dari kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin* dan *nystatin* tunggal adalah pada konsentrasi 12,5%. Hal ini didukung oleh *cross check* yang berupa replikasi sebanyak 5kali dalam setiap penipisan serial.

Uji statistik dimulai dari konsentrasi 6,25%, karena diatas konsentrasi tersebut sudah menunjukkan nilai 0 untuk pertumbuhan jamurnya. Hasil uji statistik menunjukkan bahwa pada masing-masing konsentrasi (6,25%, 3,125%, 1,5625% dan 0,78125%) terdapat perbedaan antara efek kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin* dan efek *nystatin* tungal, yaitu terlihat bahwa pada konsentrasi yang sama jumlah koloni pada pemberian *nystatin* tunggal lebih sedikit dibandingkan dengan pemberian kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin*. Hal ini menunjukkan bahwa meskipun memiliki MIC yang sama, pemberian kombinasi ekstrak air teh hijau dalam menghambat pertumbuhan kolonisasi *C.albicans* tidak sesuai dengan yang diharapkan.

Berdasarkan referensi yang ada, kondisi tersebut dipengaruhi oleh beberapa faktor yang memungkinkan hal tersebut terjadi, salah satunya adalah adanya polimorfisme genetik pada *C.albicans* yang digunakan, mengingat stok yang dipakai berasal dari penderita HIV/AIDS yang telah mendapat terapi ARV dan obat antijamur jangka panjang (Retno dkk, 2009). Adanya polimorfisme genetik tersebut mengakibatkan perbedaan komposisi dan karakteristik *C. albicans* yaitu adanya penurunan kemampuan dalam sintesis ergosterol dan penggantian substansi komponen sterol dengan asam lemak bebas dalam jumlah yang banyak (Virina, 2000).

Membran sel *C.albicans* terdiri dari struktus lapisan *multilayer* di luar lapisan membran plasma. Struktur *multilayer* inilah yang merupakan struktur yang sangat penting bagi fungsi biologik jamur, diantaranya yaitu sebagai barier permeabilitas dan pelindung bagi membran sekaligus sebagai target dari beberapa obat antijamur (Conny, 2006). Pada pasien HIV/ AIDS terjadi penurunan CD4 sel T pada mukosa dan menurunnya sitokin Th1 dalam saliva, hal ini memicu terjadinya infeksi oportunistik (Greenspan, 2005). Penderita HIV/ AIDS cenderung mengalami keadaan *immunodeficiency* sehingga pada sel host juga akan mengakibatkan terjadinya gangguan produksi sitokin, diantaranya adalah IL-1β dan TNF–α yang mengakibatkan terjadi gangguan fungsi fagositosis *Polymorphonuclear* (PMN) dan makrofag (Dubois *et al,* 1998; Herring *et al,* 2002). Gangguan pada fungsi sel imunokompeten juga akan menurunkan pertahanan jaringan terhadap petumbuhan *C.albicans* yang berlebih, sehingga akan memudahkan terjadinya ikatan *C.albicans* pada epitel mukosa (felk et al, 2002). Menempelnya mikroorganisme dalam jaringan sel pejamu menjadi syarat mutlak untuk berkembangnya infeksi (Conny, 2006). Gangguan pada fungsi sel imunokompeten ini akan menurunkan pertahanan jaringan terhadap pertumbuhan *C.albicans* yang berlebih, sehingga akan memudahkan *C.albicans* menempel pada epitel mukosa. Setelah *C.albicans* berhasil menempel, maka selanjutnya adalah melakukan kolonisasi yang difasilitasi oleh enzim *Secretory Aspartyl Proteinase* 3 (SAP3). Selanjutnya *C.albicans* akan melepaskan enzim SAP2 dan SAP4 yang akan merusak basal membran (ECM), dan akan terjadi invasi *C.albicans* ke jaringan yang lebih dalam melalui perlekatan dengan endotel vaskuler (Retno dkk, 2009).

Telah dikemukakan sebelumnya bahwa Efek sinergisme pada pemberian teh hijau dengan *amphotericin B* dan *fluconazole* telah dipelajari oleh Hirasawa dan Takada (2004). Kombinasi EGCG dari teh hijau 3.12-12.5 mg/L dan *amphotericin B* 0.5 mg/L (di bawah MIC) menunjukkan penurunan pertumbuhan dari *amphotericin B-resistant C.albicans* dan kombinasi EGCG dari teh hijau 12.5 mg/L dengan *fluconazole* 10-50 mg/L (di bawah MIC) dapat menghambat pertumbuhan dari *fluconazole-resistant C.albicans* hingga 98,5-99,7%. Pemberian terapi kombinasi antara ektrak teh hijau dengan *amphotericin B* mampu bekerja secara sinergis melawan kolonisasi *C.albicans*. *amphotericin B* akan berikatan kuat dengan ergosterol yang terdapat pada membran jamur. Ikatan ini akan menyebabkan membran mengalami peningkatan permeabilitas sehingga beberapa bahan intraseluler akan keluar dan mengakibatkan kerusakan pada sel tersebut (Rahardjo, 2008). Ketidaksesuaian antara penelitian Hirasawa dan Takada dengan penelitian yang telah dilakukan ini kemungkinan terjadi karena faktor dari spesies *C. albicans* yang mengalami mutasi genetik akibat penggunaan ARV dan obat antijamur dalam jangka panjang pada penderita HIV/ AIDS. Penggunaan luas obat antijamur sebagai profilaksis pada pasien HIV/ AIDS menyebabkan terjadinya peningkatan kolonisasi *C.albicans* sehingga menimbulkan resistensi terhadap obat antijamur. Mekanisme dan penyebab terjadinya resistensi terhadap *nystatin* oleh *C.albicans* penderita HIV/ AIDS masih belum diketahui secara pasti. Meskipun demikian, resistensi terhadap golongan *polyene* adalah penurunan kemampuan *C. albicans* dalam sintesis ergosterol sehingga ergosterol yang terbentuk sedikit. Sedikitnya ergosterol yang terbentuk menyebaban *nystatin* yang berikatan dengan ergosterol juga sedikit, sehingga efek kerja *nystatin* juga akan menurun. Ketidakmampuan *nystatin* dalam

PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA SURABAYA

berikatan dengan ergosterol juga akan mengakibatkan *up take cathecin* terganggu, sehingga efek dari ekstrak teh hijau maupun *nystatin* tidak sesuai dengan yang diharapkan.

Selain dari faktor spesies *Candida albicans*, ekstrak air teh hijau yang digunakan ternyata tidak mampu meningkatkan kerja obat *nystatin* dalam menghambat kolonisasi *C. albicans*. Hal ini dapat terlihat dari penelitian yang dilakukan oleh Ahmad pada tahun 2009, di mana ekstrak teh hijau pada konsentrasi 50% sudah dapat menghentikan kolonisasi *C.albicans* sedangkan pada penelitian ini, teh hijau pada konsentrasi tersebut masih belum mampu menghentikan kolonisasi dan malah menyebabkan adanya peningkatan jumlah koloni bila dibandingkan dengan pemberian *nystatin* tunggal. Faktor lain yang mempengaruhi hasil penelitian ini adalah kandungan *tannin* didalam teh hijau yang merupakan bagian dari senyawa polifenol yang mampu membentuk kompleks dengan molekul-molekul lain. Menurut Sulistyawati (2004) kandungan *tannin* dalam teh hijau adalah sebesar 4,7%. Kandungan *tannin* dalam teh hijau terbukti mampu berikatan dengan komponen zat besi sehingga dapat menurunkan bioavailabilitasnya (Gaffney *et al,* 2004). Terdapat kemungkinan pada penelitian ini kandungan *tannin* pada ekstrak teh hijau berikatan dengan molekul obat *nystatin* yang mengakibatkan kadar *nystatin* bebas berkurang. Menurunnya jumlah *nystatin* bebas menyebabkan sedikitnya jumlah ergosterol yang mampu diikat oleh *nystatin,* sehingga penghambatan kolonisasi *C.albicans* kurang maksimal. Meskipun demikian, mekanisme kerja yang pasti antara kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin* terhadap *C.albicans* masih belum diketahui secara pasti.

Pada proses penelitian selalu dilakukan *cross check* dengan tujuan untuk memastikan ada tidaknya pertumbuhan *C.albicans* pada konsentrasi yang dianggap telah dapat menghambat pertumbuhannya. Sebenarnya tidak mutlak harus dilakukan, akan tetapi pada beberapa kasus penanaman pada media agar tanpa dilakukan *cross check* terbukti dapat terjadi perbedaan hasil yang cukup signifikan. Khususnya pada kasus dimana terdapat rentang atau jarak antar konsentrasi yang cukup jauh.

Hasil penelitian laboratoris ini telah menunjukkan konsentrasi minimal kombinasi ekstrak air teh hiaju-*nystatin* dan *nystatin* tunggal dalam menghambat pertumbuhan *C.albicans* adalah sama-sama pada konsentrasi 12,5%. Dan dapat pula diasumsikan bahwa kombinasi ekstrak air teh hijau-*nystatin* tidak menunjukkan efek sinergisme seperti yang diharapkan sehingga jumlah koloni *C. albicans* pada pengenceran serial *nystatin* tunggal lebih sedikit dibandingkan dengan jumlah koloni *C.albicans* pada pengenceran serial ekstrak air teh hijau - *nystatin* pada konsentrasi yang sama. Namun masih perlu dilakukan penelitian lebih lanjut lagi jika akan diaplikasikan pada manusia, karena belum tentu pada konsentrasi yang sama akan memberikan pengaruh yang sama pula, mengingat banyak sekali faktor–faktor yang harus diperhatikan, diantaranya jumlah *C.albicans* dalam rongga mulut, pH rongga mulut, *flow rate* saliva, kebersihan rongga mulut, dan pola diet individu.

Penelitian inipun dapat dijadikan acuan oleh peniliti – peneliti lain yang ingin mengembangkan penelitian tentang teh hijau khususnya tentang kombinasi yang paling efektif antara ekstrak air teh hijau dengan *nystatin* sehingga nantinya dapat diciptakan suatu formula baru yang lebih efektif dalam penanganan resistensi *C.albicans.*

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

BAB 7
KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 7

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa tidak terdapat perbedaan MIC antara kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin* dengan *nystatin* tunggal. Dimana MIC kombinasi ekstrak teh hijau-*nystatin* terhadap pertumbuhan *Candida albicans* adalah 12,5% dan MIC pada pemberian *nystatin* tunggal terhadap *Candida albicans* adalah 12,5%.

7.2 Saran

Berdasarkan kesimpulan di atas, maka dapat disimpulkan bahwa :

1. Perlu dilakukan penelitian menggunakan EGCG murni untuk kombinasi dengan *nystatin* dalam menghambat kolonisasi *C.albicans* yang telah mengalami resisten.
2. Perlu dilakukan penelitian tentang efek kandungan lain ekstrak teh hijau dalam hal ini *tannin* terhadap mekansme kerja *nystatin*.

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

Ahmad. 2009. Daya Anti Jamur Catechin dan Caffein pada Ekstrak Teh Hijau terhadap Pertumbuhan Candida Albicans. Skripsi S1 Fakultas Kedokteran Gigi Airlangga.

Anonim. 2003. Green Tea. http://en.wikipedia.org/wiki/Green_tea; accessed on 10th November 2010.

Anonim.2008.Polyeneantimycotic.http://en.wikipedia.org/wiki/Polyene_antimycotic, last updated March, 2010; accessed on 16th Juny 2010

Anonim. 2009. Situasi HIV dan AIDS di Indonesia. http://www.icaap9.org/uploads/200907281232220.OUTLINE-Analisis%20Situasi%20HIV%20dan%20AIDS%20di%20Indonesia.pdf, last updated Maret, 2009; accessed on 5th April 2010

Bigelow R L H , Cardell J A. 2006. The green tea catechins, (−)-Epigallocatechin-3-gallate (EGCG) and (−)-Epicatechin-3-gallate (ECG), inhibit HGF/Met signaling in immortalized and tumorigenic breast epithelial cellsGreen tea catechins inhibit HGF/Met signaling. Nature Publishing Group. 25 : 1922-1930

Cabrera C, Artacho R, Gimenez R. 2006. Beneficial Effencts of Green Tea. Journal of the American Colege of Nutrition 25(2):79-99

Casadevall A. 2002. Acquired Immunity against Fungi, in Immunology of Infectious Diseases. ASM Press American Society for Microbiology Washington. pp 223-231

Carrillo M A J, Quindos G, Tur C, Ruesga M T, Miranda Y, del Valle O, Cossum P A, Wallace T L. 1999.In vitro antifungal activity of liposomal nystatin in comparison with nystatin, amphotericin B cholesteryl Sulphate, Liposomal amphotericin B, amphotericin B Lipid Complex, amphotericin B

desoxycholate, Fluconazole and Itraconazole. J Antimic Chem., 44:397-401

Conny R T. 2006. Karakteristik *Candida albicans.* Cermin Dunia Kedokteran. (151). Hal 33-36

Dennys K. 2004. Science Stock Photography. http://www.denniskunkel.com/product_info.php?products_id=817. Accessed on18th September 2010

Dubois N, Colina A R, Aumont F, Belhumeur P and Repentigny. 1998. Overexpression of Candida albicans secretory aspartyl proteinases 2 and its expression in Saccharomyces cereviseae do not augment virulence in mice. Microbiology, 144 : 2299-2310

Felk A, Kretschmar M, Albrecht A, Schaller M, Beinhauer S and Nichterlein T, 2002. Candida albicans Hyphal Formation and the Expression of the Efg1-Regulated Proteinases SAP4 to SAP6 are Required for the Invasion opf Parenchymal Organs. Infection and Immunity, 70 (7): 3689-3700.

Gaffney, S, Williams, V, Flynn, P, Carlino, R, Mowry, C, Dierenfeld, E, Babb, C, Fan, J & Tramontano, WA. 2004. Tannin/Polyphenol Effects on Iron Solubilization In vitro. *Bios.* 75 (2):43-52

Greenspan D and Greenspan J S. 2005. Oral manifestation of HIV infection. http://www.hivdent.org/oralm/, last updated October 12, 2005; accessed 2/12/2006

Gunawan S.G. 2007. Universitas Indonesia. Farmakologi dan Terapi. Edisi 5. Hal 574-575. Jakarta:Balai Penerbit UI.

Herring A C and Huffnagle G B, 2002. Innate Immunity and Fungal Infections, In Immunology of Infectious Diseases. ASM Press American Society for Microbiology Washington pp 127-134

Hirasawa M and Takada K. 2004. Multiple effects of green tea catechin on the antifungal activity of antimycotics against *Candida albicans*. J Antimic Chem., 53: 225-229

Jackson C, Akeem A, Victor N. 2009. In vitro evaluation of antimicrobial activity of combinations of nystatin and Euphorbia hirta leaf axtract against andida albicans by the checkerboard method. Journal of Medicinal Plants Research. 3(9): 666-669

Leblond M A, Grimaud L, Nail S, Bouterige S, Marchais V A, Sullivan D J, Robert R, 2000. New Monoclonal AntibodySpecific for Candida albicansGerm Tube. American Society for Microbiology, 2000. Vol 38(1) : 61-67

Nasronudin, 2007. HIV dan AIDS. Pendekatan Biologi Molekuler, Klinis dan Sosial. Cetakan Pertama, Airlangga University Press, 203-213.

Noerhayati. 2010. Green Tea dapat Menurnkan Kadar kolesterol Total. http://rini2109.student.umm.ac.id/2010/08/24/green-tea-dapat-menurunkan-kadar-kolesterol-total/. Diakses pada tanggal 10/10/2010.

Rahardjo R. 2008. Kumpulan Kuliah Farmakologi Edisi 2. Jakarta : EGC. Hal 222-223

Regina T C, Widya A. 2001.Molecular typing of Candida albicans isolated from oral cavity of cancer patients using randomly amplified polymorphic DNA. Indonesian Journal of Biotechnology, (5) : 470-479

Retno P R, Vitanata dan Prihartini, 2009. Ekspresi Gen SAP3 Pads Oral Candidiasis Sebagai Marker Diagnostik Prediktor Keparahan HIV/AIDS. LPPM, Unair

Retno P R, Prihartini, Vitanata dan Utsumi T. 2009. Genetic Variability C. Albicans pada penderita HIV/AIDS dengan terapi ARV dan Non-ARV di Surabaya, Jawa Timur. LPPM Unair

Reznik D A, 2005. Perspective Oral manifestation of HIV Disease. Topic in HIV medicine, 2005. Vol 13 (5): 143-148

Roitt.I, Brostoff J, Male D. 2001. Immunology. 6th ed. Mosby.London. Hal 317-319.

Samaranayake L P and Macfarlane T W. 1990. Oral Candidosis. First Ed. Butterworth and co Ltd Publishing London Boston Singapore, pp 16-132

Spach, DH. 2010. *HIV Web Study*. Available at: www.hivwebstudy.org. Accessed on 19th April 2010.

Staib P, Kretscmar M, Nichterlein T, Hof H and Morschhauser J. 2000. Differential Activation of a Candida albicans Virulence Gene Family During Infection. PNAS, 97: 6102-6107

Stapleton, PD., Shah S., Anderson J C., Hara Y., Hamilton-Miller J M T., and Taylo P W. 2004. Modulation of B-lactam resistancee in Staphylococcus aureus by catechins and gallates. Int. J Antimic Agent, 23 (5): 462-467.

Sudano-Riccaro A., Blanco, A R., Giuliano F., Rusciano D., Enea, V.2004. Epigallocatechin-gallatee enhances the activity of tetracycline in staphylococci by inhibiting its efflux from bacterial cells. Antimicrob. Agents Chemother, 48 (6): 1968-73

Sulistyowati T., 2004. Teh (*Camelia sinensis O.K. var. Assamica (Mast)*) sebagai Salah Satu Sumber Antioksidan. Cermin Dunia Kedokteran. No 144.

Virina A M, Irina I B, Igor M T. 2000. Composition and Characteristics of Candida albicans Cell Differing in Resistance to Polyene Antibiotics. Current microbiology, 5: 139-142

Wang X, Tian W. 2001. Green Tea Epigallocatechin gallate : a natural inhibitor of fatty-acid synthase. J Antimic Chem., 53 : 225-229

Willis A M, Coulter W A, Fulon C R, Hayes J R and Bell P M 2001. The influence of antifungal Drugs on Virulence Properties of Candida Albicans in patients with Diabetes Mellitus. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 91:317-321

Yanagawa, Y., Yamamoto Y., Hara Y., and Shimamura T. 2003. A combination Effectof Epigallocatechin Gallate, a Major Compound of Green Tea

Catechins, with Antibiotics on Helicobacter pylori Growth In Vitro. Current Microbiology, 47 (3): 244-249

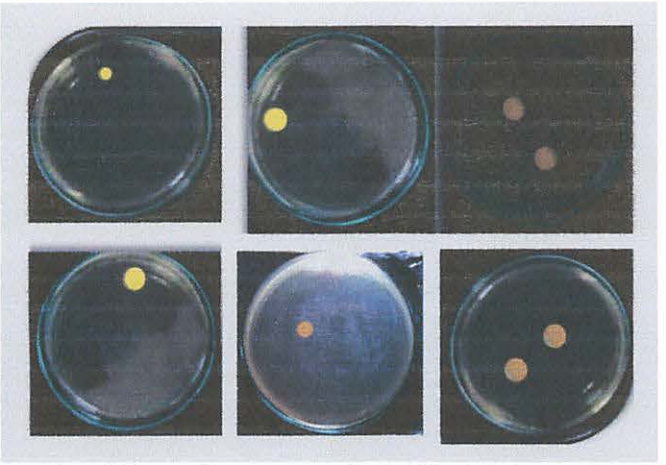
Yokoyama K, Biswas S K, Miyaji M, Nishimura K. 2000. Identification and Phylogenetic Relationship of the Most Common Pathogenic Candida Species Inferred from Mitochondrial Cytochrome b Gene Sequences. American Society of Microbiology, 38 (12) : 4503-4510.

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

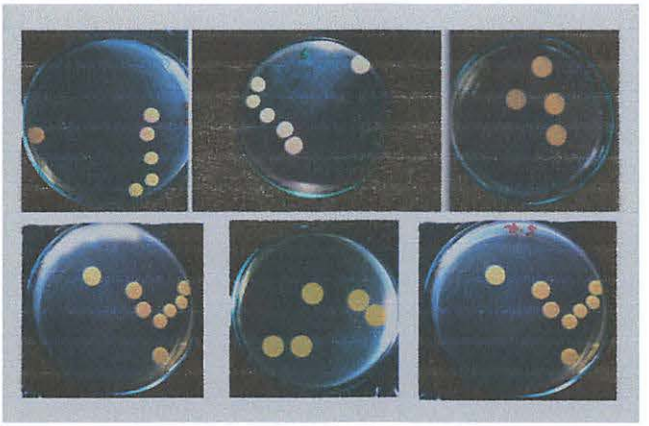
LAMPIRAN

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA

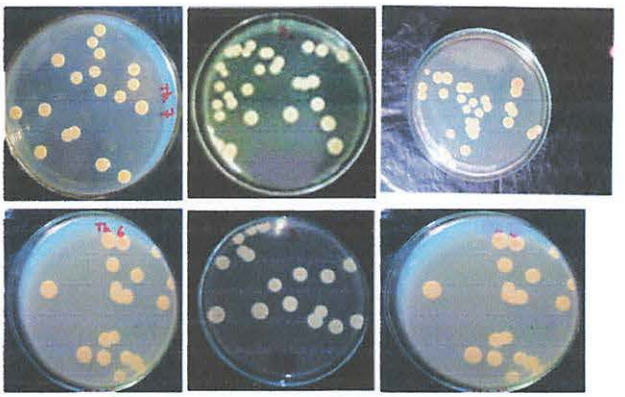
Lampiran 1 : Foto Hasil Perhitungan Koloni pada Media *Sabouraud Dextrose Agar*



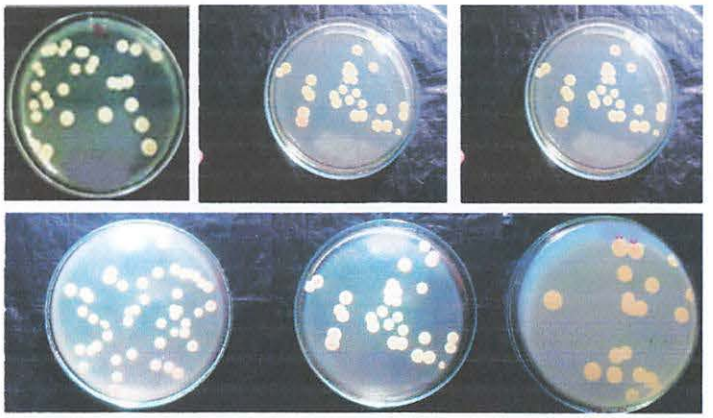
Gambar 1. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial *Nystatin*Tunggal pada Konsentrasi 6,25%



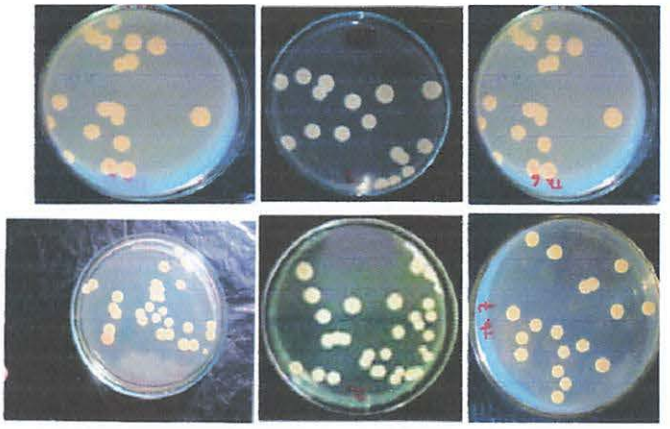
Gambar 2. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial *Nystatin*Tunggal pada Konsentrasi 3,125%



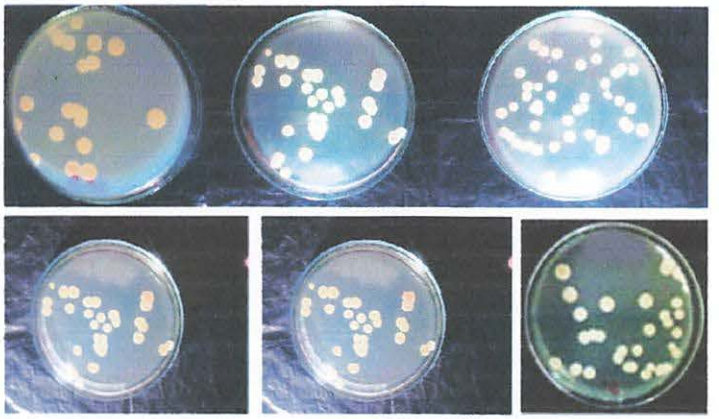
Gambar 3. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial *Nystatin*Tunggal pada Konsentrasi 1,5625%



Gambar 4. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial *Nystatin*Tunggal pada Konsentrasi 0,78125%

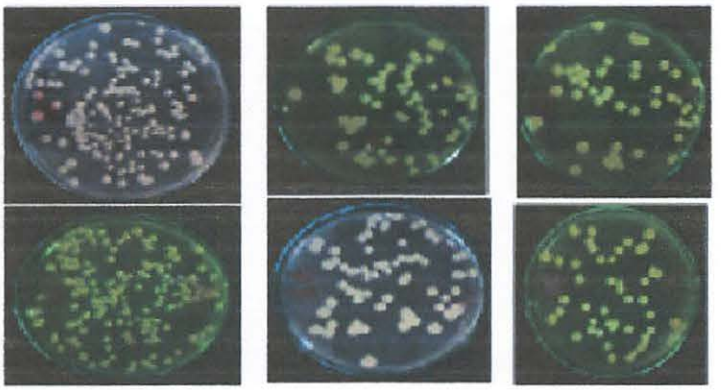


Gambar 5. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin* konsentrasi 6,25%

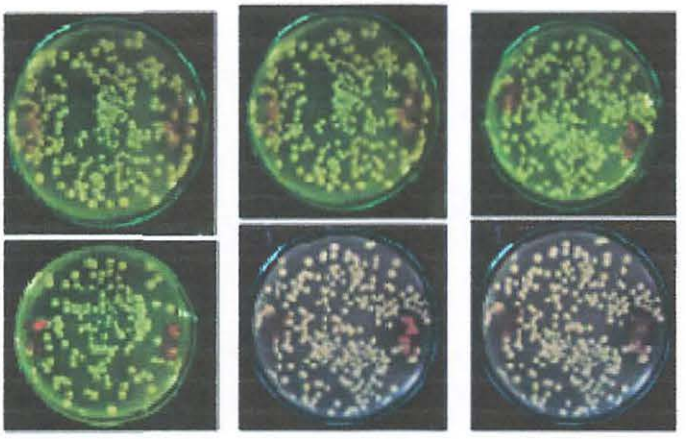


Gambar 6. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin* konsentrasi 3,125%

IR-PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS AIRLANGGA



Gambar 7. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin* konsentrasi 1,5625%



Gambar 8. Penanaman Tiap Tabung Pengenceran Serial Kombinasi Ekstrak Air Teh Hijau-*Nystatin* konsentrasi 0,78125%

Lampiran 2 : Uji Statistik

UJI STATISTIK C. ALBICANS

1. **Hasil Uji Normalitas dan Independent T tes pada data jumlah koloni *Candida albicans* pada pemberian ekstrak kombinasi the hijau-*nystatin* dan *nystatin* tunggal pada konsentrasi 6,25%**

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Nystatin	Kombinasi
N		6	6
Normal Parameters[a,,b]	Mean	1.33	6.50
	Std. Deviation	.516	1.225
Most Extreme Differences	Absolute	.407	.325
	Positive	.407	.325
	Negative	-.259	-.223
Kolmogorov-Smirnov Z		.998	.796
Asymp. Sig. (2-tailed)		.272	.550

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Jumlah Koloni	Equal variances assumed	5.618	.039	-9.522	10	.000	-5.167	.543	-6.376	-3.958
	Equal variances not assumed			-9.522	6.723	.000	-5.167	.543	-6.461	-3.873

2. Hasil Uji Normalitas dan Independent T tes pada data jumlah koloni *Candida albicans* pada pemberian ekstrak kombinasi the hijau-*nystatin* dan *nystatin* tunggal pada konsentrasi 3,125%

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Nystatin	Kombinasi
N		6	6
Normal Parameters[a,,b]	Mean	5.33	17.00
	Std. Deviation	.816	1.095
Most Extreme Differences	Absolute	.293	.333
	Positive	.207	.333
	Negative	-.293	-.181
Kolmogorov-Smirnov Z		.717	.816
Asymp. Sig. (2-tailed)		.682	.518

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Jumlah Koloni	Equal variances assumed	.000	1.000	-20.917	10	.000	-11.667	.558	-12.909	-10.424
	Equal variances not assumed			-20.917	9.245	.000	-11.667	.558	-12.923	-10.410

3. Hasil Uji Normalitas dan Independent T tes pada data jumlah koloni *Candida albicans* pada pemberian ekstrak kombinasi the hijau-*nystatin* dan *nystatin* tunggal pada konsentrasi 1.5625%

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Nystatin	Kombinasi
N		6	6
Normal Parameters[a,,b]	Mean	14.17	30.50
	Std. Deviation	3.061	1.049
Most Extreme Differences	Absolute	.156	.183
	Positive	.148	.183
	Negative	-.156	-.183
Kolmogorov-Smirnov Z		.382	.449
Asymp. Sig. (2-tailed)		.999	.988

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Jumlah Koloni	Equal variances assumed	7.812	.019	-12.366	10	.000	-16.333	1.321	-19.276	-13.390
	Equal variances not assumed			-12.366	6.158	.000	-16.333	1.321	-19.545	-13.122

4. Hasil Uji Normalitas dan Independent T tes pada data jumlah koloni *Candida albicans* pada pemberian ekstrak kombinasi the hijau-*nystatin* dan *nystatin* tunggal pada konsentrasi 0,78125%

NPar Tests

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		Nystatin	Kombinasi
N		6	6
Normal Parameters[a,,b]	Mean	24.17	55.17
	Std. Deviation	2.639	1.169
Most Extreme Differences	Absolute	.291	.223
	Positive	.142	.223
	Negative	-.291	-.159
Kolmogorov-Smirnov Z		.712	.547
Asymp. Sig. (2-tailed)		.692	.926

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

T-Test

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	T	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
Jumlah Koloni	Equal variances assumed	4.400	.062	-26.304	10	.000	-31.000	1.179	-33.626	-28.374
	Equal variances not assumed			-26.304	6.889	.000	-31.000	1.179	-33.796	-28.204

Lampiran 3 : Hasil pertumbuhan koloni *C.albicans* pada *SDA*

Tabel 1 : Pengamatan Pertumbuhan Koloni *C.albicans* pada Penipisan *Nystatin* Tunggal

Replikasi	Konsentrasi (%)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0,78125	+	-
1	0	0	0	0	2	6	18	26	64	0
2	0	0	0	0	1	5	13	22	56	0
3	0	0	0	0	1	6	15	25	66	0
4	0	0	0	0	1	5	12	25	55	0
5	0	0	0	0	2	4	10	20	52	0
6	0	0	0	0	1	6	17	27	66	0

Tabel 2 : Pengamatan Pertumbuhan Koloni *C.albicans* pada Penipisan Kombinasi Ekstrak Teh Hijau-*Nystatin*

Replikasi	Konsentrasi (%)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0,78125	+	-
1	0	0	0	0	6	17	31	52	97	0
2	0	0	0	0	8	16	30	55	85	0
3	0	0	0	0	6	19	29	55	90	0
4	0	0	0	0	5	16	30	56	84	0
5	0	0	0	0	8	17	32	57	92	0
6	0	0	0	0	6	17	31	54	88	0

Lampiran 4 :

Tabel 1: Pengamatan penipisan kombinasi nistatin dan ekstrak air teh hijau terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

Replikasi	Knsentrasi (%)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0,78125	(+)	(-)
1	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
3	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
4	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
6	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-

Tabel 2: Pengamatan penipisan nistatin terhadap pertumbuhan *Candida albicans*

Replikasi	Konsentrasi (%)									
	100	50	25	12,5	6,25	3,125	1,5625	0,78125	(+)	(-)
1	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
2	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
3	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
4	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
5	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-
6	-	-	-	-	+	+	+	+	+	-

Catatan : (-) = tidak ada pertumbuhan koloni *Candida albicans*

(+) = ada pertumbuhan koloni *Candida albicans*

Lampiran 5 : Sertifikat kelaikan Etik

KOMISI KELAIKAN ETIK PENELITIAN KESEHATAN (KKEPK)
FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI UNIVERSITAS AIRLANGGA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
("ETHICAL CLEARANCE")

Nomor : 131/KKEPK.FKG/XII/2010

Komisi Kelaikan Etik Penelitian Kesehatan (KKEPK) Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga, telah mengkaji secara seksama rancangan penelitian yang diusulkan, maka dengan ini menyatakan bahwa penelitian berjudul :

" EFEK KOMBINASI EKSTRAK AIR TEH HIJAU DENGAN NYSTATIN TERHADAP KOLONISASI CANDIDA ALBICANS YANG RESISTEN PADA PENDERITA HIV/AIDS "

Peneliti Utama : **Ika Roudlotus Sa'adah.**
Unit / Lembaga/ Tempat Penelitian : - Institute of Tropical Disease (ITD) Unair.
- Lab.Fakultas Farmasi Unair.
- Lab.Mikrobiologi F.Kedokteran Gigi Unair.

DINYATAKAN LAIK ETIK

Surabaya, 20 Desember 2010

Ketua,

Prof. Dr. ISTIATI,drg,SU