

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tumbuhan Pandan Wangi (*Pandanus amarylifolius* Roxb)

2.1.1 Morfologi Daun Pandan Wangi



Gambar 2.1 Tanaman Pandan Wangi (Muhardi,2007)

Pandan wangi adalah jenis tanaman monokotil dari keluarga *Pandanaceae* yang memiliki daun aroma wangi yang khas. Pandan wangi merupakan tumbuhan perdu dan rendah, tingginya sekitar dua meter. Batangnya menjalar, pada pangkal berupa akar. Daun berwarna hijau kekuningan, diujung daun berduri kecil. Daun tunggal, duduk , dengan pangkal memeluk batang, tersusun berbaris tiga dalam garis spiral. Helai daun berbentuk pita, tipis, licin, ujungruncing, tepi rata, bertulang sejajar, panjang 40-80 cm, lebar 3-5 cm, berduri tempel pada tepi daun. Akarnya besar dan memiliki akar tunjang (Weni,Ery, 2009).

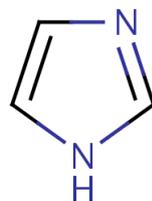
2.1.2 Klasifikasi Daun Pandan Wangi

Menurut hasil determinasi yang telah dilakukan oleh UPT Materia Medica Batu (2018). Klasifikasi dari tumbuhan pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb) adalah sebagai berikut:

Kingdom	: <i>Plantae</i> (Tumbuhan)
Subkingdom	: <i>Tracheobionta</i> (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: <i>Spermatophyta</i> (Menhasilkan biji)
Divisi	: <i>Magnoliophyta</i> (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: <i>Monocotyledonae</i>
Bangsa	: <i>Pandanales</i>
Suku	: <i>Pandanaceae</i>
Marga	: <i>Pandanus</i>
Jenis	: <i>Pandanus amaryllifolius</i> Roxb.

2.2. Senyawa Daun Pandan Wangi (*Pandanus amaryllifolius* Roxb)

2.2.1 Alkaloid



Gambar 2.2 Struktur Alkaloid (Alfinda *et al*, 2008)

Alkaloid merupakan suatu golongan senyawa organik yang terbanyak ditemukan di alam. Alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, merupakan bagian dari cincin heterosiklik, dan bersifat basa.

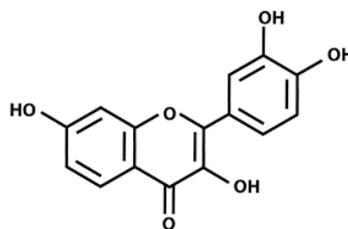
Sampai saat ini ada lebih dari 5000 senyawa alkaloid yang telah ditemukan. Berdasarkan cincin heterosklik nitrogen alkaloid dibedakan atas beberapa jenis yaitu alkaloid piroolidin, alkaloid piperidin, alkaloid isokuinolin, alkaloid indol, alkaloid piridin, dan alkaloid tropana (Alfinda *et al.*, 2008).

Alkaloid juga dapat diklasifikasikan berdasarkan asal usul biogenetik. Penelitian-penelitian tentang biosintesis alkaloid menunjukkan bahwa alkaloid hanya berasal dari beberapa asam α -amino saja. Berdasarkan pernyataan ini alkaloid dibedakan atas tiga kelompok utama, yaitu:

1. Alkaloid asiklik, yang berasal dari asam amino ornitin dan lisin
2. Alkaloid aromatik, jenis felamin yang berasal dari fenilalanin, tirosin, dan 3,4-dihidroksifenilalanin
3. Alkaloid aromatik, jenis indol yang berasal dari triptofan.

alkaloid dikaitkan dengan hambatan replikasi DNA fungi yaitu dengan menghambat aktivasi enzim yang berperan pada proses pengarahannya pada pita DNA tunggal induk sebagai cetaknya. Adanya gangguan replikasi DNA menyebabkan gangguan pula pada pembelahan sel. Selain itu sintesa protein untuk metabolisme fungi maupun untuk sintesa dinding sel akan terhambat (Imani *et al.*, 2014).

2.2.2 Flavonoid



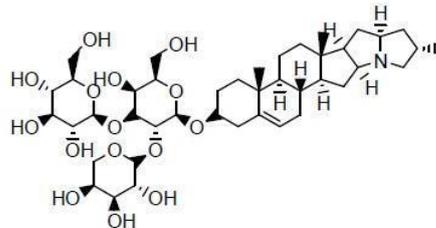
Gambar 2.3 Struktur Flavonoid (Marhakam,1998)

Flavonoid merupakan kelompok senyawa terol yang ditemukan di alam flavonoid menggambarkan kumpulan senyawa yang mengandung rantai karbon C6-C3-C6, yang disebut juga fenol benzapiran. Golongan terbesar flavonoid memiliki cirri khas terdiri atas dua gugus atomatik berupa cincin benzene yang mengapi 3 karbon rantai alipatik. Banyaknya senyawa flavonid ini bukan disebabkan oleh berbagai tingkat hidrolisis, diogsilasi / glikolisis pada struktur tersebut. Senyawa – senyawa ini merupakan zat warna merah, ungu, biru, dan zat kuning yang terdapat pada tanaman sebagai pigmen bunga flavonoid berperan dalam menarik serangga untuk membantu proses penyerbukan atau dengan fungsi lain untuk zat pengatur proses fotosintesis zat anti mikroba, antivirus dan anti sektisida.

Turunan golongan flavonoid yang terdapat di dalam anti histamine, proantosianida, flavanol, flavon, glikoflavon, flavon II, khakoh, aurotiflavon serta isoflavon. Flavonoid merupakan senyawa yang tidak tahan panas, cahaya dan bahan kimia tertentu, akan tetapi flavonoid tidak mengalami kerusakan smpai pada suhu 90°C (Sri Wahyuni et all, 2018). Senyawa flavonoid memiliki sifat-sifat kimia mirip fenol karena merupakan senyawa flavonoid senyawa polihidroksi maka flavonoid bersifat polar, sehingga dapat larut dalam pelarut polar seperti methanol, etanol, aseron, dan air, adanya gugus glukosida yang terikat pada flavonoid yang menyebabkan mudah larut dalam air kerangka dasar karbon flavonoid 15 atom C, susunan yang dihasilkan ada 3 jenis struktur, yaitu 1.3 dietillpropan atau flavonoid 1.2 dietilelprofan atau isoplavonoid. 1.1 dietilpropan/ ncoflavonoid.

Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan fungi dengan cara mengganggu proses difusi makanan ke dalam sel sehingga pertumbuhan fungi terhenti atau sampai fungi tersebut mati (Imani *et al*, 2014).

2.2.3 Saponin



Gambar 2.4 Struktur Saponin (Noer,2018)

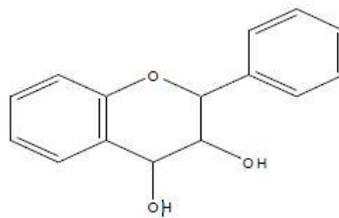
Saponin merupakan senyawa dalam bentuk glikosida yang tersebar luas pada tumbuhan tingkat tinggi. Saponin membentuk larutan koloidal dalam air dan membentuk busa yang mantap jika dikocok dan tidak hilang pada penambahan asam. Kemampuan menurunkan tegangan permukaan ini disebabkan molekul saponin terdiri dari hidrofob dan hidrofil. Bagian hidrofob adalah aglikonnya, bagian hidrofil adalah glikonnya. Rasanya pahit atau getir (Sirait M, 2007).

Sebagian besar saponin bereaksi netral (larut dalam air), beberapa ada yang bereaksi asam (sukar larut dalam air), sebagian kecil ada yang bereaksi basa. Aglikon dari saponin disebut sapogenin. Sapogenin sukar larut dalam air. Saponin dapat berupa senyawa yang mempunyai satu rantai gula atau dua rantai gula yang sebagian besar bercabang (Sirait M. 2007). Menurut Steinegeer dan Hansel, saponin dibagi menjadi dua golongan:

1. Saponin sterol: saponin ini bila terhidrolisis akan membentuk senyawa sterol,
2. Saponin triterpen: saponin ini bila terhidrolisis akan membentuk senyawa triterpen.

Saponin berfungsi sebagai antifungi dan antimikroba. Hal ini didasarkan pada sifat sitostatik dari saponin dan kemampuannya dalam mempengaruhi permeabilitas membran sitoplasma sehingga sel mikroba menjadi lisis (Imani *et al.*,2014).

2.2.4 Tannin



Gambar 2.5 Struktur Tanin(Harbone, 1987)

Tannin merupakan gambaran umum senyawa golongan polimer fenolitik (cowan,1999). Tanin merupakan bahan yang dapat merubah kulit mentah menjadi kulit siap pakai, untuk mengetahui senyawa tanin, digunakan larutan gelatin dan FeCl_2 . Atom oksigen pada tanin dan polifenol mempunyai pasangan electron yang mampu mendonorkan elektronnya PbFe_2 yang mempunyai orbital di kosong membentuk ikatan kovalen koordinat sehingga menjadi suatu kompleks (syarifudin , 1994). Tanin merupakan senyawa yang akan terurai pada suhu $98,89^\circ\text{C}$ - $101,67^\circ\text{C}$ (Sri Wahyuni *et al.*,2018).

Tannin merupakan komponen fenol yang memiliki aktifitas antifungi. Senyawa tanin dapat digunakan sebagai antijamur dengan cara inhibisi dari enzim ekstrasluler jamur, seperti selulase, pektinase, dan laktase juga menyebabkan kekurangan substrat nutrisi, seperti kompleks loam dan protein tidak larut (Imani *et al.*,2014).

2.3. Identifikasi Fitokimia

Skринing fitokimia merupakan suatu tahap awal untuk mengidentifikasi kandungan suatu senyawa dalam simplisia atau tanaman yang akan diuji. Fitokimia atau kimia tumbuhan merupakan disiplin ilmu yang mempelajari aneka ragam senyawa organik pada tumbuhan, yaitu mengenai struktur kimia, biosintesis, metabolisme, penyebaran secara ilmiah dan fungsi biologisnya. Pendekatan secara penapisan fitokimia meliputi analisis kualitatif kandungan dalam tumbuhan atau bagian tumbuhan (akar, batang, daun, bunga, buah, dan biji) terutama kandungan metabolit sekunder yang merupakan senyawa bioaktif seperti alkaloid, flavonoid, glikosida, terpenoid, saponin, tannin dan polifenol (Alfinda *et al.*, 2008).

2.4. Ekstrak

Ekstrak merupakan sediaan pekat yang diperoleh dengan mengekstraksi zat aktif dari simplisia nabati atau simplisia hewani menggunakan pelarut yang sesuai, kemudian semua atau hampir semua pelarut diuapkan dan massa atau serbuk yang tersisa diperlakukan sedemikian hingga memenuhi baku yang telah ditetapkan (Depkes RI, 1995).

Ekstraksi adalah penyarian zat-zat berkhasiat atau zat aktif dari bagian tanaman obat, hewan, termasuk biota laut. Zat-zat aktif terdapat didalam sel, namun sel tanaman dan hewan berbeda pula ketahanannya, sehingga diperlukan metode ekstraksi dengan pelarut tertentu dalam mengekstraksinya. Tujuan ekstraksi bahan alam adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat pada bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat kedalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk kedalam pelarut (Harbone, 1987).

Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Ekstrak awal sulit dipisahkan melalui teknik pemisahan tunggal untuk mengisolasi senyawa tunggal. Oleh karena itu, ekstrak awal perlu dipisahkan ke dalam fraksi yang memiliki polaritas dan ukuran molekul yang sama. Ada beberapa metode dasar penyarian yang dipakai yaitu dengan cara dingin atau panas. Pemilihan terhadap metode tersebut disesuaikan dengan kepentingan dalam memperoleh sari yang baik (Mukhriani, 2014).

2.4.1 Cara dingin

2.4.1.1 Maserasi

Maserasi merupakan metode sederhana yang paling banyak digunakan. Cara ini sesuai, baik untuk skala kecil maupun skala industri (Agoes,2007). Metode ini dilakukan dengan memasukkan serbuk tanaman dan pelarut yang sesuai ke dalam wadah inert yang tertutup rapat pada suhu kamar. Proses ekstraksi dihentikan ketika tercapai kesetimbangan antara konsentrasi senyawa dalam pelarut dengan konsentrasi dalam sel tanaman. Setelah proses ekstraksi, pelarut dipisahkan dari sampel dengan penyaringan. Kerugian utama dari metode maserasi ini adalah memakan banyak waktu, pelarut yang digunakan cukup banyak, dan besar kemungkinan beberapa senyawa hilang. Selain itu, beberapa senyawa mungkin saja sulit diekstraksi pada suhu kamar. Namun di sisi lain, metode maserasi mempunyai kelebihan dapat menghindari rusaknya senyawa-senyawa yang bersifat termolabil, unit alat yang dipakai sederhana, hanya dibutuhkan bejana perendaman, biayanya relatif rendah, prosesnya relatif hemat penyari dan tanpa pemanasan. (Agoes,2007).

2.4.1.2 Perkolasi

Pada metode perkolasi, serbuk sampel dibasahi secara perlahan dalam sebuah perkolator (wadah silinder yang dilengkapi dengan kran pada bagian bawahnya). Pelarut ditambahkan pada bagian atas serbuk sampel dan dibiarkan menetes perlahan pada bagian bawah. Kelebihan dari metode ini adalah sampel senantiasa dialiri oleh pelarut baru. Sedangkan kerugiannya adalah jika sampel dalam perkolator tidak homogen maka pelarut akan sulit menjangkau seluruh area. Selain itu, metode ini juga membutuhkan banyak pelarut dan memakan banyak waktu. (Agoes,2007).

2.4.2 Cara Panas

2.4.2.1 Refluks

Refluks adalah ekstraksi dengan pelarut pada temperatur titik didihnya, selama waktu tertentu dan jumlah pelarut terbatas yang relatif konstan dengan adanya pendingin balik.

2.4.2.2 Sokletasi

Metode ini dilakukan dengan menempatkan serbuk sampel dalam sarung selulosa (dapat digunakan kertas saring) dalam klonsong yang ditempatkan di atas labu dan di bawah kondensor. Pelarut yang sesuai dimasukkan ke dalam labu dan suhu penangas diatur di bawah suhu reflux.

2.4.2.3 Digesti

Digesti adalah maserasi kinetik (dengan pengadukan kontinu) pada temperatur yang lebih tinggi dari temperatur ruangan, yaitu secara umum dilakukan pada temperatur 40-50⁰C.

2.4.2.4 Infundasi

Infundasi adalah proses penyarian yang umumnya dilakukan untuk menyari zat kandungan aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Proses ekstraksi dilakukan dengan pelarut air pada temperatur penangas air (bejana infusa tercelup dalam penangas air mendidih, dengan suhu terukur 90°C) selama 15 menit. (Syamsuni,2006).

2.4.2.5 Dekok

Dekok adalah infus pada waktu yang lebih lama dan temperatur sampai titik didih air (Ditjen POM, 2000). Dekok adalah ekstraksi dengan pelarut air pada temperature 90⁰C selama 30 menit.metode ini digunakan untuk ekstraksi Konstituen yang larut dalam air dan Konstituen yang stabil dalam panas (Tiwari et al, 2011).

Metode ekstraksi yang digunakan pada penelitian ini adalah rebusan. Rebusan merupakan cara penyarian yang sedikit berbeda dengan infundasi dan dekok. Rebusan dilakukan menggunakan panas yang bersumber dari api secara langsung bukan dari penangas air. Waktu esktraksi lebih lama, akan tetapi lamanya ekstraksi belum ada literatur pasti yang menentukannya. Umumnya ekstraksi dihentikan bila campuran pelarut dan sampel mencapai setengah atau sampai sepertiga bagian dari jumlah awal atau 2-3 bagian pelarut menghasilkan satu bagian ekstrak (Nastiandari, 2016).

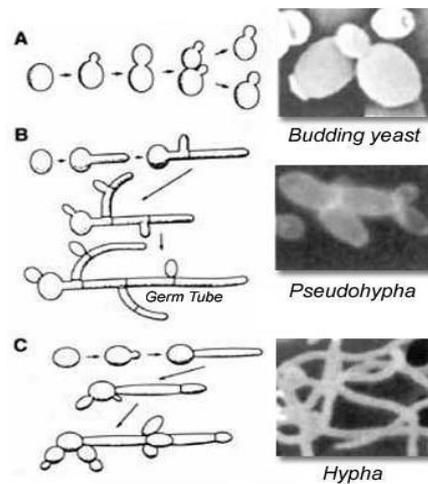
2.5. Tinjauan Fungi *Candida albicans*

Candida merupakan anggota flora normal terutama pada saluran pencernaan, selaput mukosa pernafasan, vagina, uretra, kuli, dan di bawah jari-jari kuku tangan dan kaki. Ditempat-tempat ini ragi dapat menjadi dominan dan menyebabkan

keadaan patologik ketika daya tahan tubuh menurun baik secara lokal maupun sistemik. Terkadang *Candida* menyebabkan penyakit sistemik progresif pada penderita yang lemah atau sistem imunnya tertekan. *Candida* dapat menimbulkan invasi dalam aliran darah, tromboflebitis, endokarditis, atau infeksi pada mata dan organ lain bila dimasukkan secara intravena. Lebih dari 150 spesies *Candida* telah diidentifikasi. Tujuh puluh persen infeksi *Candida* pada manusia disebabkan oleh *Candida albicans*, sisanya disebabkan oleh *C. Tropicalis*, *C. Parapsilosis*, *C. Guillermondi*, *C. Kruzei* dan beberapa spesies *Candida* yang lebih jarang (Simatupang, 2009).

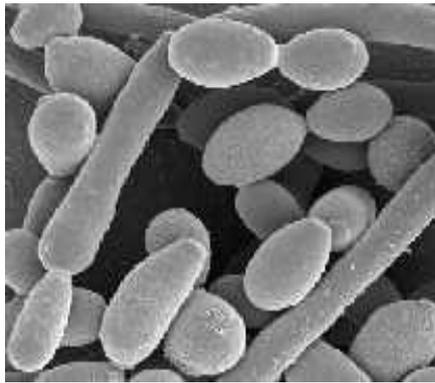
Salah satu bentuk infeksi dari *Candida albicans* adalah keputihan. Keputihan merupakan keadaan dimana vagina mengeluarkan lendir secara berlebihan disertai perubahan warna lendir seperti susu dan beberapa kasus lendir berwarna putih kekuningan disertai bau amis,, kadang disertai rasa panas dan gatal pada vagina. tetapi manifestasi klinisnya sangat bervariasi dari akut, sub akut, dan kronis ke episodik. Selain karena infeksi fungi, keputihan bisa disebabkan karena infeksi bakteri (*Gonococcus sp*), virus (*Human Papiloma Virus*), parasit (*Trichomonas vaginalis*), dan bisa menjadi suatu indikator adanya suatu penyakit tertentu seperti kanker (Setiabudy, 2013).

2.5.1 Morfologi Dan Identifikasi *Candida albicans*



Gambar 2.6 Morfologi *Candida albicans* (a) bentuk khamir, (b) bentuk pseudohifa, (c) bentuk hifa (Komariah,2012)

Candida secara morfologi mempunyai beberapa bentuk elemen jamur yaitu sel ragi (*blastopora/ yeast*), hifa, dan bentuk intermedia/ pseudohifa. Sel ragi berbentuk bulat lonjong atau bulat lonjong dengan ukuran $2-5 \mu \times 3-6 \mu$ hingga $2-5,5 \mu \times 5-28 \mu$. *Candida* memperbanyak diri dengan membentuk tunas yang akan terus memanjang membentuk hifa semu. Pertumbuhan optimum terjadi pada pH antara 2,5 – 7,5 dan temperatur berkisar $20-38^{\circ}\text{C}$. *Candida* merupakan jamur yang pertumbuhannya cepat yaitu sekitar 48-72 jam. Kemampuan *Candida* tumbuh pada suhu 37°C merupakan karakteristik penting untuk identifikasi. Speies yang patogen akan tumbuh secara mudah pada suhu $25-37^{\circ}\text{C}$, sedangkan spesies yang enderung sporafit kemampuan tumbuhnya menurun pada temperatur yang semakin tinggi. *Candida* dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi aerob dan anaerob. *Candida* tumbuh baik pada media padat tetapi kecepatan pertumbuhannya lebih tinggi pada media cair. Pertumbuhan juga lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali (Komariah,2012).



(1)



(2)

Gambar 2.7 Koloni *Candida albicans* (1) bentuk mikroskopis *Candida albicans*, (2) *Candida albicans* pada media SDA (Mutiawati,2016)

2.5.2 Klasifikasi *Candida albicans*

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomyces
Ordo	: Saccharomytales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: Candida
Species	: <i>Candida albicans</i> (C.P. Robin) Berkhout, 1923.

2.6. Metode Pengujian Antimikroba

Pada uji ini yang akan diukur adalah respon pertumbuhan populasi mikroorganisme terhadap zat antimikroba. Salah satu manfaat dari uji antimikroba adalah diperolehnya satu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Penentuan setiap kepekaan mikroba terhadap suatu zat adalah dengan menentukan kadar obat

terkecil yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba secara in vitro. Beberapa cara pengujian antimikroba adalah sebagai berikut:

2.6.1 Metode Difusi

Pada metode ini penentuan aktifitas didasarkan pada kemampuan difusi dari zat antimikroba dalam lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa ada tidaknya zona hambatan yang akan terbentuk disekeliling di zat antimikroba pada waktu tertentu/ masa inkubasi . pada metode ini dapat dilakukan dengan tiga cara yaitu:

2.6.4.1 Cara Cakram (Disk)

Cara ini merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan kuman terhadap berbagai macam obat-obatan. Pada cara ini, digunakan suatu cakram (*paper disc*) yang berfungsi sebagai tempat menampung zat antimikroba. Kertas saring tersebut kemudian diletakkan pada lempeng agar yang telah diinokulasi mikroba uji, kemudian diinkubasi pada waktu tertentu dan suhu tertentu, sesuai dengan kondisi optimum dari mikroba uji. Pada umumnya hasil yang bisa diamati setelah diinkubasi selama 18-24 jam dengan suhu 37°C. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk disekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan mikroba. Menurut Rios *et al*, (1988) klasifikasi respon hambatan pertumbuhan jamur.

Table 2.1 Diameter Zona Hambat

Diameter zona bening	Respon hambatan pertumbuhan
>20 mm	Sangat Kuat
>10-20 mm	Kuat
>5-10 mm	Sedang
≤ 5 mm	lemah

Sumber Rios *et al*, 1988

Metode cakram disc atau cakram kertas ini memiliki kelebihan yaitu mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah. Sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi, dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode cakram disc biasanya sulit untuk diinterpretasikan. Selain itu, metode cakram disc ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob obligat (Prayoga, 2013).

2.6.4.2 Cara Parit (Ditch)

Suatu lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji dibuat sebidang parit. Parit tersebut diisi dengan zat uji antimikroba. Kemudian diinkubasi pada suhu dan waktu yang sesuai dengan mikroba uji, dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona bening di sekeliling lubang parit (Prayoga, 2013).

2.6.4.3 Cara Sumuran (hole/ cup)

Pada lempeng agar yang telah diinokulasi dengan mikroba uji dibuat suatu lubang yang selanjutnya diisi dengan zat antimikroba uji. Kemudian setiap lubang diisi dengan zat uji. Dilakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona bening yang terbentuk disekeliling lubang/sumuran (Prayoga, 2013).

2.6.2 Metode Dilusi

Pada metode ini dilakukan dengan mencampurkan zat antimikroba dan media agar, yang kemudian diinokulasi dengan mikroba uji. Hasil pengamatan yang akan diperoleh berupa kekeruhan pada sampel. Hal ini menandai adanya pertumbuhan atau tidak mikroba didalam media. Aktifitas zat antimikroba ditentukan dengan melihat konsentrasi hambat (KHM) yang merupakan konsenttrasi terkecil dari zat antimikroba uji yang masih memberikan efek penghambatan terhadap pertumbuhan mikroba uji. Metode ini terdiri dari dua cara yaitu:

2.6.2.1 Pengenceran Serial Dalam Tabung

Pengujian ini dilakukan dengan sederetan tabung reaksi yang diisi dengan inokulum mikroba yang dilarutkan zat uji dengan berbagai konsentrasi. Zat ini akan diuji aktifasinya diencerkan sesuai dengan serial dalam media cair kemudian diinokulasi dengan mnggunakan suhu tertentu dan waktu yang optimum dengan kondisi bakteri (Prayoga,2013).

2.6.2.2 Penipisan Lempeng Agar

Zat antimikroba diencerkan didalam media agar dan kemudian dituangkan kedalam cawan petri setelah agar membeku diinokulasi mikroba kemudian diinkubasi dengan pada waktu dan suhu tertentu, konsentrasi terendah dari larutan zat antimikroba yang masih memberikan hambatan terhadap pertumbuhan kuman ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimal (Prayoga, 2013).

2.6.3 Metode Difusi dan Dilusi

E-test atau biasa disebut dengan tes episilometer adalah metode tes dimana huruf "E" dalam nama E-test menunjukkan simbol epsilon. E-test merupakan metode kuantitatif untuk uji antimikroba. Metode ini merupakan gabungan antara

metode dilusi dari antimikroba dan metode difusi antimikroba kedalam media. Metode ini dilakukan dengan menggunakan strip plastic yang sudah mengandung agen antimikroba yang ditanami mikroorganisme. Hambatan pertumbuhan mikroorganisme bisa diamati dengan area jernih disekitar strip tersebut (Prayoga, 2013).

E- test dapat digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM) untuk bakteri seperti *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus β- hemolitik*, *Neisseriagonorrhoeae*, *Haemaphlus sp.* Dan bakteri anaerob. Dapat juga digunakan untuk bakteri gram negatif seperti *Pseudomonas sp*, dan *Burkholderia Pseudomalle* (Prayoga, 2013).

2.6.4 Konsentrasi Hambat Minimum

Aktifitas antimikroba ditentukan oleh spektrum kerja, cara kerja dan ditentukan pula oleh konsentrasi hambat minimum (KHM). Konsentrasi hambat minimum adalah konsentrasi minimum dari suatu zat yang mempunyai efek daya hambat pertumbuhan mikroorganisme (ditandai dengan tidak adanya kekeruhan pada tabung), setelah diinkubasi dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Penentuan KHM dapat dilakukan dengan dua cara yaitu:

2.6.4.1 Cara Cair

Pada cara ini digunakan media cair yang telah ditambahkan zat yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau fungi dengan pengeneran tertentu kemudian diinokulasi biakan bakteri atau fungi dalam jumlah yang sama. Respon zat uji ditandai dengan kejernihan atau kekeruhan pada tabung setelah diinkubasi.

2.6.4.2 Cara Padat

Pada cara ini digunakan media padat yang telah di campur dengan larutan zat uji dengan berbagai konsentrasi. Dengan cara ini satu cawan petri dapat digores lebih dari satu jenis mikroba untuk memperoleh nilai KHM.

Aktifitas antimikroba dari ekstrak tanaman diklasifikasikan kuat jika nilai KHM $< 100 \mu/\text{mL}$, sedang jika nilai KHM $\leq 625 \mu/\text{mL}$, dan lemah jika nilai KHM $> 625 \mu/\text{mL}$ (Kuete *et al.*, 2011).

2.6.5 Konsentrasi Bunuh Minimum

KBM (Konsentrasi Bunuh Minimum) merupakan kadar terendah dari antimikroba yang dapat membunuh bakteri (ditandai dengan tidak tumbuhnya mikroorganisme pada media padat) atau pertumbuhan koloninya kurang dari 0,1% dari jumlah koloni inokulum awal (*Original inoculum*) pada media padat yang telah dilakukan penggosokan sebanyak satu ose sebelumnya (Noorhamdani *et al.*, 2011).

2.7. Media Pertumbuhan Mikroba

2.7.1 Pengertian media

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrient) yang berguna untuk membiakkan mikroba. Dengan mempergunakan bermacam-macam media dapat dilakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat biologis dan perhitungan jumlah mikroba (Sutedjo, 1996).

Media pertumbuhan bakteri atau media kultur bakteri adalah cairan atau gel yang didesign untuk mendukung pertumbuhan mikroorganisme dan sel. Terdapat dua jenis utama media pertumbuhan yaitu media yang digunakan untuk kultur pertumbuhan sel tumbuhan atau binatang, dan jenis yang kedua yaitu kultur mikrobiologi yang digunakan untuk menumbuhkan mikroorganisme seperti bakteri

dan jamur. Agar mikroba dapat tumbuh baik dalam suatu media, maka media tersebut harus memenuhi syarat-syarat antara lain:

1. Harus mengandung semua zat hara yang mudah digunakan oleh mikroba
2. Harus memenuhi tekanan osmose, tegangan permukaan dan pH yang sesuai dengan kebutuhan mikroba yang ditumbuhkan
3. Tidak mengandung zat-zat yang dapat menghambat pertumbuhan mikroba
4. Harus dalam kondisi steril sebelum digunakan agar mikroba yang diinginkan dapat tumbuh baik (Sutedjo, 1996).

Zat-zat hara yang ditambahkan kedalam media tumbuh mikroba adalah:

1. Nitrogen, pada umumnya bakteri tidak dapat langsung menggunakan N_2 bebas dari udara sehingga keperluannya diberikan.
2. Karbon, sebagai sumber karbon diberikan berbagai gula, pati, glikogen
3. Vitamin, berbagai vitamin yang diperlukan bakteri adalah thiamine, riboflavin, asam nikotinat, asam pantotenat, dan biotin.
4. Garam, garam kimia yang diperlukan adalah K, Na, Fe, dan Mg
5. Air, air sangat diperlukan untuk pertumbuhan dan pembiakan mikroba. Air yang digunakan dalam pembuatan media adalah aquadest (Lay, 1992).

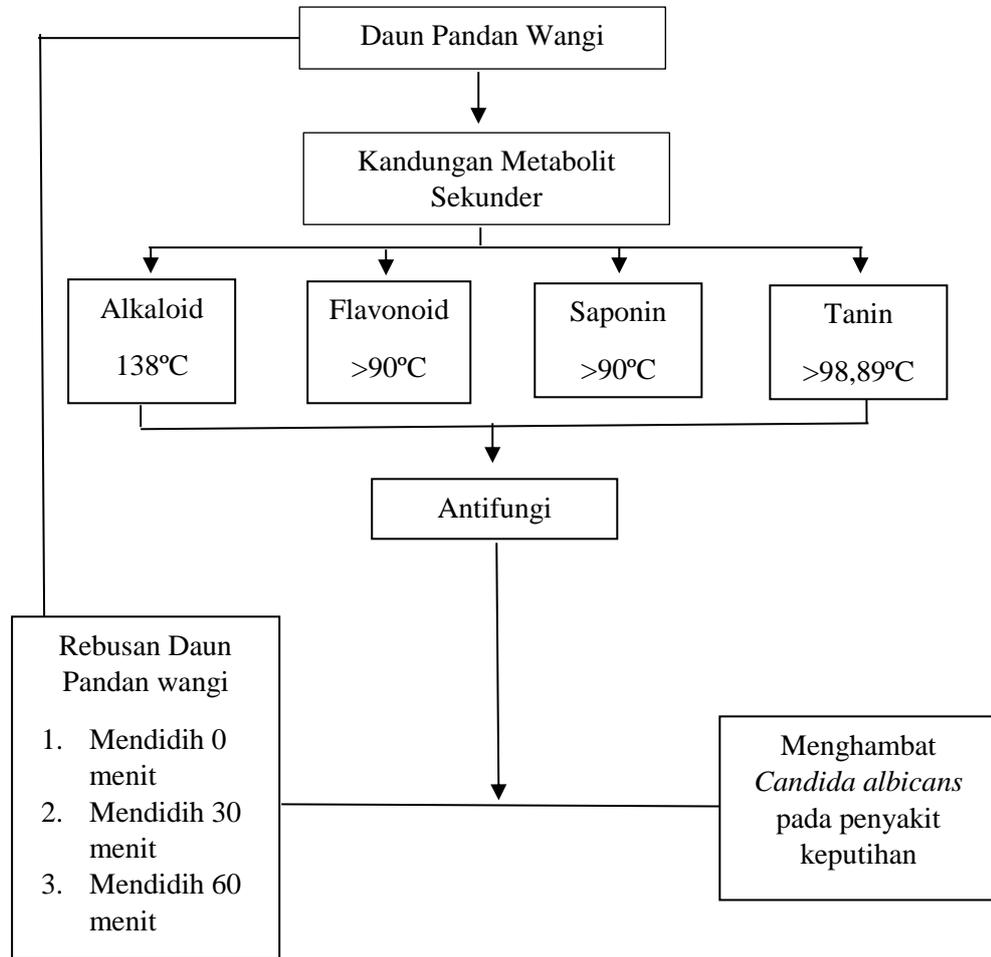
2.7.2 Media Pertumbuhan Fungi

Medium umum untuk mengisolasi fungi umumnya menggunakan *Potato Dextrose Agar (PDA)*, *Malt Extract Agar (MEA)*, *Czapek Dox Agar (CDA)*, *Carrot Agar (CA)*, *Oat Meal Agar (OA)*, *Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol Agar (DRBC)*, *Taoge Extract 6% Sucrose Agar (TEA)* (Gandjar et al., 2006).

Salah satu media untuk pertumbuhan fungi yaitu *Sabouraud Dextrose Agar/SDA* yang direkomendasikan untuk sampel atau bahan klinis yang berasal

dari kuku dan kulit. Media ini selektif untuk fungi dan *yeast* melihat pertumbuhan dan identifikasi *Candida albicans* yang mempunyai pH asam/pH 5,6. Kandungan dekstrosanya yang tinggi dan pHnya yang asam menyebabkan SDA hanya dapat menjadi media pembiakan jamur-jamur tertentu. Pertumbuhan pada SDA terlihat jamur yang menunjukkan tipikal kumpulan mikroorganisme yang tampak seperti krim putih dan licin disertai bau khas/*yeast* (Mutiawati, 2016).

2.8. Kerangka Konsep



Gambar 2.8 Bagan Kerangka Konsep

Daun pandan wangi secara empiris jika dikonsumsi dapat berkhasiat sebagai obat keputihan. Keputihan merupakan keadaan dimana vagina mengeluarkan lendir secara berlebihan disertai dengan perubahan warna lender menjadi putih susu hingga putih kekuningan dan beberapa kasus disertai dengan rasa gatal dan panas pada vagina. Keputihan disebabkan oleh beberapa hal salah satunya akibat infeksi dari *Candida albicans*. Menurut penelitian Cut Ria dkk (2016) ekstrak etanol mengandung senyawa metabolit sekunder alkaloid, flavonoid, tannin, dan saponin. Dimana senyawa-senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Sebagai antifungi alkaloid bekerja dengan merusak membran sel. Alkaloid akan berikatan kuat dengan ergosterol membentuk lubang yang menyebabkan kebocoran membran sel hal ini akan menyebabkan kerusakan yang tetap pada sel dan menyebabkan kematian pada sel fungi. Titik didih alkaloid adalah 138°C (Aniszewski, 2007). Flavonoid mempunyai senyawa genestein yang berfungsi menghambat pembelahan sel. Titik didih flavonoid adalah >90°C (Roller, 2003). Saponin bekerja sebagai antifungi dengan memecah lemak pada membrane sel yang pada akhirnya menyebabkan gangguan permeabilitas membran sel. Titik didih saponin adalah >90°C (Wiryo Widagdo, 2008). Tanin mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dengan cara menciutkan dan mengendapkan protein dari larutan dengan membentuk senyawa yang tidak larut. Titik didih >98,89°C (Sirait, 2007). Penelitian aktivitas antifungi digunakan metode ekstraksi rebusan, dengan perbedaan lama waktu perebusan dengan suhu terkontrol 92°C.