

**UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN ANTIBIOFILM MADU APIS**

**MELLIFERA TERHADAP *Candida Albicans***

**SKRIPSI**

**Untuk Memenuhi Persyaratan  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



**Oleh :**

**Ananta Sandi Putra**

**NPM : 19700030**

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN**

**FAKULTAS KEDOKTERAN**

**UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA**

**2022/2023**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**SKRIPSI**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN ANTIBIOFILM MADU APIS  
MELLIFERA TERHADAP *Candida Albicans***

**Diajukan untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Guna  
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**

**Oleh :**

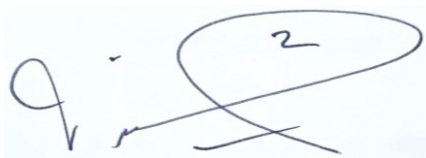
**Ananta Sandi Putra**

**NPM : 19700030**

**Menyetujui untuk diuji**

**Pada tanggal : 24 Juni 2022**

**Pembimbing I**



**Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si**

**NIK. 02333- ET**

**Pembimbing II**



**dr. Handy Arief, Sp.B, FINACS, FICS**

**NIK. 00305 – ET**

**Penguji**



**dr. Inawati, M.Kes**

**NIK. 02349 – ET**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**PROPOSAL SKRIPSI**

**UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN ANTIBIOFILM MADU APIS  
MELLIFERA TERHADAP *Candida Albicans***

**Oleh :**

**Ananta Sandi Putra**

**NPM : 19700030**

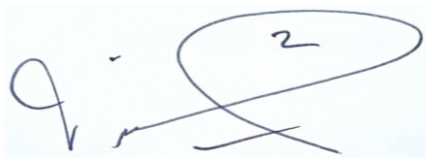
**Telah diuji pada**

**Hari :**

**Tanggal :**

**dan dinyatakan lulus oleh :**

**Pembimbing I**



**Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si**

**NIK. 02333- ET**

**Pembimbing II**



**dr. Handy Arief, Sp.B, FINACS, FICS**

**NIK. 00305 – ET**

**Penguji**



**dr. Inawati, M.Kes**

**NIK. 02349-ET**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa, karena berkat rahmatNya, penulis dapat menyelesaikan Proposal Tugas Akhir yang berjudul “Uji Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm Madu Apis Mellifera Terhadap *Candida Albicans*”.

Pada penelitian ini bertujuan untuk membuktikan efektifitas madu terhadap efek antifungi dan antibiofilm terhadap *candida albicans*. Tugas Akhir ini dapat berhasil diselesaikan oleh penulis karena adanya dukungan dari berbagai pihak. Maka dari itu pada kesempatan ini penulis ucapkan terimakasih banyak kepada:

1. Prof. Dr. Suhartati, dr. Ms. Selaku dekan Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah memberi kesempatan kepada penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
2. Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta dorongan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini
3. dr.Handy Arief,Sp.B,FINACS,FICS selaku pembimbing yang telah memberikan bimbingan, arahan, serta dorongan dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini
4. dr. Inawati, M.Kes selaku penguji proposal.
5. Segenap Tim Pelaksana Tugas Akhir Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang sudah memfasilitasi proses penyelesaian Tugas Akhir.

6. Edi Susanto dan Emy Setiowati selaku orangtua dan Briyan Nanda Ivansyach selaku adik serta keluarga besar saya yang selalu memberi doa, dukungan, kekuatan serta semangat tiada henti kepada penulis.
7. Beserta teman dekat serta semua pihak yang tidak mungkin saya sebutkan satu persatu yang telah membantu dalam menyelesaikan Tugas Akhir ini.

Dalam penulisan Proposal Skripsi ini penulis sadar bahwa masih banyak terdapat kekurangan dan jauh dari kata sempurna maka dari itu penulis mengharapkan segala kritikan dan saran dari pembaca demi menyempurnakan Tugas Akhir ini

Surabaya, 16 Desember 2021

Penulis

## ABSTRAK

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida sp. C. albicans* dapat menyebabkan infeksi superfisial, serta septikemia. *C. albicans* merupakan organisme polimorfik yang mengalami transisi morfologi antara bentuk khamir (blastoconidium), pseudohifa dan hifa, tergantung pada lingkungannya. Spesies candida terutama *candida albicans*, merupakan jamur patogen utama pada manusia yang mampu menyebabkan infeksi mukosa superfisial dan infeksi sistemik pada manusia. Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan eksperimental murni (*True Experimental Design*) dengan metode difusi untuk melihat efek antibiofilm madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dengan pendekatan *Post-test Only Control Group Design*. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Madu *Apis Mellifera* memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan sel planktonik dan sel biofilm *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi daya hambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan ekstrak etanol kunyit memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sehingga bisa dimanfaatkan sebagai agen alternatif antifungi.

## **ABSTRACT**

*Candidiasis is an opportunistic fungal infection caused by Candida sp. C. albicans can cause superficial infection, as well as septicemia. C. albicans is a polymorphic organism that undergoes a morphological transition between yeast (blastocidium), pseudohyphae and hyphae forms, depending on the environment. Candida species, especially Candida albicans, are the main pathogenic fungi in humans that are capable of causing superficial mucosal infections and systemic infections in humans. The research used was a laboratory experimental study using a true experimental design (True Experimental Design) with a diffusion method to see the antibiofilm effect of Apis mellifera honey on the growth of Candida albicans, with a Post-test Only Control Group Design approach. Based on this research, it can be concluded that Apis Mellifera Honey has an effect in inhibiting the growth of planktonic cells and Candida albicans biofilm cells.*

## DAFTAR ISI

<b>HALAMAN JUDUL .....</b>	<b>i</b>
<b>HALAMAN PERSETUJUAN .....</b>	<b>ii</b>
<b>HALAMAN PENGESAHAN.....</b>	<b>iii</b>
<b>KATA PENGANTAR.....</b>	<b>iv</b>
<b>ABSTRAK .....</b>	<b>vi</b>
<b><i>ABSTRACT</i> .....</b>	<b>vii</b>
<b>DAFTAR ISI.....</b>	<b>viii</b>
<b>DAFTAR TABEL .....</b>	<b>xii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR.....</b>	<b>xiii</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
A. Latar Belakang .....	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Tujuan Penelitian .....	4
D. Manfaat Penelitian .....	5
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA .....</b>	<b>6</b>
A. <i>Candida Albicans</i> .....	6
1. Definisi <i>Candida Albicans</i> .....	6
2. Taksonomi <i>candida albicans</i> .....	7
3. Morfologi <i>candida albican</i> .....	8
4. Karakteristik <i>candida albican</i> .....	10
5. Patogenesis <i>Candida Albican</i> .....	13
B. Biofilm <i>Candida Albicans</i> .....	15



1. Pembentukan Biofilm <i>Candida albicans</i> .....	15
2. Antibiofilm .....	16
3. Analisis Biofilm.....	18
C. Madu .....	21
<b>1. Kandungan Madu</b> .....	22
<b>2. Khasiat Madu</b> .....	26
<b>3. Madu sebagai antifungi</b> .....	27
<b>4. Madu Sebagai Antibiofilm</b> .....	28
<b>BAB III KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS</b> .....	<b>31</b>
A. Kerangka Konsep.....	31
B. Keterangan Kerangka Konsep .....	32
C. Hipotesis Penelitian .....	33
<b>BAB IV METODE PENELITIAN</b> .....	<b>34</b>
A. Rancangan Penelitian.....	34
B. Lokasi dan Waktu Penelitian .....	34
C. Populasi dan Sampel Penelitian .....	34
D. Variabel Penelitian.....	35
E. Definisi Operasional .....	35
F. Prosedur Penelitian .....	37
G. Analisis Data.....	50
<b>BAB V HASIL PENELITIAN</b> .....	<b>51</b>
A. Karakteristik Madu Apis Mellifera.....	51
B. Pembuatan Larutan Induk Madu 100% .....	51

C. Potensi Madu Apis Malliferal Sebagai Antifungi.....	52
D. Potensi Madu Apis Malliferal Sebagai Antibiofilm .....	54
E. Penentuan Nilai KHBM.....	56
F. Analisis Data.....	56
<b>1. Antifungi</b> .....	56
<b>2. Antibiofilm</b> .....	60
<b>BAB VI PEMBAHASAN</b> .....	<b>63</b>
A. Pengaruh madu <i>Apis mellifera</i> terhadap pertumbuhan sel planktonik <i>Candida albicans</i> .....	63
B. Nilai KHM madu <i>Apis mellifera</i> dalam menghambat pertumbuhan <i>Candida</i> <i>albicans</i> .....	66
C. Pengaruh madu <i>Apis mellifera</i> terhadap pertumbuhan sel biofilm <i>Candida</i> <i>albicans</i> .....	66
D. Nilai KHBM.....	67
<b>BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN</b> .....	<b>69</b>
A. KESIMPULAN.....	69
B. SARAN .....	69
<b>DAFTAR PUSTAKA</b> .....	<b>70</b>
<b>LAMPIRAN</b> .....	<b>75</b>
Lampiran 1 : Surat Pernyataan Keaslian Tulisan .....	75
Lampiran 2 : Surat Persetujuan Unggah E-repository.....	76
Lampiran 3 : Surat Pernyataan Persetujuan Unggah Majalah atau Jurnal .....	77
Lampiran 4 Kartu Bimbingan .....	78

Lampiran 5 Jurnal.....	79
Lampiran 6 Bukti Submit/ Publikasi Jurnal .....	96
Lampiran 7 Pernyataan Publikasi.....	97
Lampiran 8 Sertifikat Etik.....	101

## DAFTAR TABEL

Tabel II.1 Analisis Kimia dan Mikrobiologi Madu Hutan Anggota JMHI berdasarkan SNI Madu (Sari et al, 2013).....	23
Tabel II.2 Hasil Uji Fitokimia Ekstak Sarang Madu dan Madu (Idris, 2017)...	25
Tabel IV.1 Definisi operasional .....	35
Tabel V.1 Hasil Pengujian Viabilitas Sel.....	52
Tabel 5.2 Hasil Hambatan Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> .....	53
Tabel V.3 Hasil Matriks Biofilm.....	55
Tabel V.4 Hasil Hambatan Matriks Biofilm .....	56
Tabel V.5 Uji Normalitas .....	57
Tabel V.6 Uji Homogenitas .....	57
Tabel V.7 Uji One Way Anova.....	58
Tabel V.8 Uji Post-Hoc Antifungi .....	58
Tabel V.9 Uji Normalitas .....	60
Tabel V.10 Uji Homogenitas .....	60
Tabel V.11 Uji One Way Anova.....	61
Tabel V.12 Uji Post-Hoc Biofilm .....	61

## DAFTAR GAMBAR

Gambar 1 (a) Gambaran Mikroskopis <i>Candida albicans</i> dengan Pewarnaan Gram, (b) Gambaran Germinating Tube pada <i>Candida albicans</i> dimorfik ('Neville et al.', 2015).....	6
Gambar II.2 Jamur <i>Candida albicans</i> dengan pemeriksaan KOH.....	7
Gambar II.3 <i>Candida albicans</i> pada Agar Sabouraud Dextrose.....	11
Gambar II.4 <i>Candida albicans</i> pada Pewarnaan Gram terlihat adanya pseudohifa serta budding cell (Shutterstock).....	12
Gambar II.5 <i>Candida albicans</i> pada preparasi KOH 10% sampel duh tubuh ...	13
Gambar II.6 Proses Pembentukan Biofilm <i>Candida albicans</i> .....	16
Gambar II.7 Lebah <i>Apis mellifera</i> .....	22
Gambar III.1 Kerangka konsep .....	31
Gambar IV.1 Skema Alur Kerja Tahap Penelitian.....	44
Gambar IV.2. Representasi Mikroplate.....	46
Gambar V.1 Madu <i>Apis Mellifera</i> .....	51
Gambar V.1 Grafik Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> .....	53
Gambar V.2 Grafik Penghambatan Pertumbuhan <i>Candida albicans</i> oleh madu	54
Gambar V.3 Grafik Matriks Biofilm.....	55
Gambar V.4 Grafik Hambatan Matriks Biofilm .....	56

# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. Latar Belakang

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida sp.* Prevalensi kandidiasis di Indonesia sekitar 20-25%, dapat menyerang rambut, kulit, kuku, selaput lendir, dan organ lain seperti mulut dan kerongkongan, namun informasi tentang faktor dan karakteristik risikonya masih terbatas (Puspitasari *et al.*, 2019). Kandidiasis sebagian besar menyerang individu yang memiliki status kekebalan yang lemah setelah pemberian obat immunosupresan pada pasien yang membutuhkan transplantasi organ atau menderita kanker (Karasuno *et al.*, 2019). Ketika host menjadi immunocompromised, *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi superfisial, serta septikemia. *C. albicans* merupakan organisme polimorfik yang mengalami transisi morfologi antara bentuk khamir (blastoconidium), pseudohifa dan hifa, tergantung pada lingkungannya (Iwalokun *et al.*, 2010). Hingga saat ini kandidiasis masih menjadi perhatian utama karena tingkat infeksi yang meningkat mulai dari infeksi topikal yang rendah hingga infeksi sistemik yang serius (Frías-De-León *et al.*, 2019). Infeksi yang terjadi di masyarakat maupun rumah sakit pada umumnya disebabkan oleh spesies jamur oportunistik dari *Candida sp* yang merupakan bagian dari mikroflora pada saluran pencernaan, urogenital, dan kulit manusia.

Spesies candida terutama *Candida albicans*, merupakan jamur patogen utama pada manusia yang mampu menyebabkan infeksi mukosa superfisial dan infeksi sistemik pada manusia (HS *et al.*, 2013). *Candida albicans* ini telah menjadi penyebab paling umum dari infeksi aliran darah. Di sebagian besar wilayah *C. albicans* itu sendiri adalah penyebab utama. *C. albicans* merupakan mikroorganisme ketiga yang paling sering diisolasi dari infeksi aliran darah pada pasien rawat inap yang ada di rumah sakit (Shieldsdkk. 2018). *C. albicans* merupakan patogen oportunistik yang berada di dalam tubuh manusia yang berada di flora mulut dan konjungtiva, serta di saluran pencernaan dan genitourinaria (Nami Nasution, Mariatin and Zahreni, 2018). Kemampuan dari spesies *C. albicans* dalam menginfeksi inang didukung oleh berbagai faktor virulensi, seperti kemampuan transisi morfologi antara bentuk ragi dan hifa, ekspresi adhesin dan invasin pada permukaan sel, (Nassar *et al.*, 2012). Patogenitas jamur ini tergantung pada kondisi lingkungan yang dapat beralih secara reversibel antara dua bentuk morfologis seperti ragi atau bentuk filamen (*pseudohyphae*) yang berkontribusi terhadap virulensi utamanya yaitu patogen, termasuk melalui pembentukan biofilm (Tsui, Kong and Jabra-Rizk, 2016).

Berdasarkan Institut Kesehatan Nasional (AS), lebih dari 60% dari semua infeksi mikroba berhubungan dengan biofilm. Biofilm sangat bermasalah dalam lingkungan klinis dan, seperti bakteri, berbagai spesies jamur juga dapat membentuk biofilm baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Di antara spesies jamur, *C. albicans* adalah patogen paling umum yang terkait

dengan infeksi biofilm jamur, terutama infeksi yang terkait dengan perangkat medis yang ditanam (Alandejani et al, 2010). Masalah umum yang terkait dengan biofilm *C. albicans* adalah peningkatan resistensi biofilm terhadap agen antijamur seperti obat azol dan turunannya dan sel inang sehingga sulit dieradikasi. Peningkatan resistensi disebabkan oleh matriks ekstraseluler yang disekresikan oleh sel *Candida*, yang melindungi sel *Candida* dari antibodi dan mencegah obat menembus biofilm (Nett, et al., 2010). Munculnya *C. albicans* yang resisten berdampak besar terhadap kesehatan masyarakat dan perekonomian. Dengan adanya peningkatan prevalensi *C. albicans* yang resistan terhadap obat, maka perlu dilakukan pengembangan pengobatan alternatif untuk infeksi *Candida* yang aman, efektif dan murah. Hal ini bisa dilakukan dengan menggunakan bahan alam seperti madu.

Madu memiliki sifat antimikroba, dimana sifatnya ini tergantung pada jenisnya, sumber bunga, asal botani dan geografis serta kondisi pemanenan, pengolahan dan penyimpanan yang digunakan (Al-Waili NS, et al., 2012; Sherlock O, et al., 2010). Madu banyak digunakan untuk tujuan nutrisi dan terapeutik. Efek antibiofilm madu terhadap bakteri sudah banyak dipelajari, seperti pada *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan biofilm bakteri (Cooper R, et al., 2011; Nassar H, 2012; Al-Waili N., 2012). Namun belum banyak penelitian yang dilakukan mengenai aktivitas antibiofilm dari madu lokal terhadap fungi belum banyak dipelajari secara ekstensif. Madu mampu mengurangi produksi matriks polisakarida ekstraseluler sehingga dapat merusak biofilm (Okhiria OA, et al., 2010). Pada penelitian



sebelumnya, menunjukkan bahwa madu jujube dapat menghambat fase awal pembentukan biofilm dan memiliki potensi fungistatik, fungisida dan antibiofilm. Potensi ini adalah lebih unggul dari kebanyakan antijamur yang umum digunakan (Ansori et al., 2013). Pada penelitian (Rosyidi *et al.*, 2018) yang menggunakan madu apis mellifera lokal yang berasal dari kota Mojokerto provinsi Jawa Timur terbukti kandungan senyawa propolis flavonoidnya yang tinggi. Oleh karena itu peneliti ini ingin meneliti efek antifungi dan antibiofilm dari madu lokal Indonesia jenis Apis Mellifera terhadap *Candida albicans*.

Berdasarkan literatur tersebut, kombinasi madu efektif dalam penghancuran sel biofilm. Dengan demikian penelitian ini berjudul “Uji Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm madu Terhadap *Candida albicans*”.

## **B. Rumusan Masalah**

Menurut latar belakang yang telah dijabarkan diatas, dapat dirumuskan masalah yaitu : Bagaimana Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm madu terhadap *Candida albicans* ?

## **C. Tujuan Penelitian**

### **1. Tujuan Umum**

Untuk mengetahui bagaimana pengaruh madu apis mellifera terhadap pembentukan antifungi dan antibiofilm *Candida albicans*

## **2. Tujuan Khusus**

- a. Mengetahui pengaruh madu apis mellifera dalam menghambat pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans*
- b. Menentukan konsentrasi hambatan minimum (KHM) madu terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans*
- c. Mengetahui pengaruh madu apis mellifera dalam menghambat pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans*
- d. Menentukan Konsentrasi hambatan biofilm minimum (KHBM) terhadap pertumbuhan sel biofilm *candida albicans*

## **D. Manfaat Penelitian**

1. Menambah wawasan tentang khasiat madu apis mellifera dalam antibiofilm terhadap *Candida albicans*
2. Mengetahui Adanya peningkatan antibiofilm madu terhadap *Candida albicans*

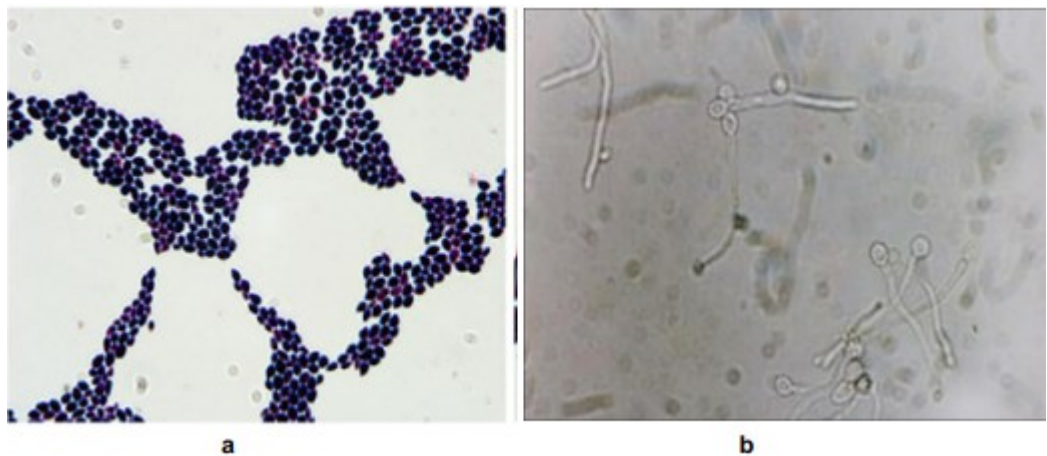
## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. *Candida Albicans*

##### 1. Definisi *Candida Albicans*

*Candida* adalah jamur yang mempunyai kemampuan yang dapat tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu blastospore (blasroconidia) dimana ini merupakan bentuk fenotip yang bertanggung jawab dalam tranmisi dan penyebaran, serta germinated yeast. Oleh karena itu *Candida* disebut jamur



Gambar 1 (a) Gambaran Mikroskopis *Candida albicans* dengan Pewarnaan Gram, (b) Gambaran Germinating Tube pada *Candida albicans* dimorfik ('Neville et al.', 2015)

*Candida albicans* dapat tumbuh pada suhu 37°C dalam kondisi yang aerob maupun anaerob. Pada kondisi anaerob, *Candida albicans* mempunyai waktu pertumbuhan yang lebih yaitu 248 menit dengan kondisi pertumbuhan aerob yang hanya 98 menit. Pertumbuhan 37°C akan lebih cepat pada kondisi asam dibandingkan pH normal atau basa. Kemampuan *Candida albicans* untuk tumbuh baik adalah pada

suhu 37°C yang memungkinkan dapat tumbuh pada sel hewan dan manusia. Bentuknya dapat berubah, bentuk khamir dan filament, yang sangat berperan dalam proses infeksi tubuh inang. Selain itu, fenotipe atau penampakan mikroorganisme ini juga dapat berubah-ubah dari berwarna putih dan rata menjadi kerut dan tidak beraturan, berbentuk bintang, lingkaran, bentuk seperti topi, dan tidak tembus cahaya. Jamur ini memiliki kemampuan dimana jamur ini dapat menempel pada inang dan melakukan replikasi (Puspitasari *et al.*, 2019)

## 2. Taksonomi *Candida albicans*

Taksonomi candida : ('Komariah', 2012)

Kingdom	: Fungi
Phylum	: Ascomycota
Subphylum	: Saccharomycotina
Class	: Saccharomycetes
Ordo	: Saccharomycetales
Family	: Saccharomycetaceae
Genus	: <i>Candida</i>
Spesies	: <i>Candida albicans</i>



**Gambar II.2 Jamur *Candida albicans* dengan pemeriksaan KOH**

### 3. Morfologi *Candida albican*

*Candida albican* morfologinya sendiri mempunyai beberapa bentuk komponen jamur yaitu adalah sel ragi (blastospora/ yeast), hifa dan juga bentuk intermedia/ pseudohifa. Pada apusan eksudat, *Candida albican* berkembang sebagai ragi oval, kecil, berdinding tipis, bertunas, Gram-positif, berukuran 23 x 46 m, dan tumbuh seperti hifa (pseudohyphae). *Candida albican* membentuk pseudohifa ketika kuncup terus tumbuh tetapi tidak mengendur, membentuk rantai sel memanjang yang terjepit atau tertarik ke septum antar sel. ('Komariah', 2012).

*Candida albican* merupakan jamur dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda, yaitu sel tunas yang akan berkembang menjadi blastospora serta kecambah yang akan membentuk pseudohifa. Jamur ini memiliki bentuk yeast kecil, oval, berdiameter 2—4 µm, uniselular, dan bereproduksi dengan budding. Yeast maupun pseudohifa merupakan gram positif. Keduanya, yeast dan pseudohifa terbungkus kapsul dan diploid. Jamur *Candida albicans* dapat membentuk biofilm sebagai bentuk pertahanan dirinya. Dinding jamur ini terdiri dari karbohidrat sebagai komposisi utamanya. Perbedaan bentuk antara yeast dengan pseudohifa tergantung pada faktor eksternal yang mempengaruhinya. Umumnya, koloni *Caalbicans* pada medium padat agar *Sabouraud dextrose agar* (SDA) berbentuk bulat, lonjong. Koloni ini memiliki

permukaan yang halus, licin, dan kadang-kadang sedikit berlipat-lipat terutama pada koloni yang sudah tua. Warna koloni pada biakan berwarna putih kekuningan dan berbau asam, sedangkan pada chromagar, koloni ini berwarna kehijauan. (Aryal, 2020)

*Candida albicans* mempunyai struktur dinding sel yang kompleks dan dinamis. Tebal dinding selnya 100—400 nm, dinding sel *Candida albicans* terdiri dari lima lapisan yang berbeda. Komposisi primernya terdiri dari berbagai polisakarida, seperti glukukan, mannan, dan khitin. Glukan dan mannan memberi struktur sel, sedangkan mannan yang merupakan protein turut berperan dalam membentuk antigen utama organisme (Aryal, 2020).

Seperti sel eukariotik lainnya, membran sel *Candida albicans* terdiri dari bilayer fosfolipid. Protein membran ini memiliki aktivitas enzim seperti mannan sintase, kitin sintase, glukukan sintase, ATPase, dan protein transpor fosfat. Membran sterol pada dinding sel berperan penting sebagai target antimikotik. Membran sterol dinding sel dapat menjadi tempat kerja enzim yang terlibat dalam sintesis dinding sel. Mitokondria *Candida albicans* adalah kekuatan pendorong sel. Organel dibuat menggunakan energi yang diperoleh dengan menggabungkan oksigen dan molekul makanan untuk menghasilkan ATP. Vakuola berperan dalam sistem pencernaan sel sebagai tempat penyimpanan lipid dan butiran polifosfat. Mikrotubulus dan mikrofilamen hadir dalam sitoplasma. Pada *Candida*

*albicans*, mikrofilamen memainkan peran penting dalam pembentukan pemanjangan hifa (Mayer, Wilson and Hube, 2013).

#### **4. Karakteristik *Candida albicans***

Karakteristik dari *Candida albicans* dapat diidentifikasi dengan beberapa metode. Metode-metode tersebut meliputi pengamatan koloni pada media kultur *Sabouraud dextrose agar*, Pewarnaan Gram, serta Pewarnaan KOH (Brooks, 2013)

##### **a. Kultur Agar Sabouraud Dekstrosa**

Agar Sabouraud Dekstrosa (SDA) digunakan untuk isolasi, kultur, dan pemeliharaan spesies jamur dan yeast, spesies patogen maupun nonpatogen. SDA diformulasikan oleh Sabouraud pada tahun 1892 untuk pembiakan jamur dermatofita. Untuk meningkatkan pertumbuhan jamur, terutama jamur dermatofita, pH diatur menjadi sekitar 5.6. Selain itu, pengaturan pH juga dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada spesimen klinis. Pepton, enzim pencerna kasein dan protein, menyediakan sumber nitrogen dan vitamin yang dibutuhkan Agar Sabouraud Dekstrosa (SDA) digunakan untuk isolasi, kultur, dan pemeliharaan spesies jamur dan yeast, spesies patogen maupun nonpatogen. SDA diformulasikan oleh Sabouraud pada tahun 1892 untuk pembiakan jamur dermatofita. Untuk meningkatkan pertumbuhan jamur, terutama jamur dermatofita, pH diatur menjadi sekitar 5.6. Selain itu, pengaturan pH juga dilakukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri pada spesimen klinis. Pepton,

enzim pencerna kasein dan protein, menyediakan sumber nitrogen dan vitamin yang dibutuhkan

Cawan agar Sabouraud dapat diinokulasi dengan menggores, seperti pada media bakteriologis standar. Biasanya, jamur diinkubasi pada suhu kamar (22— 25°C) dan yeast diinkubasi pada suhu 28— 30°C atau bahkan 37°C jika dicurigai sebagai jamur dimorfik seperti *Candida albicans*. Inkubasi dilakukan selama 24— 48 jam. Pertumbuhan *Candida albicans* pada SDA memiliki ciri seperti koloni berwarna putih krem hingga kekuningan, halus, licin, lembut, mirip bentukan ragi (yeast-like appearance), dan beraroma seperti yeast (Brooks, 2013)



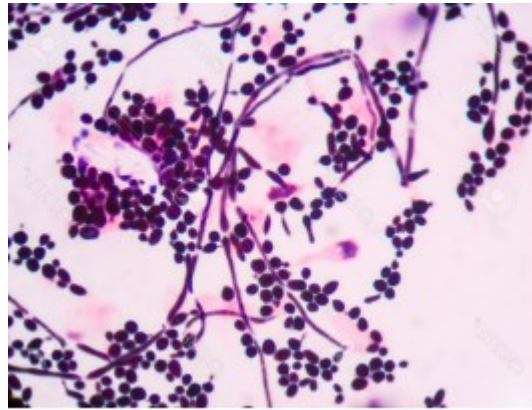
**Gambar II.2** *Candida albicans* pada Agar Sabouraud Dextrose membentuk koloni halus dan creamy (Aryal, 2020)

#### **b. Pewarnaan Gram**

Pewarnaan gram merupakan prosedur mikrobiologi dasar untuk mengidentifikasi dan mendeteksi sifat gram pada suatu bakteri atau jamur. Pada pewarnaan Gram terhadap jamur *Candida albicans*, didapatkan budding cell dan pseudohifa yang berwarna keunguan. Hal



ini menunjukkan bahwa jamur *Candida albicans* bersifat gram positif (Brooks, 2013).

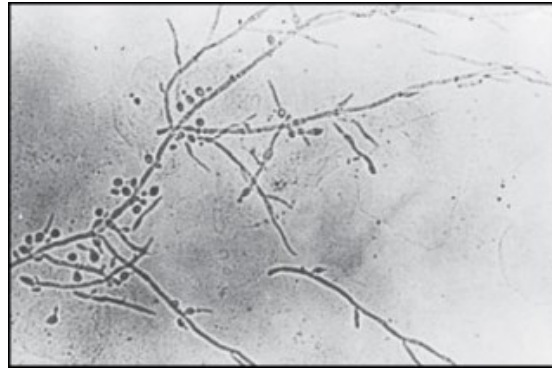


**Gambar II.3** *Candida albicans* pada Pewarnaan Gram terlihat adanya pseudohifa serta budding cell (Shutterstock)

### c. Pewarnaan KOH

Tes KOH untuk *Candida albicans* atau dikenal sebagai preparasi kalium hidroksida atau preparasi KOH merupakan suatu bentuk pewarnaan jamur yang cepat dan murah untuk membedakan dermatofita dan *Candida albicans*. Dermatofita mudah dikenali di bawah mikroskop melalui struktur tubular seperti cabang panjang yang disebut hifa. Sediaan KOH tidak dapat mengidentifikasi organisme spesifik. Spesimen dapat dilakukan kultur SDA untuk mengidentifikasi organisme secara gold standard.

Pewarnaan KOH yang dilakukan pada jamur *Candida albicans* akan memperlihatkan gambaran budding yeast cells, hifa, dan pseudohyphae.



**Gambar II.4** *Candida albicans* pada preparasi KOH 10% sampel duh tubuh

### **5. Patogenesis *Candida Albican***

*C. albicans* diawali dengan perubahan bentuk dari ragi menjadi hifa yang berkaitan erat dengan meningkatnya potensiasi patogenitas dari *C. albicans*. Pada preparat histologis, hifa hanya terlihat ketika *C. albicans* akan melakukan invasi baik di jaringan superfisial maupun profundus. Hifa membantu jamur ini untuk melakukan penempelan pada sel epitelial manusia. Salah satu mediatornya adalah Hwpl (Hyphal wall protein) yang ditemukan hanya pada permukaan germ tube dan hifa. Selain itu, ada beberapa protein lagi yang berfungsi untuk penetrasi dan adhesi antara lain Fibronektin, Kolagen dan Laminin. Hifa juga memproduksi Proteinase dan Fosfolipase yang mampu merusak sel epitel dan memfasilitasi invasi. Hifa juga mensekresi Aspartic Proteinases (Saps) yang mampu merusak keratin dan kolagen dan memfasilitasi invasi ke jaringan yang lebih profundus (Mayer, Wilson and Hube, 2013)

Kandidiasis mukokutan terjadi ketika hifa menembus dengan baik ke dalam mukosa. Pada kandidiasis mukokutan, lesi yang terbentuk berkisar dari abses purulen hingga pembentukan granulomatososa kronis. Lesi mengandung sel ragi dan pseudohifa *Candida albicans*. Jika kondisi ini tidak segera ditangani, *C. Albicans* masuk ke aliran darah melalui mukosa usus dan dapat menurunkan efektivitas mekanisme fagositosis sebagai salah satu pertahanan imun tubuh sendiri. Ketika beredar, *Candida* dapat menginfeksi ginjal, menempel pada katup jantung, dan menyebabkan gejala lain seperti radang sendi, meningitis, dan *endophthalmitis*. Ini dapat memiliki prognosis yang sangat buruk jika tidak segera diobati. (Brooks, 2013)

Penyakit sistemik, yaitu down sindrom, acrodermatitis enterik, penyakit endokrin (diabetes melitus, penyakit Cushing, hipoadrenalisme, hipotiroidisme, hipoparatiroidisme), gagal ginjal akut (urinemia), Tumor ganas, terutama hematologi (leukemia akut) dan adenoma toraks, transplantasi organ padat), imunodefisiensi (AIDS, granulositopenia, dll.). Paroksismal, misalnya kateterisasi, pemberian obat intravena, rawat inap jangka panjang, obat-obatan (kortikosteroid, immunosupresan, antibiotik, kontrasepsi oral, colchicine, fenilbutazon dan kemoterapi). Secara umum, infeksi *Candida* dipengaruhi oleh kondisi panas dan lembab, seperti lipatan kulit dan area yang tertutup popok bayi, dan di daerah yang beriklim tropis. Selain itu, infeksi juga dapat terjadi selama musim panas. Kondisi lain yang mempengaruhi indeks *Candida* adalah penggunaan

terapi kortikosteroid, antibiotik, pemakaian kontrasepsi oral, pasien diabetes melitus maupun Human Immunodeficiency Virus (HIV) (Ning, Ling and Wu, 2015).

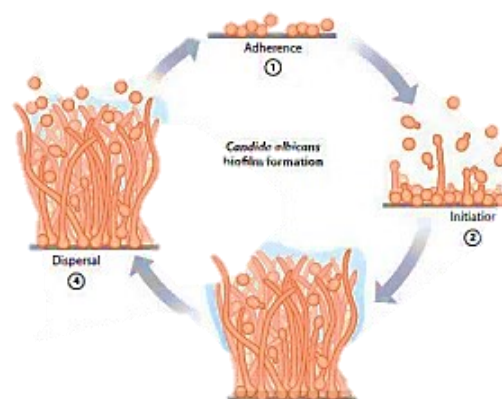
## **B. Biofilm *Candida Albicans***

Biofilm adalah bentuk struktural dari sekelompok mikroorganisme yang dilindungi oleh matriks ekstraseluler yang disebut Extracellular Polymers (EPS). Biofilm saat ini dianggap sebagai mediator utama infeksi, dengan perkiraan 80% infeksi terkait dengan pembentukan biofilm. Karena biofilm bertindak sebagai penghalang, mikroorganisme yang membentuk biofilm biasanya resisten terhadap antibiotik umum atau menghindari sistem kekebalan sel inang. Perkembangan biofilm dengan meningkatnya infeksi klinis pada sel inang, sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor toksik dan resisten. Pembentukan biofilm dapat dirangsang oleh adanya serum dan saliva di lingkungan. (Archer, 2011).

### **1. Pembentukan Biofilm *Candida albicans***

Biofilm *C. albicans* terbentuk melalui empat proses: pertama, proses adesi sel yeast di permukaan yang solid (mukosa, kulit dan implan medis). proses tahap ini dinamakan seeding dan membutuhkan waktu selama 60 – 90 menit. Kedua, sel *Candida albicans* berproliferasi dan mulai berubah menjadi bentuk filamen dari sel yeast. Ketiga, maturasi biofilm yang ditandai dengan ditemukan berbagai morfologi sel seperti hifa, pseudohifa dan yeast yang memproduksi matriks ekstraseluler Dua komponen

makromolekul membentuk matriks ekstraseluler: rantai polisakarida dalam kategori yang disebut sebagai glikosaminoglikan (GAG), yang biasanya diamati secara kovalen terkait dengan protein dalam bentuk proteoglikan dan protein berserat, yang terdiri dari kolagen, elastin, fibronektin, dan laminin. sehingga memberikan gambaran biofilm yang tebal serta padat. Proses maturasi ini terjadi selama 24 jam dan pada pengamatan mikroskop terlihat gambaran sel berbagai bentuk yang terorganisir. Keempat atau proses terakhir adalah dispersal, yaitu saat sel yeast melepaskan diri dari biofilm untuk tumbuh di tempat baru (Shah *et al.*, 2013). Proses pembentukan biofilm *Candida albicans* dilihat pada gambar 2.6



**Gambar II.5 Proses Pembentukan Biofilm *Candida albicans***  
(Manvitha dan Bidya, 2014)

## 2. Antibiofilm

Biofilm adalah bentuk struktural dari sekelompok mikroorganisme yang dilindungi oleh matriks ekstraseluler yang disebut Extracellular Polymers (EPS). Biofilm saat ini dianggap sebagai mediator utama infeksi, dengan perkiraan 80% infeksi terkait dengan pembentukan biofilm.

Karena biofilm bertindak sebagai penghalang, mikroorganisme yang membentuk biofilm biasanya resisten terhadap antibiotik umum atau menghindari sistem kekebalan sel inang. Perkembangan biofilm dengan meningkatnya infeksi klinis pada sel inang, sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor toksik dan resisten. Pembentukan biofilm dapat dirangsang oleh adanya serum dan saliva di lingkungan. Biofilm adalah mikrokoloni, dan proses dasar pembentukan biofilm, seperti penginderaan kuorum, resistensi antibakteri, dan mekanisme adhesi, dapat menjelaskan interaksi fisiologis mikrokoloni dalam biofilm dewasa. Biofilm terutama terdiri dari bahan matriks (85% dari volume) dan akumulasi sel bakteri (15% dari volume). Extracellular Polymers (EPS) dapat membentuk 50-90% karbon organik dalam biofilm dan dapat dianggap sebagai bahan matriks utama. EPS bervariasi secara fisik dan kimia, tetapi terutama terdiri dari polisakarida. EPS bersifat hidrofilik karena dapat mengikat sejumlah besar air dengan kelarutan yang berbeda. (Gunardi, 2014)

Antibiofilm adalah senyawa fitokimia yang ekstrak tumbuhannya yang berperan sebagai antibiofilm umumnya adalah flavonoid dan tanin. Flavonoid dan tanin dapat mengurangi adhesi bakteri dan menghambat sintesis protein bakteri. Mekanisme utama senyawa anti biofilm adalah degradasi komponen polisakarida dan matriks biofilm (extracellular polymer/EPS), gangguan sistem signaling sel bakteri (quorum sensing/QS), membran sel yang tertanam di dalamnya. Ini mengganggu penghambatan biofilm dan sistem alarmone (sistem yang

mengatur banyak biofilm), ekspresi sejumlah besar gen yang penting untuk pembentukan biofilm, dan regulasi gen yang terlibat dalam pembentukan dan pengangkutan protein pengikat. (Kining, Falah and Nurhidayat, 2016)

### 3. Analisis Biofilm

Identifikasi biofilm dapat dilakukan dengan metode pemeriksaan direk dan indirek. Pemeriksaan indirek adalah pemeriksaan biofilm dengan menggunakan metode biakan, seperti *Tissue Culture Plate* (TCP), *Tube Methode* (TM) dan *Congo Red Agar* (CRA). Sedangkan pemeriksaan direk adalah pemeriksaan biofilm dengan menggunakan mikroskop elektron sehingga dapat melihat morfologi dari biofilm bakteri, salah satu diantaranya adalah *Fluorescence in Situ Hybridization* (FISH) (Boase et al, 2013)

Analisis biofilm dapat dilakukan dengan menggunakan mikroskop elektron dan Concofocal Laser Scanning Microscope (CLSM). Mikroskop elektron dapat memeriksa biofilm pada alat-alat medik dan pada infeksi manusia. Pada awalnya, mikroskop elektron ini merupakan alat yang penting dalam mempelajari biofilm. CLSM dengan fluorescen antisera dan fluoresen in situ hibridisasi, sehingga organisme yang spesifik dan untuk mengidentifikasi dalam komunitas campuran kuman (Gunardi, 2014).

Pada pemeriksaan gram juga dapat dilakukan untuk analisis biofilm dan mendeteksi sifat gram pada suatu bakteri atau jamur. Pada pewarnaan Gram terhadap jamur dibutuhkan beberapa bahan untuk pewarnaan seperti

kristal violet, lugol, alkohol 90%, safranin, hal ini dilakukan untuk mengidentifikasi *Candida* sp. Pewarnaan gram memperlihatkan gambaran berwarna ungu yang menunjukkan sifat gram positif dan memberikan gambaran dengan bentuk blastospora, hifa, atau pseudohifa.

Terdapat dua teknik pengerjaan untuk menganalisis antibiofilm, yaitu teknik dilusi perbenihan cair (*tube dilution*) dan teknik dilusi agar (*agar dilution*). Metode dilusi digunakan untuk mengetahui Kadar Hambat Minimum (KHM) atau *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) pada antijamur. Metode dilusi agar ini sesuai untuk uji kepekaan antijamur. Untuk mengukur aktivitas antibakteri secara kuantitatif, zat antibakteri tersebut dilarutkan dalam media agar atau kaldu, kemudian bakteri/jamur ditanam dan diuji. Metode ini dapat menggunakan media agar Saburo dekstrosa. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan jamur setelah inkubasi semalam disebut *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC). Nilai MIC juga dapat dibandingkan dengan konsentrasi obat dalam serum dan cairan tubuh lainnya. Perbandingan ini digunakan untuk memperkirakan respon klinis. Antimikroba yang diuji diencerkan dengan air untuk menghasilkan varian konsentrasi. Selanjutnya, gabungkan konsentrat dengan agar-agar cair untuk membuat piring. Konsentrasi akhir agen antijamur adalah serangkaian pengenceran 2 kali lipat (1, 2, 4, 8, 16, dll.). Jamur kemudian disiapkan untuk menyesuaikan dengan kekeruhan standar *McFarland* 0,5 ( $1 \times 10^8$  unit pembentuk koloni (CFU) ml<sup>-1</sup>) dan suspensi ini digunakan sambil meningkatkan konsentrasi agen



antimikroba.1 sampai 5 L cairan ditambahkan. Alat replikator diletakkan pada masing-masing plate/spot (inokulum akhir  $5 \times 10^4$  CFU/spot). Teknik ini memungkinkan untuk mereplikasi beberapa titik dari satu atau spesies jamur yang berbeda untuk diuji. Hal ini memungkinkan MIC antijamur untuk diuji terhadap berbagai jenis jamur secara bersamaan. Perawatan terkontrol diperlukan dengan menghilangkan agen antijamur (dengan air suling). Setelah pemberian jamur, piring diinkubasi pada  $37^\circ\text{C}$  selama 16-18 jam. Setelah inkubasi, pelat diperiksa untuk menentukan apakah pertumbuhan jamur telah terjadi di tempat inokulasi. Konsentrasi antijamur terendah yang mencegah pertumbuhan jamur merupakan *Minimal Inhibitory Concentration* (MIC) untuk jamur ini. Dasar untuk mengukur agen antimikroba dalam invitro adalah MIC dan MBC (konsentrasi bakterisida minimum). MIC adalah konsentrasi minimum zat antimikroba yang dapat menghambat pertumbuhan jamur, dan hasil yang diperoleh dari pertumbuhan koloni pada agar atau kekeruhan media agar. MBC adalah konsentrasi agen antibakteri terendah yang dapat membunuh 99,9% dalam kultur selama periode waktu tertentu. Penyerapan obat dan distribusi antibiotik mempengaruhi dosis, rute, dan frekuensi pemberian antimikroba untuk mendapatkan dosis efektif di tempat infeksi. Konsentrasi minimum agen antijamur yang mampu membunuh jamur atau MBC ditentukan dengan menumbuhkan jamur dalam agar-agar pada media cair yang digunakan untuk uji MIC dan kemudian membiakkannya.

MBC dapat terjadi ketika pertumbuhan berhenti pada agar (Calvillo, 2019).

### C. Madu

Madu adalah bahan khusus. Bahan makanan alami ini sudah banyak digunakan oleh masyarakat sejak zaman dahulu karena madu tidak hanya digunakan dalam makanan dan minuman, tetapi juga dalam pengobatan berbagai penyakit. Madu secara harfiah adalah zat kental kental, yang berasal dari nektar bunga yang diolah oleh lebah. Lebah merupakan serangga yang berperan dalam pembuatan nektar dengan mengolah nektar dari bunga dan menyimpan hasil olahannya di dalam sarang lebah. Ada beberapa jenis lebah. Lebah hutan (*Apis dorsata*), lebah Australia (*Apis mellifera*), lebah Florea, dan lebah asli (*Apis indica*). Beberapa lebah mungkin atau mungkin tidak memiliki luka tusukan. Lebah dengan luka tusukan telah disebutkan di atas dan lebah madu tanpa luka tusukan, seperti *trigona* dan *melipona*. *Apis dorsata* tersebar luas di Pulau Jawa dan juga dikenal sebagai lebah madu lokal. *Apis dorsata* merupakan lebah hutan yang berukuran lebih besar dari lebah lainnya. Peternak lebah menggunakan lebah madu unggul, , yang umumnya didatangkan dari Australia, juga dikenal sebagai lebah madu Eropa. Jenis lebah ini dinilai lebih unggul dari segi kualitas dan produksi madu. (Adalina, 2018)

Taksonomi *Apis mellifera*:

*Kingdom* : *Animalia*

*Phylum* : *Arthropoda*  
*Class* : *Insecta*  
*Ordo* : *Hymenoptera*  
*Family* : *Apidae*  
*Genus* : *Apis*  
*Spesies* : *Apis mellifera*



**Gambar II.6** Lebah *Apis mellifera*

### **1. Kandungan Madu**

Madu mengandung 181-200 zat yang berbeda dan terdiri dari 75% - 80% monosakarida (fruktosa 38,2 % dan glukosa 31,3 %), disakarida (1,31 % sukrosa, laktosa 7,11 %, dan maltosa 7,31 %) dan air (15 - 23%). Selain itu. Madu mengandung vitamin (B1, B2, B5, B6, C), mineral (Ca, Na, P Fe, Mg, Mn), enzim berupa atase, invertase yang mengubah sukrosa menjadi fruktosa dan glukosa, serta enzim. mengandung peroksida glukosa untuk produksi hidrogen peroksida dan asam glukosa glukonat. (Nora, Wilapangga and Novianti, 2018)

Kandungan air madu sangat berpengaruh terhadap kualitas madu. Madu yang baik mengandung sekitar 17-21 air. Semakin tinggi kadar air dan keasaman madu, semakin rendah kualitas madu, tetapi semakin rendah kadar gula, semakin rendah kualitas madu. Madu dengan kadar air lebih dari 17% dan total kadar gula total < 83% rentan mengalami fermentasi yeast osmotoleran, yang dapat menyebabkan madu berfermentasi selama proses penyimpanan, menyebabkan madu terasa asam dan busuk (Adalina, 2018)

Kadar keasaman dan kadar gula total juga merupakan parameter penting kualitas madu. Nilai-nilai ini mungkin mencerminkan kerusakan madu karena aktivitas fermentasi ragi osmotik *Zygosaccharomyces*. Menurut Prica et al. (2014) Karena fermentasi madu menghasilkan kadar gula yang lebih rendah dan keasaman yang lebih tinggi, keasaman madu dapat digunakan sebagai indikator proses fermentasi yang memecah gula menjadi alkohol, karbon dioksida, dan bahkan asam asetat. Oksidasi alkohol. Di Indonesia, kualitas madu ditentukan oleh Standar Nasional Indonesia (SNI) No. 0135452013. Tabel 1 menunjukkan analisis kimia dan mikrobiologi madu hutan anggota jmhi berdasarkan sni madu untuk masing-masing komponen.

**Tabel II.1 Analisis Kimia dan Mikrobiologi Madu Hutan Anggota JMHI berdasarkan SNI Madu (Sari et al, 2013)**

No.	Parameter	Satuan	Hasil Uji SNI				Nilai SNI
			APDS	JMHS	APMTN	KTMHUK	
							24
1.	Aktifitas enzim diastase	DN	5,22	5,02	3,35	3,39	Min 3*
2.	Hidroksimetilfurfural	Mg/kg	0	0	0	0	Maks 50
3.	Air	%	18,0	16,0	17,0	17,4	Maks 22
4.	Abu	%	0,75	0,53	0,36	1,60	Maks 0,5
5.	Gula pereduksi	%	79,3	79,2	68,2	75,0	Maks 65
6.	Sukrosa	%	0,14	3,67	15,3	1,82	Maks 5
7.	Fruktosa	%	39,4	37,1	32,5	41,6	-
8.	Keasaman	MI NaOH 1 N/Kg	21,8	36,4	74,1	7,42	Maks 50
9.	Padatan yang tidak larut dalam air	%	0,03	0,03	0	0,001	Maks 0,5
10.	Cemaran logam						
	Timbal (PB)	Mg/kg	<0,042	<0,042	<0,042	<0,042	Maks 2,0
	Kadmium (Cd)	Mg/kg	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	Maks 0,2
	Timah (Sn)	Mg/kg	<0,8	<0,8	<0,8	<0,8	
	Raksa (Hg)	Mg/kg	<0,005	<0,005	<0,005	<0,005	Maks 0,03
	Arsen (AS)	Mg/kg	<0,003	<0,003	<0,003	<0,003	Maks 1,0
11.	Cemaran mikroba						
	Angka lempeng total				<2,3 x		
	30 C 72 jam	Koloni/gram	40	20	10	75	<5x10
	Coliform	APM/gram	<3	<3	<3	<3	<3
	Kapang	Koloni/gram	<10	<10	20	20	<1X10
	Khamir	Koloni/gram	<10	<10	<10	<10	<1X10
12.	(Aktivitas air)		0,57	0,59	0,62	0,60	

Keterangan : \* diluar lingkup akreditasi ; APDS Asosiasi Periau Danau Sentarum ;JMHS Jaringan Madu Hutan Sumbawa ; APMTN Asosiasi Petani Madu Tesso Nilo,KTMHUK Kelompok Tani Madu Hutan Ujung Kulon

Sebagai antioksidan, madu mengandung vitamin C, asam organik, enzim, asam fenolik, flavonoid dan beta-karoten yang bermanfaat sebagai antioksidan tinggi. Senyawa yang diuji aktivitas antioksidannya adalah senyawa fenolik. Senyawa fenol pada tumbuhan dapat berupa fenol, antrakuinon, asam fenolat, kumarin, flavonoid, lignin dan tanin. Senyawa fenolik diketahui memiliki berbagai efek biologis seperti reduktor, penangkap radikal, agen pengkelat logam yang mengurangi pembentukan oksigen singlet, dan aktivitas antioksidan melalui mekanisme seperti donor electron (Idris, 2017).

Pada tabel 2 menunjukkan hasil uji fitokimia terhadap ekstrak sarang madu dan madu.

**Tabel II.1 Hasil Uji Fitokimia Ekstak Sarang Madu dan Madu (Idris, 2017)**

Sampel	Uji Pendahuluan		
	Flavonoid	Asam Fenolik	Tanin
Kanton Madu	+	+	+
Kantong Polen	+	+	+
Propolis	+	+	+
Kantong Telur	+	+	+
Madu	+	+	-

Mineral merupakan salah satu komponen penting makhluk hidup, selain karbohidrat, lemak, protein dan vitamin. Berdasarkan penelitian yang dilakukan, total kandungan mineral madu diketahui sekitar 0,04

0,02%. Banyak faktor yang dapat mempengaruhi komposisi mineral madu, termasuk jenis tanah, sumber bunga, kondisi iklim, pemupukan, dan variabilitas yang besar. Hasil madu tidak tercampur dengan racun dari pestisida, karena lebah hanya menelan makanan langsung dari alam. (Idris, 2017).

Madu mengandung beberapa enzim seperti katalase, glukosa oksidase, dan peroksidase, serta komponen non-enzimatik seperti karotenoid, asam amino, protein, asam organik, produk reaksi Maillard, dan lebih dari 150 senyawa polifenol seperti flavonol dan asam fenolik. disertakan. Catechin, dan turunan asam sinamat yang meningkatkan sifat antioksidan madu, dapat didukung (Sumarlin, Muawanah and Wardhani, 2014)

## **2. Khasiat Madu**

Selain digunakan sebagai bahan makanan dan bahan baku kosmetik, madu juga dikenal memiliki manfaat dalam dunia kesehatan baik dalam pengaplikasian secara topikal maupun sistemik. Madu memiliki beberapa senyawa seperti alkaloid, flavonoid, tannin, terpenoid, saponin. Madu mengandung senyawa flavonoid dimana senyawa flavonoid merupakan salah satu senyawa fenol alami yang tersebar luas pada tumbuhan, Penelitian secara *in vitro* maupun *in vivo* menunjukkan aktivitas biologis dan farmakologis dari senyawa flavonoid sangat beragam. Flavonoid merupakan senyawa kimia yang bersifat antibakteri, antifungal, antiviral, antioksidan dan anti inflamasi.(Banowu, 2016).

### 3. Madu sebagai antifungi

Beberapa komponen dari madu yang mempunyai efek antifungi :

Flavonoid terdapat hampir disemua spesies bunga. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar. Golongan flavonoid mencakup banyak pigmen yang paling umum dan terdapat pada seluruh dunia tumbuhan. Sejenis flavonoid yaitu papyriflavonol A mampu mengganggu integritas sel dan melisiskan membrane sel candida albicans (Banowu, 2016)

Tanin umumnya didefinisikan sebagai senyawa polifenol yang dapat membentuk kompleks dengan protein pada berat molekul yang cukup tinggi ( $> 1000$ ). Tanin dibagi menjadi dua kelas berdasarkan strukturnya: tanin terkondensasi dan tanin terhidrolisis. Karena strukturnya, tanin ini dibagi menjadi dua kelas: galotanin dan ellagitannin. Perbedaan antara kedua struktur tersebut adalah adanya ester asam galat galotanin dan ester asam heksahidroksidifenat ellagitannin (HHDP). Kedua ester asam terikat pada glukosa. Ellagitannin dihidrolisis untuk menghasilkan asam ellagic. Pada uji aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida russei*, dan *Cryptococcus neofarmans*, tanin terhidrolisis dan flavonoid menunjukkan fluktuasi aktivitas yang berbeda tergantung pada jenis senyawa dan jenis mikroorganisme target, sedangkan ellagitannin dan corilagin menunjukkan efek yang sama dengan



amfotericin B dan ketokonazol terhadap *Candida plabrata* (Latifah, 2015)

Terpenoid adalah sebuah kelas senyawa turunan dan prekursor isoprenil difosfat universal (IPP) dan allylic isomer-nya dimethylallyldiphosphate (DMAPP), juga disebut unit isoprena. Meskipun beberapa terpenoid dihasilkan relatif banyak dari sumber alam seperti minyak atsiri, sering kali produk terpenoid bernilai tinggi ditemukan dalam kelimpahan yang rendah di alam. Pada pengujian terpenoid terhadap morfologi sel *Candida albicans* yang menyebabkan apoptosis morfologi *Candida albicans* (Zore *et al.*, 2011)

Pada percobaan penelitian (Sri winarsih, 2012) secara eksperimental laboratorium invitro. Penelitian ini memiliki rancangan operasional sebagai berikut: madu dengan berbagai pengenceran (20%, 40%, 60%, 80%, dan 100%) dicampur dengan jamur *Candida albicans* (dengan kekeruhan  $3 \times 10^6$  jamur per ml (7) dalam medium perbenihan cair Nutrient Broth, didapatkan penurunan jumlah rata-rata koloni *Candida albicans* dari kontrol jamur karena kandungan flavonoidnya. Hal ini dapat disimpulkan bahwa madu memberikan efek terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

#### **4. Madu Sebagai Antibiofilm**

Kandungan madu yang mempunyai efek antibiofilm yaitu : Kandungan pinostrobin yang disebut flavonoid dalam madu dapat mencegah resistensi biofilm yang bertindak sebagai agen anti biofilm

(Laurence, 2015) Pada penelitian (Javed *et al.*, 2013) kadar MIC madu jujube secara efektif mencegah pembentukan biofilm *Candida albicans* dan menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*.. Ditemukan bahwa 20% b/v dan 40% b/v madu jujube secara signifikan mencegah pembentukan biofilm, dan 80% b/v sepenuhnya mencegah pembentukan biofilm. Sebaliknya, 5% b/v madu sedikit meningkatkan pembentukan biofilm. Hasil ini menunjukkan bahwa bahan antimikroba aktif dalam madu jujube diencerkan sampai tingkat yang membuatnya tidak efektif. Ketika mengevaluasi efek antibiofilmnya itu tergantung waktu dan konsentrasi madu pada konsentrasi yang berbeda pada waktu 24 jam. Pada konsentrasi madu sebesar 5% b/v madu tidak memiliki efek penghambatan, sedangkan pada biofilm dengan konsentrasi 10% b/v atau lebih tinggi berkurang secara signifikan terhadap biofilm yang terbentuk setelah 12 jam perawatan pada suhu ruang

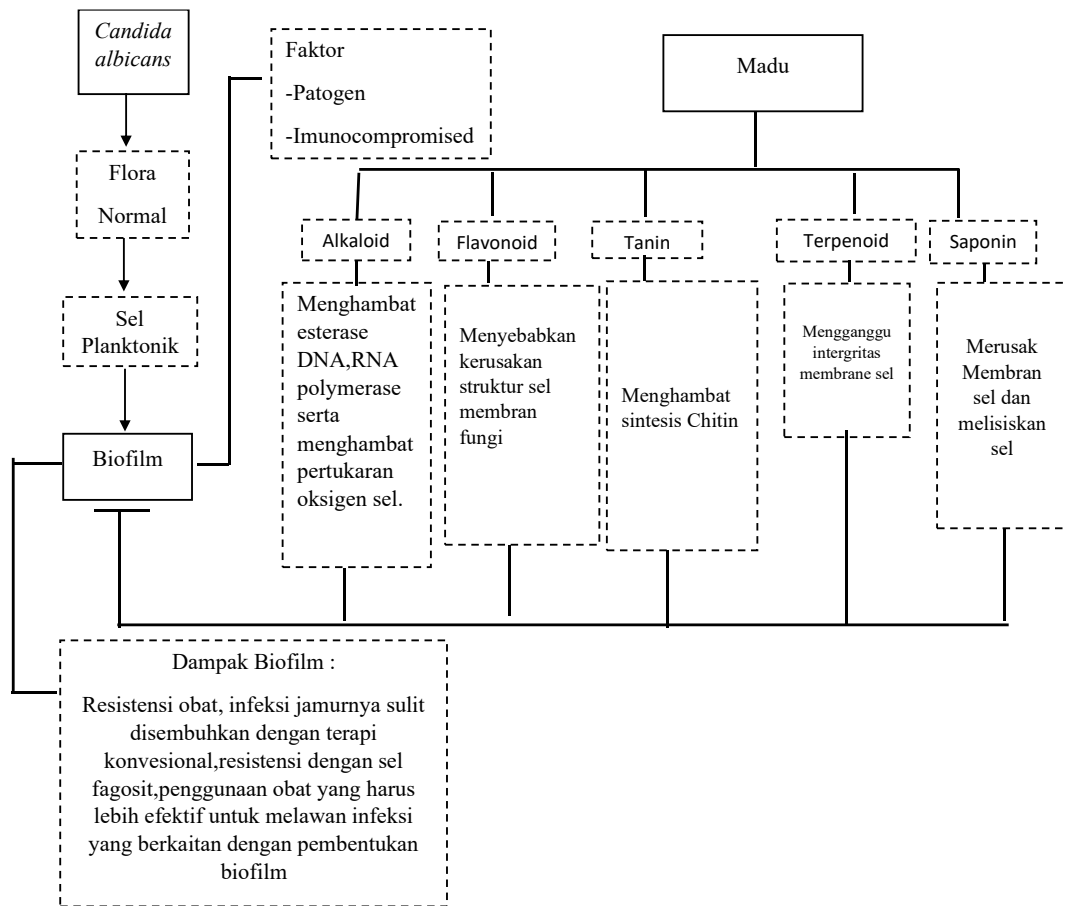
Dalam penelitian Rahma dkk 2018 Madu mengandung lebih dari 200 senyawa yang terdiri dari sekitar 38% fruktosa, 31% glukosa, 10% jenis gula lainnya, 18% air dan 3% senyawa lainnya. Namun, dalam 3% senyawa lainnya terdapat campuran senyawa penting yang merupakan kandungan khusus dari madu yaitu, fenolik dan karotenoid Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik yang berfungsi sebagai antibakteri dengan membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu keutuhan membran sel bakteri dengan cara

mendenaturasi sel bakteri dan merusak membran sel tanpa dapat diperbaiki. Dalam penelitiannya didapatkan hasil bahwa madu pohon kelapa sawit menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap MDR *S. typhi* dengan zona hambat 11.4 mm (konsentrasi 90%), 13.4 mm (konsentrasi 100%) dan terhadap MRSA dengan zona hambat 11.7 mm (konsentrasi 100%).

### BAB III

### KERANGKA KONSEP DAN HIPOTESIS

#### A. Kerangka Konsep



Keterangan :

- : Variabel tidak diteliti
- : Variabel diteliti
- | : Menghambat

Gambar III.1 Kerangka konsep

## B. Keterangan Kerangka Konsep

*Candida sp* merupakan bagian dari flora normal pada saluran pencernaan, urogenital, dan kulit manusia, dimana jika terdapat faktor resiko seperti, dan *immunocompromised* akan menyebabkan infeksi dari candida, yang disebut kandidiasis, dimana kandidiasis merupakan infeksi jamur yang sifatnya oportunistik disebabkan oleh *Candida sp*. Yang dimana *Candida albican* akan membentuk biofilm. Biofilm merupakan bentuk struktural dari sekelompok mikroorganisme yang dilindungi oleh matriks ekstraseluler yang disebut Extracellular Polymers (EPS). Biofilm saat ini dianggap sebagai mediator utama infeksi, dengan perkiraan 80% infeksi terkait dengan pembentukan biofilm. Karena biofilm bertindak sebagai penghalang, mikroorganisme yang membentuk biofilm biasanya resisten terhadap antibiotik umum atau menghindari sistem kekebalan sel inang. Perkembangan biofilm dengan meningkatnya infeksi klinis pada sel inang, sehingga biofilm ini dapat menjadi salah satu faktor toksik dan resisten. Pembentukan biofilm dapat dirangsang oleh adanya serum dan saliva di lingkungan. Madu memiliki potensi sebagai antibiofilm dikarenakan memiliki beberapa senyawa seperti alkaloid dapat menghambat esterase DNA, RNA polymerase, serta menghambat pertukaran oksigen sel, flavonoid dapat menyebabkan kerusakan struktur sel membrane fungi, tannin dapat menghambat sintesis chitin, terpenoid dapat dapat mengganggu integritas membrane sel, dan saponin berguna merusak membrane sel dan melisiskan

sel, dimana dari senyawa-senyawa tersebut bisa menjadi antibiofilm *Candida albican*.

### **C. Hipotesis Penelitian**

H0 : Tidak terdapat pengaruh madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel planktonik dan sel biofilm *Candida albicans*

H1 : Terdapat pengaruh madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel planktonik dan sel biofilm *Candida albicans*

## **BAB IV**

### **METODE PENELITIAN**

#### **A. Rancangan Penelitian**

Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan eksperimental murni (*True Experimental Design*) dengan metode difusi untuk melihat efek antibiofilm madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dengan pendekatan *Post-test Only Control Group Design*

#### **B. Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian uji aktivitas antibiofilm madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga pada bulan Februari 2022 - Maret 2022.

#### **C. Populasi dan Sampel Penelitian**

##### 1. Populasi dan Sampel

Populasi penelitian meliputi biakan jamur *Candida albican* yang tersedia di Laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.

##### 2. Besar Sampel

Jumlah ulangan dari tiap kelompok biakan jamur *Candida albican* perlakuan dihitung dengan menggunakan rumus Federer sebagai berikut: (Candrasari dkk, 2012)

## Rumus Federer

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

Keterangan :

n = Banyak pengulangan

t = Jumlah kelompok

t = 10

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

$$(10-1)(n-1) \geq 15$$

$$(9)(n-1) \geq 15$$

$$9n \geq 24$$

$$n \geq 3$$

Pada penelitian ini, sampel sesuai dengan kriteria inklusi yaitu penghambatan terhadap pertumbuhan sel planktonik *C.albicans* dan biofilm dari *C.albicans* setelah pemberian berbagai konsentrasi madu *Apis Mellifera*. Kriteria eksklusi meliputi kontaminasi dari zat lain yang dipakai dalam proses pembuatan madu *Apis Mellifera*.

#### D. Variabel Penelitian

1. Variabel Bebas: konsentrasi Madu *apis mellifera*
2. Variabel Terikat: viabilitas sel planktonik dan biofilm *Candida albicans*; serta matriks biofilm *Candida albicans*.

#### E. Definisi Operasional

Tabel IV.1 Definisi operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Kategori dan Kriteria	Alat Ukur	Skala
----	----------	----------------------	-----------------------	-----------	-------



---

1. Pertumbuhan biofilm <i>Candida albicans</i>	<p>Sel Biofilm <i>Candida albicans</i> merupakan bentuk struktural dari sekelompok mikroorganisme yang dilindungi oleh matriks ekstraseluler polimer. Pertumbuhan biofilm <i>Candida albicans</i> dapat diukur melalui absorbansi yang terbaca dari <i>ELISA-Reader</i> yang menunjukkan nilai matriks biofilm, lalu pertumbuhan biofilm <i>Candida albicans</i> diukur dengan <i>MTS Assay</i> dan <i>Crystal Violet</i>.</p> <p><i>MTS Assay</i> merupakan salah satu pengujian terhadap proliferasi melalui pengukuran viabilitas sel dengan melihat aktivitas metaboliknya. Prinsip <i>MTS Assay</i> yaitu dengan pengukuran secara tidak langsung terhadap produk senyawa berwarna yang dihasilkan oleh sel viabel.</p> <p>Kristal violet merupakan pewarna primer yang memberi warna mikroorganisme target. Kristal violet digunakan untuk mengetahui bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Kristal violet sifatnya basa sehingga mampu berikatan dengan sel mikroorganisme yang bersifat asam, sehingga sel mikroorganisme yang transparan akan terlihat berwarna ungu.</p>	Viabilitas sel dan <i>matrix reader</i>	<i>ELISA reader</i>	Rasio
--	---	---	---------------------	-------

---

2.	Pertumbuhan sel plantonik <i>Candida albicans</i>	Pertumbuhan sel plantonik <i>Candida albicans</i> diukur melalui nilai absorbansi yang terbaca dari <i>ELISA-Reader</i> , yang menunjukkan nilai viabilitas sel <i>Candida albicans</i> . Sel plantonik <i>Candida albicans</i> yang ada di media SBD, pertumbuhannya diukur melalui <i>MTS Assay</i> kemudian dilihat viabilitas dengan terjadinya perubahan warna, semakin kecil konsentrasi, semakin pekat hasilnya. Pengukuran <i>MTS Assay</i> terhadap produk senyawa berwarna dihasilkan oleh sel yang viabel.	Viabilitas sel	<i>ELISA reader</i>	Rasio
3.	Konsentrasi madu <i>apis mellifera</i>	Madu <i>apis mellifera</i> yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari peternak lebah. Madu yang didapatkan sudah melalui identifikasi taksonomi. Kelompok perlakuan pada penelitian ini adalah kelompok yang menggunakan perlakuan madu <i>apis mellifera</i> dengan konsentrasi terendah yaitu 100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,525%.	100%, 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,525%.	Persentase konsentrasi madu <i>apis mellifera</i>	Rasio

## F. Prosedur Penelitian

### 1. Persiapan alat dan bahan

#### a. Alat

- Mikrodilusi
- Ose kolong
- Autoklaf

- Inkubator
- Pipet ukur
- Pipet mikro
- Busen
- Tabung reaksi
- Penggaris
- Spread glass
- ELISA reader

b. Bahan

- *Sabouraud dextrose agar* (SDA)
- Biakan *Candida albicans*
- Madu *Apis Mellifera*
- Nystatin
- Aquabidestilata steril

c. Alat perlindungan diri

Untuk menjaga keamanan dan keselamatan diri, peneliti dan laboran menggunakan alat perlindungan diri seperti jas laboratorium, masker, dan *handscoon*.

d. Sterilisasi alat dan bahan penelitian

Alat dan bahan penelitian yang steril akan menghasilkan data yang akurat karena tidak terkontaminasi dengan jamur lain, maka sterilisasi di anggap sangat penting saat penelitian. Untuk sterilisasi alat, peneliti menggunakan autoklaf dengan suhu 121<sup>o</sup>C dengan tekanan 1 atm selama 1 jam, kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 60<sup>o</sup>C. untuk sterilisasi dilakukan dengan pembakaran diatas api pada busen sesaat sebelum mengambil jamur.

## **2. Standard Operating Procedure (SOP)**

a. Pemasokan fungi

Fungi didapatkan dari isolat *Candida albicans* yang berasal dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga. Kemudian, isolat yang tersedia disimpan dalam kulkas khusus penyimpanan mikroba. Mikroba yang berasal dari luar Laboratorium Mikrobiologi harus dibawa dengan menggunakan *ice box* sebelum dititipkan di Laboratorium Mikrobiologi. Lalu, disimpan di dalam kulkas khusus tempat penyimpanan mikroba.

b. Pembuangan Sampah Mikrobiologis

- 1) Sampah berupa *microplate* ataupun tabung reaksi yang berisi media (tanpa atau dengan bakteri) dimasukkan ke keranjang khusus untuk selanjutnya dilakukan sterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit.
- 2) Sampah pada butir I dikeluarkan dari autoklaf. Media dibuang dengan menggunakan air panas pada bak pencucian.
- 3) Sampah berupa gelas objek dan lidi kapas yang sudah terpakai diletakkan pada wadah berisi disinfektan kemudian dikeringkan dan diletakkan pada tempat sampah medis.
- 4) Sampah berupa tisu, sisa bungkus plastik, dan sisa kertas dibuang pada tempat sampah domestik.
- 5) Sampah berupa sarung tangan dan masker dibuang di tempat sampah medis.

- 6) Selanjutnya, sampah dari butir 3, 4, dan 5 dimusnahkan di insinerator.
- 7) Reagensia yang sudah terpakai dituangkan pada ember yang disediakan kemudian diletakkan di tempat sampah medis untuk dilakukan dekontaminasi sebelum dibuang.

(**Sumber:** Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya)

c. Penanganan Tumpahan Bahan Infeksius

- 1) Menggunakan sarung tangan dan alat pelindung diri.
- 2) Mengambil kertas tisu dan handuk untuk menyerap tumpahan.
- 3) Disinfektan (misalnya natrium hipoklorit 5%) dituangkan di atas kertas tisu atau handuk dimulai dari pinggir ke arah tengah. Biarkan selama 30 menit,
- 4) Semua material diambil dan dibuang ke wadah pembuangan antibocor.
- 5) Apabila dianggap perlu, langkah ke-2, ke-3, dan ke-4 bisa diulangi lagi.

### 3. Pembuatan Madu *Apis Mellifera*

Produk akhir yang dihasilkan dalam proses perlebahan adalah lebah madu alami yang dihasilkan (dikembangbiakkan) oleh lebah madu lokal dalam proses budidaya. Madu alami yang terbuat dari nektar yang dihisap lebah dari bunga tanaman. Saat mencari nektar, lebah justru membantu penyerbukan bunga tanaman. Ini adalah proses penting dalam reproduksi tanaman. Rasa manis madu diperoleh dengan proses biologis menghasilkan monosakarida, fruktosa dan glukosa dalam madu. Nektar yang diekstraksi oleh lebah pekerja dari bunga tanaman dibawa ke sarang

lebah. Setelah nektar terkumpul, lebah kembali ke sarangnya, kemudian lebah pekerja lain (biasanya yang masih muda) menggunakan tengu untuk menghisap nektar dari perut lebah pekerja yang baru kembali. Para pekerja muda di sarang lebah kemudian mengubah nektar menjadi madu dengan menambahkan berbagai enzim ke dalam madu dari mulut lebah pekerja, mengubahnya menjadi madu mentah. Proses ini memakan waktu sekitar 20 menit. Madu mentah yang diperoleh disimpan dalam sarang lebah. Pada titik ini, madu masih memiliki kadar air yang tinggi, dan madu mentah secara bertahap mengurangi kadar airnya. Mengepakkan lebah di sarang lebah adalah salah satu metode yang digunakan lebah untuk mengurangi kadar air madu mentah. Madu dianggap matang ketika kadar airnya turun ke tingkat tertentu. Madu matang dilindungi dan disimpan dengan madu dengan bantuan lilin yang dibuat oleh sejenis daun di bawah perut lebah. Setelah proses ini, madu siap untuk koloni lebah atau panen manusia. (Thomson Sebayang, Salmiah and Sri Fajar Ayu, 2017)

#### **4. Pembuatan Media**

##### **a. Pembuatan Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)**

Merupakan media yang digunakan untuk mengisolasi jamur. Tahap awal dari persiapan media ini adalah sterilisasi peralatan yang akan digunakan. Proses sterilisasi menggunakan autoklaf yang mencerminkan metode panas basah dimana uap air akan menembus alat dan media yang disterilkan. Sterilisasi merupakan suatu proses untuk mematikan atau menghilangkan semua jasad renik yang ada,

sehingga jika ditumbuhkan di dalam suatu medium tidak ada lagi jasad renik yang dapat berkembang biak. SDA dibuat dengan menimbang serbuk SDA sebanyak 19,5 g kemudian dilarutkan dalam 300 ml aquadest, lalu dipanaskan hingga mendidih (larut). Media SDA yang sudah jadi siap untuk di sterilkan dalam autoklaf pada suhu 121° C selama ±15 menit (Chen, 2015).

b. Pembuatan Larutan Kloramfenikol

Larutan kloramfenikol di tambahkan ke dalam Sabouraud Dekstrosa Agar cair untuk mencegah adanya pertumbuhan kuman, setiap 1000 ml Sabouraud Delstrasa Agar cair membutuhkan 400 mg kloramfenikol, sehingga kloramfenikol yang diperlukan untuk 300 ml SDA adalah: (Joenoos, 2013)

$$\frac{300 \text{ ml}}{1000 \text{ ml}} \times 400 \text{ mg} = 120 \text{ mg}$$

setiap 1000 ml Sabouraud Delstrasa Agar cair membutuhkan 400 mg kloramfenikol, sehingga kloramfenikol yang diperlukan untuk 300 ml SDA adalah: (Joenoos, 2013)

Setiap 250 mg kloramfenikol dilarutkan dalam 10 ml NaCl 0,9% yang di perlukan adalah

$$\frac{120 \text{ ml}}{250 \text{ ml}} \times 10 \text{ ml} = 4,8 \text{ ml}$$

c. Media *Sabaroud Dextrose Broth* (SDB)

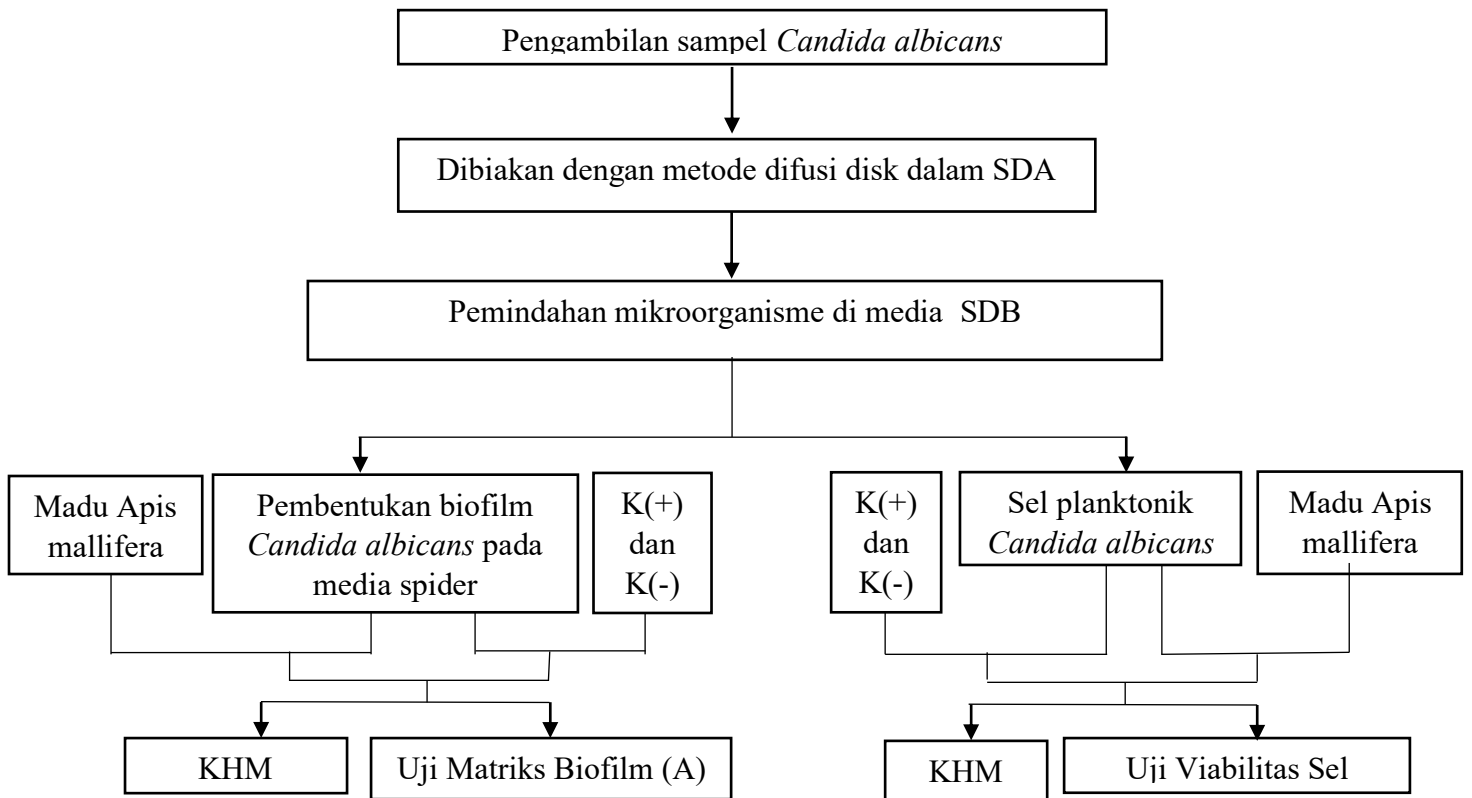
*Sabaroud Dextrose Broth* (SDB) adalah media cair yang bermanfaat untuk isolasi yeast dan kapang sebagai media kultur atau subkultur fungi. SDB mengandung intisari pankeras dari kasein 5 gram, intisari jaringan peptik hewan 5 gram, dekstrosa 20 gram, dengan pH  $5,6 \pm 0,2$  pada suhu  $25^{\circ}\text{C}$ . Pembuatan media SDB dengan melarutkan 30 gram bubuk agar ke dalam 1 liter aquadest sembari dipanaskan hingga mendidih dan diaduk hingga larut. Kemudian, memasukkan media ke dalam wadah, lalu disterilisasi dalam autoklaf pada suhu  $121^{\circ}\text{C}$  selama 15 menit (Chen, 2016).

d. Pembuatan Media Spider

Media spider merupakan media yang dipakai untuk isolasi dan pertumbuhan biofilm dari fungi atau yeast. Media spider mengandung 10 gram manitol, 2 gram  $\text{K}_2\text{HP0}_4$ , agar 20 gram, difco nutrient broth 10 gram, dengan kadar pH 7,2 di suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Prosedurnya yaitu dengan menambahkan bubuk agar ke dalam 1 L aquadest yang disterilisasi dengan autoklaf suhu  $121^{\circ}\text{C}$  (Weerasekera *et.al.*, 2016).



### 5. Diagram Penelitian



Gambar IV.1 Skema Alur Kerja Tahap Penelitian

		S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>3</sub>	S <sub>4</sub>	S <sub>5</sub>	S <sub>6</sub>	S <sub>7</sub>	S <sub>8</sub>	K (+)	K (-)	BL	S <sub>12</sub>
<b>6. T</b>	1:2	A	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>a</b> 1:4	B	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>h</b> 1:8	C	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>a</b> 1:16	D	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>p</b> 1:32	E	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	1:64	F	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>R</b> :128	G	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
	<b>e</b> 1:256	H	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
<b>n</b>													

elitarian (Mozer, 2015)

#### Gambar IV.2. Representasi Mikroplate

a. Proses Regenerasi *Candida albicans*

Dilakukan proses Regenerasi *Candida albicans* di media Sabourand Dextrose Agar (SDA) dan diinkubasi pada suhu 37°celcius selama empat puluh delapan jam. Susunan *Candida albicans* telah dipindahkan dari persediaan gliserol ke media *Sabourand Dextrose Agar* (SDA). Susunan dapat disimpan pada suhu 37°celcius selama berbulan-bulan dan setiap 2 bulan diganti dengan media agar baru.

b. Inokulum *Candida albicans*

Dilakukan inokulum *Candida albicans* di sediaan *Sabourand Dextrose Broth* (SDB), diperoleh melalui pengambilan isolat *Candida albicans* pada media *Sabourand Dextrose Agar* dengan api yang dihidupkan pada Bunsen. Kemudian ganti isolat untuk inokulasi. Isolat dilakukan selama 1 hari suhu 35°celcius.

c. Pemiakan suspensi *Candida albicans*

Proses pemiakan suspensi *Candida albicans* dengan cara menggunakan alat micropipet pada sediaan media *broth* dengan jumlah 100 µl lalu di masukan ke 3 baris pertama pada microplate. Lalu dibaca dengan ELISA angka standarnya 0,5. Apabila hasil yang di dapatkan lebih dari standar maka dilakukan proses pengenceran.

d. Proses Pembuatan Larutan madu

Proses Pembuatan Larutan madu dengan macam-macam konsentrasi, dilakukan menggunakan metode mikrodilusi sebanyak 10gram madu

dilarutkan dalam media sampai 10 $\mu$ l. (OD=0,5). Campuran di homogenisasi menggunakan vortex. Selanjutnya angkat larutan madu dengan cara diambil dengan micropipet 10 $\mu$ m dan dimasukkan ke *well*. Microplate yang dipakai adalah 96 well-plate, suspensi pada baris A diambil 100  $\mu$ l, kemudian ditambahkan pada baris B dengan micropipette. Hingga diperoleh konsentrasi enceran sebesar 50%. Selanjutnya dilakukan langkah-langkah tersebut sampai konsentrasi paling rendah 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625%.

e. Pengujian Viabilitas Sel

Pengujian dilakukan dengan menggunakan mikrotiter plate 96 well-plate (8x12), masing-masing sumuran diisi dengan 100  $\mu$ l media SDB. Pada sumuran baris pertama kolom S ditambahkan 100  $\mu$ l Madu 100%. Kemudian, dilakukan homogenisasi, dan selanjutnya dilakukan pengenceran. Campuran dihomogenisasi dengan menggunakan *vortex*. Setelah homogen, lalu suspensi pada baris A diambil 100  $\mu$ l, kemudian ditambahkan pada baris B. Uji Viabilitas Sel Planktonik dengan tetrazolium kombinasi PES (*Phenazin Ethyl Sulfate*) serta MTS assay dapat menusuk sel. Lalu berikan 2mg/ml serbuk MTS ke DPBS hingga larutan warna jernih kuning. Selanjutnya beri serbuk PES ke MTS sebanyak 0,21 mg/ml. Lalu disterilkan dan saring suspensi dengan filter 0,2  $\mu$ m pada wadah yang steril serta terhindar dari cahaya. MTS disarankan disimpan -20 $^{\circ}$ celcius untuk jangka waktu apabila digunakan segera maka di suhu 4 $^{\circ}$ celcius. Cara mengukur uji viabilitas

sel dengan masukan MTS ke konsentrasi 0,33 mg/ml ke *microplate* 96 well sudah berisikan suspensi *broth* serta *candida albicans* dilakukan inkubasi dengan suhu 37°celcius selama 240 menit. Setelah itu dilakukan dengan multiplate reader dengan putaran 490 nm.

f. Proses Resuspensi *Candida albicans*

Resuspensi dengan cara inokulan media SDB lalu pisahkan menjadi lapisan pellet dan supernatant dengan cara sentrifugasi 3 kali. Pindahkan inokulan ke erlenmeyer 10 ml; tabung khusus serta sentrifugasi 1000rpm selama 300 detik. Pada akhirnya nanti akan didapatkan 2 lapisan yaitu *supernatant* dan *pellet* lalu ditambahkan *Phosphate Buffer Saline* (PBS) 10ml serta dilakukan vortex hingga 300 detik untuk terbentuk suspensi. Ulangi sebanyak 2 kali. Selanjutnya suspensi yang terbentuk diukur dengan OD 0,5.

g. Proses Pembuatan Biofilm *Candida albicans* dengan Media Spider

Digunakan metode microdilusi dengan jumlah 7x8 well *microplate* untuk pembuatan biofilm *Candida albicans* dengan media spider. Blanko plate isi 100µl tidak diberi madu dan *candida albicans* pada media spider, untuk kontrol negatifnya yaitu 100 µl madu + 100 µl media spider dan 10 µl inokulan *candida albicans*, untuk kontrol positifnya 100 µl media spider + 10 µl inokulan *candida albicans* dan flukonazole. Selanjutnya beri 100 µl media spider serta 100 µm madu ke baris pertama dengan micropipette, untuk kontrol positif dan blanko plate Cuma diberikan media spider. Sehingga pada baris pertama

konsentrasinya 100 % dan baris kedua beri 100µl media spider dan gunakan suspensi baris pertama 100 µl lalu beri ke baris kedua. Akhirnya diperoleh konsentrasi 50 % pengenceran. Teruskan sampai konsentrasi rendah yaitu 25%, 12,5%, 6,25%. Hingga akhirnya diperoleh volume masing masing 200 µl. Agar dapat mengetahui pembentukan biofilm maka dilakukan inkubasi microplate selama dua hari dengan suhu ruang 37°celcius.

h. Proses Pengukuran Matriks Biofilm *Candida albicans*

Langkah selanjutnya mengukur Matriks Biofilm *candida albicans* sesudah inkubasi 2 hari dengan suhu 37°celcius, maka di bersihkan microplate dengan cairan aquadest dan beri madu lalu inkubasi hingga 1 hari. Setelah selesai bersihkan kembali microplatena dan beri kristal violet sebesar 0,1% hingga 900 detik. Selanjutnya microplate dibersihkan dengan air steril lalu beri asam asetat tunggu hingga 900 detik. Matriks biofilm *candida albicans* diukur dengan ELISA *microplate reader*. Nilainya dapat dibaca pada panjang gelombangnya.

### **7. Penentuan Kontrol Positif dan Kontrol Negatif**

Kontrol positif menggunakan fluconazole yang disuspensi dengan aquadest sebanyak 1000 mL. Kontrol negatif tidak diberikan pemberian apapun.

### **8. Perlakuan Setelah Penelitian**

Jamur *Candida albicans* yang telah digunakan untuk penelitian kemudian dimusnahkan dengan cara: (Kementerian Lingkungan hidup, 2014).

- a. Alat yang telah terpakai yang berisi media maupun tanpa media atau mikroba dimasukkan dalam autoklaf, dimana setelah itu diletakkan di rak khusus suhu 121°C selama 15-20 menit.
- b. Sampah medis masker dan sarung tangan di buang di tempat sampah medis
- c. Bekas objek glass dimasukkan dalam bak isi disinfektan lalu ditunggu kering dan dibuang dalam sampah medis
- d. Alkohol swab, tisu, atau sampah kering yang tidak ada kontaminasi dengan mikroba maka di buang di sampah non-medis
- e. Sampah kimiawi, seperti reagen dihancurkan dengan inserasi pirolitik, atau ditimbun.
- f. Sampah medis dan non-medis dimasukkan di incinerator, dimana dibakar suhu 1500-1800° F.

### **G. Analisis Data**

Bila syarat penelitian ini terpenuhi diuji menggunakan uji One Way ANOVA, dan apabila syarat tidak terpenuhi dilanjutkan dengan uji non parametrik Kruskal Wallis. Data diolah dengan SPSS 28.0.0.0 for Window.

## BAB V

### HASIL PENELITIAN

#### A. Karakteristik Madu Apis Mellifera

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas antifungi dan antibiofilm madu *Apis Mellifera* terhadap pertumbuhan *candida albicans* yang didapatkan Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga.



**Gambar V.1 Madu Apis Mellifera**

Madu Apis Mellifera ini di dapatkan dari peternak lebah di Mojokerto. Madu ini cairan nya pekat dan sangat kental serta warna madu ini kuning gelap . Madu ini memiliki cita rasa yang manis dan aroma dari madu ini wangi

#### B. Pembuatan Larutan Induk Madu 100%

Pembuatan larutan madu dilakukan menggunakan metode mikrodilusi sebanyak 10gram madu dilarutkan dalam media sampai 10 $\mu$ l dan di homogenisasi menggunakan vortex. Setelah itu diambil dengan micropipet



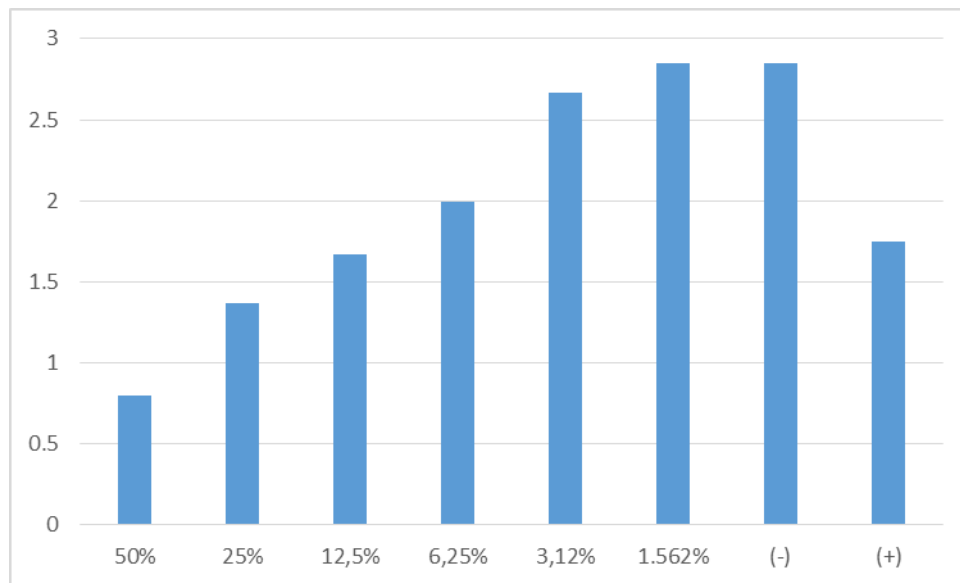
10 $\mu$ m dan dimasukkan ke *well*. Microplate yang dipakai adalah 96 well-plate, suspensi pada baris A diambil 100  $\mu$ l, kemudian ditambahkan pada baris B dengan micropipette dan diperoleh beberapa konsentrasi, yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,5625%.

### C. Potensi Madu Apis Malliferal Sebagai Antifungi

Jamur *Candida albicans* terlebih dahulu dibiakan dengan metode difusi disk dalam *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) kemudian dilakukan pemindahan mikroorganisme di media *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB). Setelah itu dilakukan uji viabilitas sel untuk melihat potensi madu *Apis Malliferal* sebagai antifungi terhadap media yang ditumbuhi jamur *Candida albicans*. Pengujian ini menggunakan mikrotiter plate 96 well-plate dengan memasukan MTS ke konsentrasi 0,33 mg/ml yang sudah berisikan suspensi *broth* serta *Candida albicans* dan diinkubasi dengan suhu 37° celcius selama 240 menit, lalu dilakukan dengan multiplate reader putaran 490 nm. Hasil dari pengujian dapat dilihat dari tabel dibawah ini:

**Tabel V.1 Hasil Pengujian Viabilitas Sel**

Replikasi	Konsentrasi Madu							(+)	(-)
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1.562%			
1	0.809	1.358	1.697	2.548	2.757	2.954	1.604	3.064	
2	0.725	1.354	1.727	1.798	2.731	2.783	1.612	2.962	
3	0.852	1.393	1.524	1.943	2.886	2.852	1.934	2.647	
4	0.871	1.309	1.944	1.718	2.146	3.16	1.932	2.673	
5	0.748	1.412	1.458	1.955	2.806	2.504	1.664	2.907	
<b>Rata-rata</b>	0.801	1.3652	1.67	1.9924	2.6652	2.8506	1.7492	2.8506	



**Gambar V.1 Grafik Pertumbuhan Candida albicans**

Berdasarkan gambar 5.1 menunjukkan rata-rata pertumbuhan *Candida albicans* yang paling tinggi di konsentrasi yang paling rendah (1,562%) sebesar 2,8506. Sedangkan kontrol positif yang berisi fluconazole.

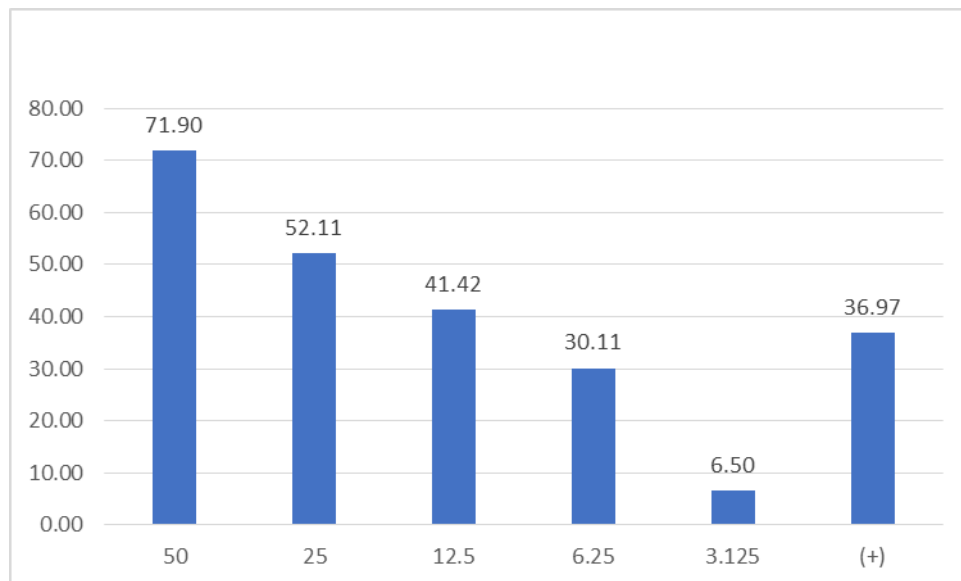
Berdasarkan tabel diatas menunjukkan penurunan rata-rata hambatan terhadap *Candida albicans* seiring dengan meningkatnya konsentrasi madu, sebaliknya apabila konsentrasi yang diberikan semakin rendah daya hambat juga semakin rendah. Hal ini dikarenakan madu memberikan efek terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

### Hasil penentuan Nilai KHM

Nilai Absorbansi/ OD dipakai untuk menentukan persen penghambatan

**Tabel 5.2 Hasil Hambatan Pertumbuhan Candida albicans**

% Hambatan	Konsentrasi Madu						
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,562%	(+)
	71.90	52.11	41.42	30.11	6.50	0.00	36.97



**Gambar V.2 Grafik Penghambatan Pertumbuhan candida albicans oleh madu**

Pada Tabel Tersebut konsentrasi madu 50% memiliki penghambatan besar sementara konsentrasi 50% memiliki penghambatan terbesar. Semakin kecil konsentrasi madu semakin kecil daya hambat nya. Data ini menjadi patokan nilai KHM 50 (konsentrasi hambat minimum ) yang di definisikan sebagai konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik candida albicans sebesar 50% pada penelitian ini, Berdasarkan penentuan nilai KHM 50 menggunakan analisis probit dapat diperoleh bahwa konsentrasi madu yang dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik candida albicans sebanyak 50% (KHM 50) terletak pada konsentrasi 28%

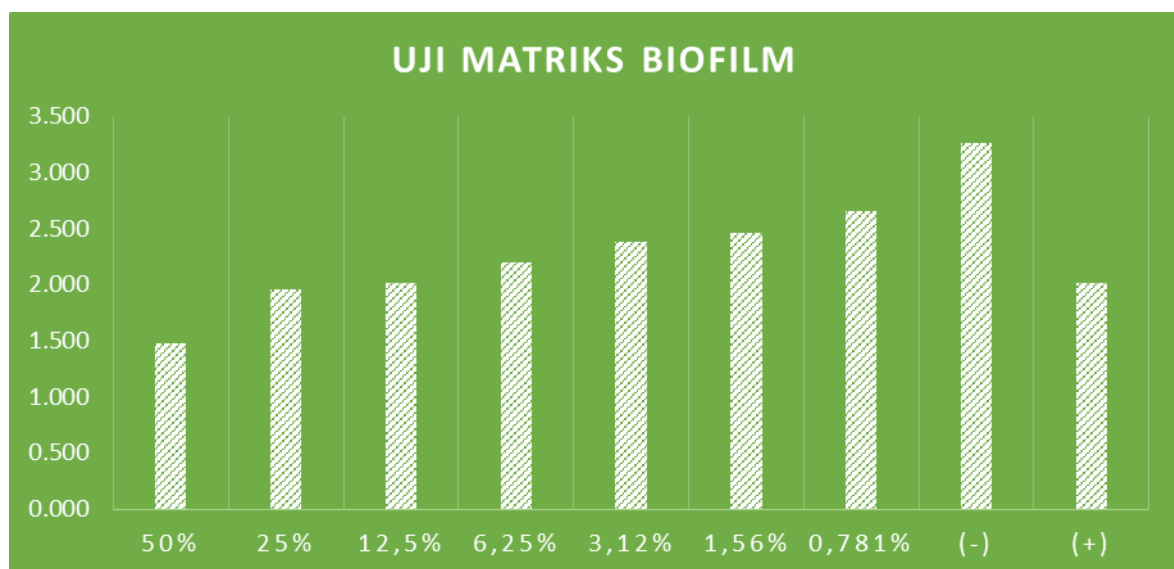
#### **D. Potensi Madu Apis Malliferal Sebagai Antibiofilm**

Pada proses ini sedikit berbeda, jamur candida albicans dibiakan dengan metode difusi disk dalam *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dilakukan pemindahan mikroorganisme di media *Sabaroud Dextrose Broth* (SDB) dan dilakukan pembentukan biofilm *Candida albicans* dengan media spider yang

kemudian diukur matriks biofilm *Candida albicans* menggunakan ELISA *microplate reader* yang nilainya dapat dibaca pada panjang gelombang 490nm

**Tabel V.3 Hasil Matriks Biofilm**

Replikasi	Konsentrasi Madu								
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,56%	0,781%	(-)	(+)
1	0.969	1.876	2.074	2.158	2.339	2.787	2.718	3.321	2.297
2	1.365	2.009	1.998	2.155	2.258	2.378	2.778	3.103	2.157
3	1.709	1.956	2.117	2.129	2.599	2.507	2.536	3.474	2.225
4	1.677	1.948	2.074	2.184	2.334	2.015	2.710	3.076	1.689
5	1.649	1.981	1.821	2.351	2.339	2.626	2.524	3.347	1.705
<b>Rata-rata</b>	1.474	1.954	2.017	2.195	2.374	2.463	2.653	3.264	2.015



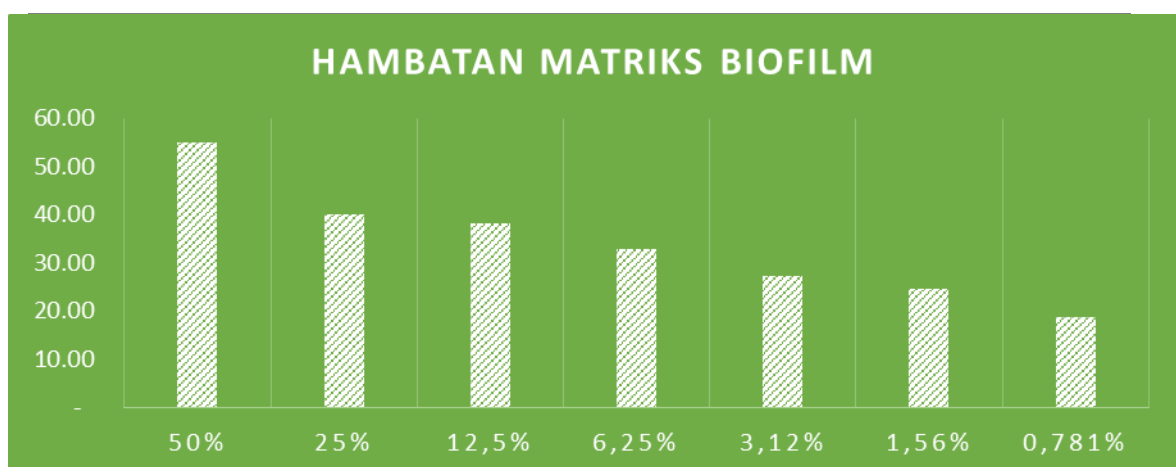
**Gambar V.3 Grafik Matriks Biofilm**

Berdasarkan gambar V.3 menunjukkan rata-rata pertumbuhan biofilm *Candida albicans* yang paling tinggi di kontrol negatif (3,264) dan konsentrasi yang paling rendah (0,781%) sebesar 2,653. Sedangkan untuk kontrol positif yang berisi fluconazole rata-rata pertumbuhan *Candida albicans* sebesar 2,015.

## E. Penentuan Nilai KHBM

Tabel V.4 Hasil Hambatan Matriks Biofilm

% Hambatan	Konsentrasi Madu						
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,56%	0,781%
	54.85	40.14	38.21	32.74	27.28	24.56	18.72



Gambar V.4 Grafik Hambatan Matriks Biofilm

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka daya hambat pertumbuhan biofilm pada *candida albicans* akan semakin tinggi dan sebaliknya apabila konsentrasi yang diberikan semakin rendah daya hambat juga semakin rendah. Berdasarkan analisis probit spss dapat diperoleh bahwa konsentrasi minimal madu yang dapat menghambat biofilm *candida albicans* sebanyak 50% (KHbM 50) terletak pada konsentrasi 40%

## F. Analisis Data

### 1. Antifungi

#### a. Uji Normalitas

Pada penelitian ini menggunakan uji normalitas *kolmogor-smirnov*, karena data lebih dari 50. Uji dilakukan untuk menganalisis distribusi data yang diperoleh dari hasil penelitian dengan hasil sebagai berikut:

**Tabel V.5 Uji Normalitas**

<b>Data</b>	<b>Bermakna</b>	<b>Keterangan</b>
Antifungi	0.200>0.05	Berdistribusi normal

Data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih besar dari 0.05. pada penelitian ini untuk uji normalitas data antifungi nilai signifikansi (0.200) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data berdistribusi normal.

#### **b. Uji Homogenitas**

Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk menganalisa data antar kelompok memiliki varian data yang sama atau tidak. Pengujian ini menggunakan Levene Test, dengan kriteria nilai probabilitas > level of significance (alpha = 5%). Hasil spss dapat dilihat melalui tabel berikut:

**Tabel V.6 Uji Homogenitas**

<b>Data</b>	<b>Bermakna</b>	<b>Keterangan</b>
Antifungi	0.878>0.05	Homogen

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa uji homogenitas data antifungi nilai signifikansi (0.878) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data homogen.

### c. Uji One Way Anova

Pada penelitian ini dilakukan menggunakan uji statistik one way anova untuk mengetahui pengaruh madu apis mallifera terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans*. Data dikatakan signifikan apabila nilai signifikansi  $p < 0.05$ , sehingga diketahui hasilnya pada tabel sebagai berikut:

Tabel V.7 Uji One Way Anova

Data	Bermakna	Keterangan
Antifungi	0.000 < 0.05	Signifikan

Berdasarkan tabel di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti terdapat pengaruh antifungi madu apis mallifera terhadap *Candida albicans* karena data menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0.05, sehingga dilakukan uji lanjutan post hoc metode Tukey.

### d. Uji Post-Hoc

Post-Hoc merupakan uji lanjutan dari one way anova untuk melihat kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan.

Tabel V.8 Uji Post-Hoc Antifungi

KELOMPOK	K-	K+	50%	25%	12.5%	6.25%	3.12%	1.562%	0.781%
K-		0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.001*
K+	0.000*		0.003*	1.000	1.000	0.874	0.132	0.025*	0.000*
50%	0.000*	0.003*		0.013*	0.003*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
25%	0.000*	1.000	0.013*		1.000	0.602	0.440	0.007*	0.000*

<b>12.5%</b>	0.000*	1.000	0.003*	1.000		0.881	0.137	0.260	0.000*
<b>6.25%</b>	0.000*	0.874	0.000*	0.602	0.881		0.882	0.470	0.021*
<b>3.12%</b>	0.000*	0.132	0.000*	0.044*	0.137	0.882		0.998	0.410
<b>1.56%</b>	0.000*	0.025*	0.000*	0.007*	0.026*	0.470	0.998		0.839
<b>0.78%</b>	0.001*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.021*	0.410	0.839	

Keterangan Tabel:

\*= Terdapat perbedaan signifikan

Tabel V.8 menjelaskan terkaitan perlakuan antifungi madu apis *mallifera* berdasarkan konsentrasi. Apabila hasil nilai signifikansi kurang dari 0.05 maka terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil penelitian untuk kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan seluruh perlakuan konsentrasi (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625% dan 0,781%) menunjukkan nilai signifikansi kurang dari (0.05). berdasarkan hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan. Perlakuan kontrol positif (K+) hanya konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,12% yang menunjukkan nilai signifikansi  $P > 0.05$ . Perlakuan konsentrasi yang paling tinggi 50% dibandingkan dengan konsentrasi keseluruhan juga menunjukkan nilai signifikansi ( $P < 0.05$ ). Perlakuan konsentrasi 25% yang dibandingkan dengan konsentrasi 12,5% dan 6,25% menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan karena ( $P > 0.05$ ). Semakin rendah konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan, yang dapat dilihat mulai dari perlakuan konsentrasi 3,12%.



## 2. Antibiofilm

### a. Uji Normalitas

Pada penelitian ini menggunakan uji normalitas kolmogor-smirnov, karena data lebih dari 50. Uji dilakukan untuk menganalisis distribusi data yang diperoleh dari hasil penelitian dengan hasil sebagai berikut:

Tabel V.9 Uji Normalitas

Data	Bermakna	Keterangan
Antibiofilm	0.054>0.05	Berdistribusi normal

Data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih besar dari 0.05. pada penelitian ini untuk uji normalitas data antibiofilm nilai signifikansi (0.054) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data berdistribusi normal.

### b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk menganalisa data antar kelompok memiliki varian data yang sama atau tidak. Pengujian ini menggunakan Levene Test, dengan kriteria nilai probabilitas > level of significance (alpha = 5%). Hasil spss dapat dilihat melalui tabel berikut:

Tabel V.10 Uji Homogenitas

Data	Bermakna	Keterangan
Antibiofilm	0.600>0.05	Homogen

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa uji homogenitas data antifungi nilai signifikansi (0.600) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data homogen.

### c. Uji One Way Anova

Pada penelitian ini dilakukan menggunakan uji statistik one way anova untuk mengetahui pengaruh madu apis mellifera terhadap pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans*. Data dikatakan signifikan apabila nilai signifikansi  $p < 0.05$ , sehingga diketahui hasilnya pada tabel sebagai berikut:

Tabel V.11 Uji One Way Anova

Data	Bermakna	Keterangan
Biofilm	0.000 < 0.05	Signifikan

Berdasarkan tabel di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti terdapat pengaruh antifungi dan biofilm madu apis mellifera terhadap *Candida albicans* karena data menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0.05, sehingga dilakukan uji lanjutan post hoc metode Tukey.

### d. Uji Post-Hoc

Post-Hoc merupakan uji lanjutan dari one way anova untuk melihat kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan.

Tabel V.12 Uji Post-Hoc Biofilm

KELOMPOK	K-	K+	50%	25%	12.5%	6.25%	3.12%	1.562%
K-		0.000*	0.000*	0.000*	0.748	0.000*	0.031*	1.000
K+	0.000*		0.000*	0.782	0.000*	0.997	0.383	0.000*
50%	0.000*	0.000*		0.053*	0.000*	0.004*	0.000*	0.000*

<b>25%</b>	0.000*	0.782	0.053*		0.000*	0.999	0.003*	0.000*
<b>12.5%</b>	0.748	0.000*	0.000*	0.000*		0.000*	0.000*	0.814
<b>6.25%</b>	0.000*	0.997	0.004*	0.999	0.000*		0.049*	0.000*
<b>3.12%</b>	0.031*	0.383	0.000*	0.003*	0.000*	0.049*		0.012*
<b>1.562%</b>	1.000	0.000*	0.000*	0.000*	0.814	0.000*	0.012*	

Keterangan Tabel:

\*= Terdapat perbedaan signifikan

Tabel V.12 menjelaskan terkaitan perlakuan antibiofilm madu apis mallifera berdasarkan konsentrasi. Apabila hasil nilai signifikansi kurang dari 0.05 maka terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil uji post-hoc biofilm menunjukkan kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi (50%, 25%, 6,25%, dan 3,125%) menunjukkan nilai signifikansi kurang dari (0.05) berdasarkan hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan. Sedangkan perlakuan kontrol positif (K+) dibandingkan dengan konsentrasi 25%, 6,25%, dan 3,12% yang menunjukkan nilai signifikansi  $P > 0.05$ .

## BAB VI

### PEMBAHASAN

#### **A. Pengaruh madu *Apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans***

Pada penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi, yaitu salah satu metode untuk menguji aktivitas antifungi dan antibakteri karena lebih sensitif. Dengan metode mikrodilusi, hambatan pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi terkecil masih dapat terukur. Keuntungan metode mikrodilusi adalah mudah dilakukan, serta memberikan efektivitas dalam segi bahan dan tempat (Jorgensen dkk., 2009). Sedangkan untuk kekurangan dari metode ini adalah waktu pengerjaan yang lama, risiko kesalahan dalam penyiapan larutan antimikroba untuk setiap pengujian, dan sejumlah besar medium, reagen dan ruang pengujian (Balouiri. 2015; Jorgensen & Turnidge., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh madu terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* dengan beberapa konsentrasi yang digunakan, yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625%. Hasil penelitian pada tabel dan gambar V.1 menunjukkan madu memiliki potensi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada semua konsentrasi. Hasil dari pengujian viabilitas sel planktonik yang direplikasi sebanyak lima kali didapatkan rata-rata konsentrasi 50% sebesar 0,801; konsentrasi 25% sebesar 1,3652; konsentrasi 12,5% sebesar 1,67; konsentrasi 6,25% sebesar 1,9924; konsentrasi 3,12% sebesar 2,6652; konsentrasi 1,56% sebesar 2,8506; dan kontrol positif yang menggunakan fluconazole sebesar 1,7492.

Pertumbuhan sel planktonik akan semakin rendah apabila konsentrasi yang digunakan semakin tinggi, hal ini juga dapat dilihat pada tabel dan grafik V.2 daya hambatan pertumbuhan *Candida albicans* tertinggi terjadi pada kelompok madu dengan konsentrasi 50% sedangkan daya hambatan yang rendah dikelompok konsentrasi 3,125%.

Hasil uji statistik menggunakan *one way anova* menunjukkan terdapat pengaruh madu apis mellifera terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* terbukti dari nilai signifikansi  $p < 0.05$ . Hasil penelitian ini sama seperti yang dilakukan Winarsih (2013) yang menunjukkan madu memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara *in vitro* dan terdapat korelasi antara madu dengan derajat antifungi pada *Candida albicans*.

Madu Apis mellifera dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena ada beberapa faktor, diantaranya kandungan utama madu berupa glukosa dan fruktosa yang tinggi sehingga menyebabkan madu memiliki sifat hipertonis bila dibandingkan dengan *Candida albicans*. Selain itu ikatan yang kuat antar molekul gula dengan molekul air hanya menyisahkan molekul air sedikit agar mikroorganisme dapat tumbuh (Winarsih, dkk, 2013). Sejalan juga dengan penelitian Maleki, et al (2008) pada konsentrasi tinggi, ikatan antar molekul semakin kuat sehingga menyebabkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak berukuran lebih besar akibatnya, molekul-molekul tersebut tidak mampu menembus pori-pori medium agar yang pada akhirnya terjadi pengerusakan membran sel jamur oleh senyawa aktif yang dikandung propolis tidak maksimal.

Menurut Suriawiria (2010), pH madu tergolong bersifat asam (3,2-4,5) sehingga peningkatan *Candida albicans* akan terhambat. Madu *Apis mellifera* memiliki beberapa komponen primer secara biologis seperti flavonoid, terpenoid, derivat asam cinnamic, alkohol, aldehid, asam fenol, asam amino, ligans, triterpenes, steroid dan gula. Komponen terbesarnya adalah flavonoid yang memiliki sifat biologis berspektrum luas, seperti efek antibacterial, antiviral, anti inflamasi dan antibiofilm (Bueno-Silva et al.,2013; Nijeveldt et al.,2001).

Flavonoid dikenal memiliki sifat antioksidan, anti-inflamasi, antimutagenik, dan antikarsinogenik ditambah dengan kapasitasnya untuk memodulasi fungsi enzim seluler utama. Mereka juga dikenal sebagai inhibitor kuat untuk beberapa enzim, seperti xanthine oxidase (XO), cyclo-oxygenase (COX), lipoxygenase dan phosphoinositide 3-kinase (Panche, Diwan and Chandra, 2016) Senyawa flavonoid sebagai antifungi dapat berperan langsung dalam menghambat pertumbuhan jamur dengan cara membentuk kompleks dengan membrane berbahaya dan protein seluler. Membran mendenaturasi ikatan protein yang ada didalam membrane sel, sehingga sel lisis dan senyawa tersebut menembus kedalam inti sel yang menyebabkan jamur tidak berdilatasi lagi (Rintiswati, 2014). Potensi antioksidan dari flavonoid menghambat pembentukan biofilm dan menstimulasi gangguan membran sehingga terjadi pengurangan ukuran sel dan kebocoran komponen intraseluler (Lee, Woo and Lee, 2018).

**B. Nilai KHM madu *Apis mellifera* dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans***

Nilai konsentrasi hambatan minimum (KHM) atau Minimal Inhibitory Concentration (MIC) adalah nilai konsentrasi terkecil yang masih memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Berdasarkan hasil uji statistik analisis probit spss konsentrasi yang menghambat pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* sebesar 50% (KHM 50) terletak 28%. Penelitian Hartini (2017) menyatakan anti jamur ekstrak methanol sarang lebah terhadap *Candida albicans* memiliki efek penghambatan terbaik pada 80%.

**C. Pengaruh madu *Apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans***

Pada proses ini menggunakan metode mikrodilusi dengan media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dan *Sabaroud Dextrose Broth* (SDB) dalam tahapan adherent cell selama 90 menit kemudian dilakukan perlakuan dan di inkubasi selama 24 jam. Selanjutnya dilakukan pembentukan biofilm *Candida albicans* dengan media spider yang diberi *crystal violet*, yaitu pewarna primer yang memberi warna mikroorganisme target kemudian diukur matriks biofilm *Candida albicans* menggunakan ELISA *microplate reader* yang nilainya dapat dibaca pada panjang gelombang.

Berdasarkan data hasil penelitian tabel dan grafik V.4 menunjukkan bahwa madu memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan biofilm

*Candida albicans* pada semua konsentrasi. Pada proses uji biofilm konsentrasi yang digunakan 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12%, 1,562% dan 0,781%. Daya hambatan tertinggi pertumbuhan biofilm terjadi pada konsentrasi 50% dengan daya hambatan sebesar 54,85%. Semakin tinggi konsentrasi akan semakin tinggi daya hambatannya. Hasil uji statistik menggunakan *one way anova* menunjukkan terdapat pengaruh madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans* terbukti dari nilai signifikansi  $p < 0.05$ . Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Ansori et al (2013), menunjukkan bahwa madu jujube dapat menghambat fase awal pembentukan biofilm dan memiliki potensi fungistatik, fungisida dan antibiofilm. Potensi ini adalah lebih unggul dari kebanyakan antijamur yang umum digunakan. Kandungan madu yang mempunyai efek antibiofilm yaitu kandungan pinostrobin yang disebut flavonoid dalam madu dapat mencegah resistensi biofilm yang bertindak sebagai agen anti biofilm (Laurence, 2015) Pada penelitian (Javed et al., 2013).

#### **D. Nilai KHBM**

Konsentrasi terkecil yang masih memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sebagai antibiofilm adalah 40%. Hasil pengujian post hoc Duncan menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan pertumbuhan biofilm *Candida albicans* dimulai pada konsentrasi 0.25% dan aktivitas degradasi biofilm *Candida albicans* terjadi



optimal pada konsentrasi 1% (Rizkiyah, 2019). kadar MIC madu jujube secara efektif mencegah pembentukan biofilm *Candida albicans* dan menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*. Ditemukan bahwa 20% b/v dan 40% b/v madu jujube secara signifikan mencegah pembentukan biofilm, dan 80% b/v sepenuhnya mencegah pembentukan biofilm. Sebaliknya, 5% b/v madu sedikit meningkatkan pembentukan biofilm.

Konsentrasi hambat biofilm minimum (KHBM) hasilnya lebih besar dari KHM karena membutuhkan konsentrasi lebih besar untuk membunuh biofilm.

## BAB VII

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Madu *Apis Mellifera* memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan sel planktonik dan sel biofilm *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi daya hambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
2. Konsentrasi hambatan minimum (KHM) terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* adalah 28%
3. Madu *Apis Mellifera* memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans* yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi ( $P=0.000$ ).
4. Konsentrasi hambatan Biofilm minimum (KHBM) terhadap pertumbuhan hambatan biofilm minimum *Candida albicans* adalah 40%

#### B. SARAN

Bagi peneliti, dapat dilakukan penelitian dengan jenis madu yang lainnya dari berbagai jenis madu untuk melihat perbandingan terkait antifungi dan antibiofilm.

## DAFTAR PUSTAKA

- Adalina, Yelin. (2018). ANALISIS HABITAT KOLONI LEBAH HUTAN APIS DORSATA DAN KUALITAS MADU YANG DIHASILKAN DARI KAWASAN HUTAN DENGAN TUJUAN KHUSUS (KHDTK) RANTAU, KALIMANTAN SELATAN. *Jurnal Penelitian Hutan Dan Konservasi Alam*. 15. 25-40. 10.20886/Jphka.2018.15.1.25-40.
- Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirliff, M. E. (2011). Staphylococcus Aureus Biofilms: Properties, Regulation, And Roles In Human Disease. *Virulence*, 2(5), 445–459. <https://doi.org/10.4161/Viru.2.5.17724>
- Aryal, S. (2020). Candida Albicans- Habitat, Morphology, Cultural Characteristics, Life Cycle, Pathogenesis, Lab Diagnosis, Treatments, Prevention And Control. [Online] Online Microbiology Notes. Available At: <https://Microbenotes.Com/Candida-Albicans/> [Accessed 16 November. 2021]
- Banowu, Hendri. “Studi Perkembangan Koloni Dan Produksi Lebah Trigona Sp. Dari Posisi Stup Yang Berbeda”. Skripsi. Kendari: Fakultas Kehutanan Dan Ilmu Lingkungan Universitas Halu Uleo, 2016
- Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse, And All (2013). Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg. Ed. 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta
- Boase Sam, Foreman Andrew et al. 2013. The microbiome of chronic rhinosinusitis: culture, molecular diagnostics and biofilm detection. *BMC Infectious Diseases*.
- Calvillo-Medina, Rosa Paulina & Neria, Magda & Mena-Portales, Julio & Barba-Escoto, Luis & Raymundo, Tania & Campos-Guillén, Juan & Jones, George & Reyes-Grajeda, Juan & Gonzalez-Y-Merchand, Jorge &

Bautista De Lucio, Victor. (2018). Identification And Biofilm Development By A New Fungal Keratitis Etiologic Agent. *Mycoses*. 62. 10.1111/Myc.12849.

CANDRASARI, Anika; ROMAS, M. Amin; ASTUTI, Ovi Rizky. Uji Daya Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav.) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus Aureus* ATCC 6538, *Eschericia Coli* ATCC 11229 DAN *Candida Albicans* ATCC 10231 Secara In Vitro. *Biomedika*, [S.L.], V. 4, N. 1, Feb. 2011. ISSN 2541-2582. Available At: <<https://journals.ums.ac.id/index.php/biomedika/article/view/258>>. Date Accessed: 30 Nov. 2021. Doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v4i1.258>.

Gunardi, W. D. 2014. Peranan Biofilm Dalam Kaitannya Dengan Penyakit Infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 15(39A).

Idris, N. A. (2017). *Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah Dan Madu Hutan Dari Luwu Utara Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil)*.

Kining E., Falah S., Dan Nurhidayat N. Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Pepaya (*Carica Papaya* L.) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In Vitro. *Current Biochemistry*, 2016, Vol. 2 (3): 150-155.

Komariah, R. S. 2012. Kolonisasi *Candida* Dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*, 39-47.

Langford, Melanie & Hasim, Sahar & Nickerson, Kenneth & Atkin, Audrey. (2009). Activity And Toxicity Of Farnesol Towards *Candida Albicans* Are Dependent On Growth Conditions. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 54. 940-2. 10.1128/AAC.01214-09.

Latifah, Latifah (2015) *Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur Kaemferia Galanga*

- L. Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Undergraduate Thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Manvitha, K., Dan Bidya, B. (2016). Review On Pharmacological Activity Of Cymbopogon Citratus. *International Journal Of Herbal Medicine*, 1(6), 5–7.
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2017). Candida Albicans Pathogenicity Mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119–128. <https://doi.org/10.4161/Viru.22913>
- Mozer, H. 2015. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*) Terhadap *Aspergillus Niger*, *Candida Albicans*, Dan *Trichophyton Rubrum*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Neville, B. Anne; d'Enfert, Christophe; Bougnoux, Marie-Elisabeth (2015). *Candida Albicans* Commensalism In The Gastrointestinal Tract. *FEMS Yeast Research*, (), Fov081 . Doi:10.1093/Femsyr/Fov081
- Ning, Yang; Ling, Junqi; Wu, Christine D. (2015). Synergistic Effects Of Tea Catechin Epigallocatechin Gallate And Antimycotics Against Oral *Candida* Species. *Archives Of Oral Biology*, 60(10), 1565–1570. Doi:10.1016/J.Archoralbio.2015.07.001
- Puspitasari, A., Et Al., 2019. Profil Pasien Baru Kandidiasi. *Periodical Of Dermatology And Venerology*, 31(1), 24-34.
- Sari, R.K., Bertoni, R., & Praptami, T.A. 2013. Kajian Mutu, Nilai Gizi Serta Potensi Pada Antibakteri Dan Antioksidan (Manfaat) Madu Hutan Indonesia. Jaringan Madu Hutan Indonesia (JMHI).
- Shah, Sarita R.; Tatara, Alexander M.; D'Souza, Rena N.; Mikos, Antonios G.; Kasper, F. Kurtis (2013). *Evolving Strategies For Preventing Biofilm On Implantable Materials*. *Materials Today*, 16(5), 177–182. Doi:10.1016/J.Mattod.2013.05.003

- Sumarlin, La Ode, Dkk. “Aktivitas Antikanker Dan Antioksidan Madu Di Pasaran Lokal Indonesia”. *Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI)* 19, No. 3 (2014): H. 136- 144.
- Zore, G. B., Thakre, A. D., Jadhav, S., & Karuppayil, S. M. (2011). Terpenoids Inhibit *Candida Albicans* Growth By Affecting Membrane Integrity And Arrest Of Cell Cycle. *Phytomedicine : International Journal Of Phytotherapy And Phytopharmacology*, 18(13), 1181–1190. <https://doi.org/10.1016/J.Phymed.2011.03.008>
- Rosyidi, D. et al. (2018) Perbandingan Sifat Antioksidan Propolis pada Dua Jenis madu  
(*Apis mellifera* dan *Trigona* sp.) di Mojokerto dan Batu, Jawa Timur,  
Indonesia *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* (2018) 13(2) 108-117
- Bueno-Silva B, Alencar SM, Koo H, Ikegaki M, Silva GVJ, Napimoga MH, et al. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from brazilian red propolis. *J Agric Food Chem*. 2013;61(19):4546–50
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., & Van Hoorn, D.E.C., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *American Journal of Clinical Nutrition*, 74/4, pp 418-425
- Lee, Y. H., Woo, B., & Kim, Y. (2018). Transformational leadership and organizational citizenship behavior: Mediating role of affective commitment. *International Journal of Sports Science and Coaching*, 13(3), 373–382. <https://doi.org/10.1177/1747954117725286>
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. 2016. Review Article: Flavonoids. *Journal of Nutritional Science*. Vol. 5: 1-15
- Suriawiria, U. 2014. *Sukses Beragrobisnis Jamur Kayu*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Maleki, et.al.,2018.Antibacterial Activity of The fluid of The Iranian torillis leptophylla Againts Some clinical pathogen. Pakistan Journal of Biological Science,11,(9),1286-1289

## LAMPIRAN

Lampiran 1 : Surat Pernyataan Keaslian Tulisan

### PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan dibawah ini saya:

Nama : Ananta Sandi Putra

NPM : 19700030

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Mengatakan dengan sebenarnya bahwa Skripsi yang saya buat dengan judul “Uji Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm Madu Apis Mellifera Terhadap Candida Albicans” benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan orang lain yang saya akui sebagai tulisan saya sendiri. Apabila dikemudian hari dapat dibuktikan bahwa Skripsi adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Surabaya, 10 Desember 2022

Yang membuat pernyataan,



(Ananta Sandi Putra )

NPM 19700030



**Lampiran 2 : Surat Persetujuan Unggah E-repository****SURAT PERNYATAAN PERSETUJUAN**

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : Ananta Sandi Putra

NPM: 19700030

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis dengan judul “Uji Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm Madu Apis Mellifera Terhadap Candida Albicans”, bersedia untuk di unggah dalam e-repository Universitas Wijaya Kusuma Surabaya dan dimanfaatkan untuk masyarakat luas Surat Pernyataan Persetujuan ini digunakan sebagaimana diperlakukan.

Surabaya, 12 Maret 2022



(Ananta Sandi Putra)

NPM : 19700030

Lampiran 3 : Surat Pernyataan Persetujuan Unggah Majalah atau Jurnal

**SURAT PERNYATAAN**

Yang bertanda tangan dibawah ini saya :

Nama : Ananta Sandi Putra

NPM: 19700030

Program Studi : Pendidikan Dokter

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Tugas Akhir yang saya tulis dengan judul "Uji Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm Madu Apis Mellifera Terhadap Candida Albicans" bersedia untuk di unggah dalam majalah atau jurnal ilmiah atas nama pembimbing dengan tetap mencantumkan nama saya sebagai peneliti.

Surabaya, 12 Maret 2022



(Ananta Sandi Putra)

NPM : 19700030

Lampiran 4 Kartu Bimbingan

YAYASAN WIJAYA KUSUMA SURABAYA  
 UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA  
 FAKULTAS KEDOKTERAN  
 TIM PELAKSANA TUGAS AKHIR  
 Jl. Dukuh Kupang XXV/54, Surabaya Telp/Fax. 5666331-5614001  
 LEMBAR KONSULTASI TUGAS AKHIR

Form TA 05

Nama : Ananta Sanji Rute  
 NPM : 19700030  
 Judul Tugas Akhir : Uji Efektivitas Antikong & Antibiotik Malt terhadap *Candida Albicans* Ssi, Msi  
 Dosen Pembimbing : Dr. M. Masrukan

Topik Pembahasan		Tanda Tangan Dosen Pembimbing
Bulan : .....	Topik pembahasan I	
Tanggal		
	Pengajuan judul	
	Pengajuan judul	
	Pengajuan judul	
Bulan : .....	Topik pembahasan II	
Tanggal		
	Pemilihan variabel penelitian	
	Pemilihan variabel penelitian	
	Pemilihan variabel penelitian	
Bulan : .....	Topik pembahasan III	
Tanggal		
	Latar belakang penelitian	
	Latar belakang penelitian	
	Latar belakang penelitian	
Bulan : .....	Topik pembahasan IV	
Tanggal		
	Tinjauan pustaka	
	Tinjauan pustaka	
	Tinjauan pustaka	
Bulan : .....	Topik pembahasan V	
Tanggal		
	Kerangka konsep dan hipotesis penelitian	
	Kerangka konsep dan hipotesis penelitian	

Alternatif Topik Pembahasan		
Bulan : .....	Topik pembahasan I	Tanda Tangan Dosen Pembimbing
Tanggal		
18/05/2022	Diseksi KONTAK	
19/05/2022	Diseksi KONTAK	
23/05/2022	Diseksi KONTAK	
Bulan : .....	Topik pembahasan II	Tanda Tangan Dosen Pembimbing
Tanggal		
26/05/2022	Diseksi KONTAK	
27/05/2022	Diseksi KONTAK	
29/05/2022	BAB V	
Bulan : .....	Topik pembahasan III	Tanda Tangan Dosen Pembimbing
Tanggal		
30/05/2022	BAB V	
31/05/2022	BAB V	
Bulan : .....	Topik pembahasan IV	Tanda Tangan Dosen Pembimbing
Tanggal		
01/6/2022	BAB V	
05/6/2022	BAB VI	
06/6/2022	BAB VI	
Bulan : .....	Topik pembahasan V	Tanda Tangan Dosen Pembimbing
Tanggal		
07/6/2022	BAB IV - VI REVISI	
08/6/2022	BAB VII	

Lampiran 5 Jurnal

**UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN ANTIBIOFILM MADU  
APIS MELLIFERA TERHADAP *Candida albicans***

**Ananta Sandi Putra<sup>1</sup>, Masfufatun<sup>2</sup>, Handy Arief<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Mahasiswa Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya

<sup>2</sup>Bagian Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, Universitas Wijaya  
Kusuma Surabaya

**ABSTRAK**

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida sp.* *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi superfisial, serta septikemia. *C. albicans* merupakan organisme polimorfik yang mengalami transisi morfologi antara bentuk khamir (blastoconidium), pseudohifa dan hifa, tergantung pada lingkungannya. Spesies candida terutama *candida albicans*, merupakan jamur patogen utama pada manusia yang mampu menyebabkan infeksi mukosa superfisial dan infeksi sistemik pada manusia. Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan eksperimental murni (*True Experimental Design*) dengan metode difusi untuk melihat efek antibiofilm madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dengan pendekatan *Post-test Only Control Group Design*. Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa Madu *Apis Mellifera* memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan sel planktonik dan sel biofilm *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi daya hambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans* dan ekstrak etanol kunyit memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sehingga bisa dimanfaatkan sebagai agen alternatif antifungi.

**Kata kunci:** *Candida albicans*, Madu

**ABSTRACT**

*Candidiasis is an opportunistic fungal infection caused by Candida sp. C. albicans can cause superficial infection, as well as septicemia. C. albicans is a polymorphic organism that undergoes a morphological transition between yeast (blastoconidium), pseudohyphae and hyphae forms, depending on the environment. Candida species, especially Candida albicans, are the main pathogenic fungi in humans that are capable of causing superficial mucosal infections and systemic infections in humans. The research used was a laboratory experimental study using a true experimental design (True Experimental Design) with a diffusion method to see the antibiofilm effect of Apis mellifera honey on the growth of Candida*

*albicans*, with a Post-test Only Control Group Design approach. Based on this research, it can be concluded that Apis Mellifera Honey has an effect in inhibiting the growth of planktonic cells and *Candida albicans* biofilm cells.

**Keywords :** *Candida albicans*, Honey

## PENDAHULUAN

Kandidiasis adalah infeksi jamur yang bersifat oportunistik yang disebabkan oleh *Candida sp.* Prevalensi kandidiasis di Indonesia sekitar 20-25%, dapat menyerang rambut, kulit, kuku, selaput lendir, dan organ lain seperti mulut dan kerongkongan, namun informasi tentang faktor dan karakteristik risikonya masih terbatas (Puspitasari *et al.*, 2019). Kandidiasis sebagian besar menyerang individu yang memiliki status kekebalan yang lemah setelah pemberian obat imunosupresan pada pasien yang membutuhkan transplantasi organ atau menderita kanker (Karasuno *et al.*, 2019). Ketika host menjadi immunocompromised, *C. albicans* dapat menyebabkan infeksi superfisial, serta septikemia. *C. albicans* merupakan organisme polimorfik yang mengalami transisi morfologi antara bentuk khamir (blastoconidium), pseudohifa dan hifa, tergantung pada lingkungannya (Iwalokun *et al.*, 2010). Hingga saat ini kandidiasis masih menjadi perhatian utama karena tingkat infeksi yang meningkat mulai dari infeksi topikal yang rendah hingga infeksi sistemik yang serius (Frías-De-León *et al.*, 2019). Infeksi yang terjadi di masyarakat maupun rumah sakit pada

umumnya disebabkan oleh spesies jamur oportunistik dari *Candida sp* yang merupakan bagian dari mikroflora pada saluran pencernaan, urogenital, dan kulit manusia.

Spesies candida terutama *candida albicans*, merupakan jamur patogen utama pada manusia yang mampu menyebabkan infeksi mukosa superfisial dan infeksi sistemik pada manusia (HS *et al.*, 2013). *Candida albicans* ini telah menjadi penyebab paling umum dari infeksi aliran darah. Di sebagian besar wilayah *C. albicans* itu sendiri adalah penyebab utama. *C. albicans* merupakan mikroorganisme ketiga yang paling sering diisolasi dari infeksi aliran darah pada pasien rawat inap yang ada di rumah sakit (Shieldsdkk. 2018). *C. albicans* merupakan patogen oportunistik yang berada di dalam tubuh manusia yang berada di flora mulut dan konjungtiva, serta di saluran pencernaan dan genitourinaria (Nami Nasution, Mariatin and Zahreni, 2018). Kemampuan dari spesies *C. albicans* dalam menginfeksi inang didukung oleh berbagai faktor virulensi, seperti kemampuan transisi morfologi antara bentuk ragi dan hifa, ekspresi adhesin dan invasin pada permukaan sel, (Nassar *et al.*, 2012). Patogenitas jamur ini tergantung pada kondisi lingkungan yang dapat beralih secara

reversibel antara dua bentuk morfologis seperti ragi atau bentuk filamen (*pseudohyphae*) yang berkontribusi terhadap virulensi utamanya yaitu patogen, termasuk melalui pembentukan biofilm (Tsui, Kong and Jabra-Rizk, 2016).

Berdasarkan Institut Kesehatan Nasional (AS), lebih dari 60% dari semua infeksi mikroba berhubungan dengan biofilm. Biofilm sangat bermasalah dalam lingkungan klinis dan, seperti bakteri, berbagai spesies jamur juga dapat membentuk biofilm baik secara *in vivo* maupun *in vitro*. Di antara spesies jamur, *C. albicans* adalah patogen paling umum yang terkait dengan infeksi biofilm jamur, terutama infeksi yang terkait dengan perangkat medis yang ditanam (Alandejani et al, 2010). Masalah umum yang terkait dengan biofilm *C. albicans* adalah peningkatan resistensi biofilm terhadap agen antijamur seperti obat azol dan turunannya dan sel inang sehingga sulit dieradikasi. Peningkatan resistensi disebabkan oleh matriks ekstraseluler yang disekresikan oleh sel *Candida*, yang melindungi sel *Candida* dari antibodi dan mencegah obat menembus biofilm (Nett, et al., 2010). Munculnya *C. albicans* yang resisten berdampak besar terhadap kesehatan masyarakat dan perekonomian. Dengan adanya peningkatan prevalensi *C. albicans* yang resisten terhadap obat, maka perlu dilakukan pengembangan pengobatan alternatif untuk infeksi *Candida* yang aman, efektif dan murah. Hal ini bisa dilakukan dengan

menggunakan bahan alam seperti madu.

Madu memiliki sifat antimikroba, dimana sifatnya ini tergantung pada jenisnya, sumber bunga, asal botani dan geografis serta kondisi pemanenan, pengolahan dan penyimpanan yang digunakan (Al-Waili NS, et al., 2012; Sherlock O, et al., 2010). Madu banyak digunakan untuk tujuan nutrisi dan terapeutik. Efek antibiofilm madu terhadap bakteri sudah banyak dipelajari, seperti pada *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* dan biofilm bakteri (Cooper R, et al., 2011; Nassar H, 2012; Al-Waili N., 2012). Namun belum banyak penelitian yang dilakukan mengenai aktivitas antibiofilm dari madu lokal terhadap fungi belum banyak dipelajari secara ekstensif. Madu mampu mengurangi produksi matriks polisakarida ekstraseluler sehingga dapat merusak biofilm (Okhiria OA, et al., 2010). Pada penelitian sebelumnya, menunjukkan bahwa madu jujube dapat menghambat fase awal pembentukan biofilm dan memiliki potensi fungistatik, fungisida dan antibiofilm. Potensi ini adalah lebih unggul dari kebanyakan antijamur yang umum digunakan (Ansori et al., 2013). Pada penelitian (Rosyidi et al., 2018) yang menggunakan madu apis mellifera lokal yang berasal dari kota Mojokerto provinsi Jawa Timur terbukti kandungan senyawa propolis flavonoidnya yang tinggi. Oleh karena itu peneliti ini ingin meneliti efek antifungi dan antibiofilm dari madu

lokal Indonesia jenis Apis Mellifera terhadap *Candida albicans*.

Berdasarkan literatur tersebut, kombinasi madu efektif dalam penghancuran sel biofilm. Dengan demikian penelitian ini berjudul “Uji Efektivitas Antifungi dan Antibiofilm madu Terhadap *Candida albicans*”.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian yang digunakan adalah penelitian eksperimental laboratorium menggunakan rancangan eksperimental murni (*True Experimental Design*) dengan metode difusi untuk melihat efek antibiofilm madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*, dengan pendekatan *Post-test Only Control Group Design*. Penelitian uji aktivitas antibiofilm madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga pada bulan Februari 2022 - Maret 2022. Untuk populasi penelitian meliputi biakan jamur *Candida albicans* yang tersedia di laboratorium Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma. Menggunakan rumus Federer kelompok biakan jamur *Candida albicans* dipilih untuk dijadikan sampel

## **HASIL PENELITIAN**

### **A. Karakteristik Madu Apis Mellifera**

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas antifungi dan antibiofilm madu *Apis Mellifera*

terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yang didapatkan Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga. Madu Apis Mellifera ini di dapatkan dari peternak lebah di Mojokerto. Madu ini cairnya pekat dan sangat kental serta warna madu ini kuning gelap. Madu ini memiliki cita rasa yang manis dan aroma dari madu ini wangi

### **B. Pembuatan Larutan Induk Madu 100%**

Pembuatan larutan madu dilakukan menggunakan metode mikrodilusi sebanyak 10 gram madu dilarutkan dalam media sampai 10 µl dan di homogenisasi menggunakan vortex. Setelah itu diambil dengan micropipet 10 µm dan dimasukkan ke well. Microplate yang dipakai adalah 96 well-plate, suspensi pada baris A diambil 100 µl, kemudian ditambahkan pada baris B dengan micropipette dan diperoleh beberapa konsentrasi, yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,5625%.

### **C. Potensi Madu Apis Mellifera sebagai Antifungi**

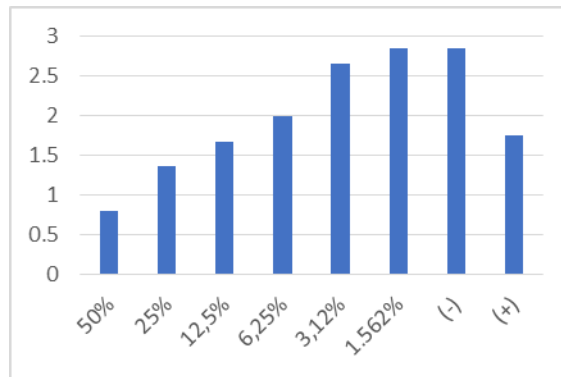
Jamur *Candida albicans* terlebih dahulu dibiakan dengan metode difusi disk dalam *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) kemudian dilakukan pemindahan mikroorganisme di media *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB). Setelah itu dilakukan uji viabilitas sel untuk melihat potensi madu *Apis Mellifera* sebagai antifungi terhadap media yang ditumbuhi jamur *Candida albicans*. Pengujian ini menggunakan mikrotiter plate 96 well-plate dengan memasukan MTS ke konsentrasi 0,33

mg/ml yang sudah berisikan suspensi *broth* serta *candida albicans* dan diinkubasi dengan suhu 37° celcius selama 240 menit, lalu dilakukan

dengan multiplate reader putaran 490 nm. Hasil dari pengujian dapat dilihat dari tabel dibawah ini:

**Tabel 1 Hasil Pengujian Viabilitas Sel**

Replikasi	Konsentrasi Madu							(+)	(-)
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1.562%			
1	0.809	1.358	1.697	2.548	2.757	2.954	1.604	3.064	
2	0.725	1.354	1.727	1.798	2.731	2.783	1.612	2.962	
3	0.852	1.393	1.524	1.943	2.886	2.852	1.934	2.647	
4	0.871	1.309	1.944	1.718	2.146	3.16	1.932	2.673	
5	0.748	1.412	1.458	1.955	2.806	2.504	1.664	2.907	
<b>Rata-rata</b>	0.801	1.3652	1.67	1.9924	2.6652	2.8506	1.7492	2.8506	

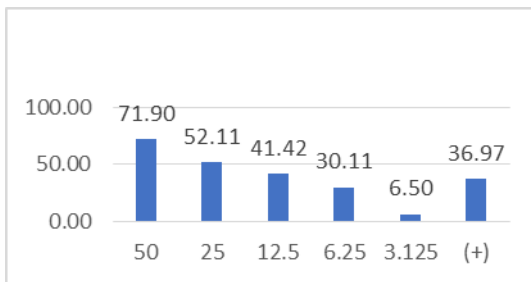




**Gambar 1 Grafik Pertumbuhan *Candida albicans***

Berdasarkan gambar 5.1 menunjukkan rata-rata pertumbuhan *Candida albicans* yang paling tinggi di konsentrasi yang paling rendah (1,562%) sebesar 2,8506. Sedangkan kontrol positif yang berisi fluconazole.

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan penurunan rata-rata hambatan terhadap *Candida albicans* seiring dengan meningkatnya konsentrasi madu, sebaliknya apabila konsentrasi yang diberikan semakin rendah daya hambat juga semakin rendah. Hal ini dikarenakan madu



**Gambar 2 Grafik Penghambatan Pertumbuhan *Candida albicans* oleh madu**

Pada Tabel Tersebut konsentrasi madu 50% memiliki penghambatan besar sementara konsentrasi 50% memiliki penghambatan terbesar. Semakin kecil konsentrasi madu semakin kecil daya hambat nya. Data ini menjadi patokan nilai KHM 50 (konsentrasi hambat minimum ) yang di definisikan sebagai konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* sebesar 50% pada penelitian

memberikan efek terhadap pertumbuhan *Candida albicans*.

### Hasil penentuan Nilai KHM

Nilai Absorbansi/ OD dipakai untuk menentukan persen penghambatan

**Tabel 2 Hasil Hambatan Pertumbuhan *Candida albicans***

% Ham bata	Konsentrasi Madu					
	50 %	25 %	12,5 %	6,25 %	3,12 %	1,56 (+) 2%
n	71.90	52.11	41.42	30.11	6.50	36.97

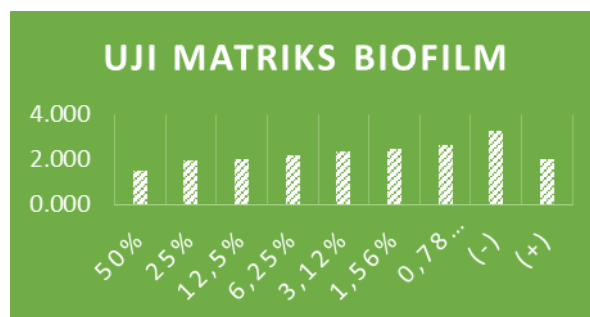
ini, Berdasarkan penentuan nilai KHM 50 menggunakan analisis probit dapat diperoleh bahwa konsentrasi madu yang dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* sebanyak 50% (KHM 50) terletak pada konsentrasi 28%

### D. Potensi Madu Apis Malliferal Sebagai Antibiofilm

Pada proses ini sedikit berbeda, jamur *Candida albicans* dibiakan dengan metode difusi disk dalam *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dilakukan pemindahan mikroorganisme di media *Sabouraud Dextrose Broth* (SDB) dan dilakukan pembentukan biofilm *Candida albicans* dengan media spider yang kemudian diukur matriks biofilm *Candida albicans* menggunakan ELISA *microplate reader* yang nilainya dapat dibaca pada panjang gelombang 490nm

Tabel 3 Hasil Matriks Biofilm

Replikasi	Konsentrasi Madu								
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,56%	0,781%	(-)	(+)
1	0.969	1.876	2.074	2.158	2.339	2.787	2.718	3.321	2.297
2	1.365	2.009	1.998	2.155	2.258	2.378	2.778	3.103	2.157
3	1.709	1.956	2.117	2.129	2.599	2.507	2.536	3.474	2.225
4	1.677	1.948	2.074	2.184	2.334	2.015	2.710	3.076	1.689
5	1.649	1.981	1.821	2.351	2.339	2.626	2.524	3.347	1.705
<b>Rata-rata</b>	1.474	1.954	2.017	2.195	2.374	2.463	2.653	3.264	2.015



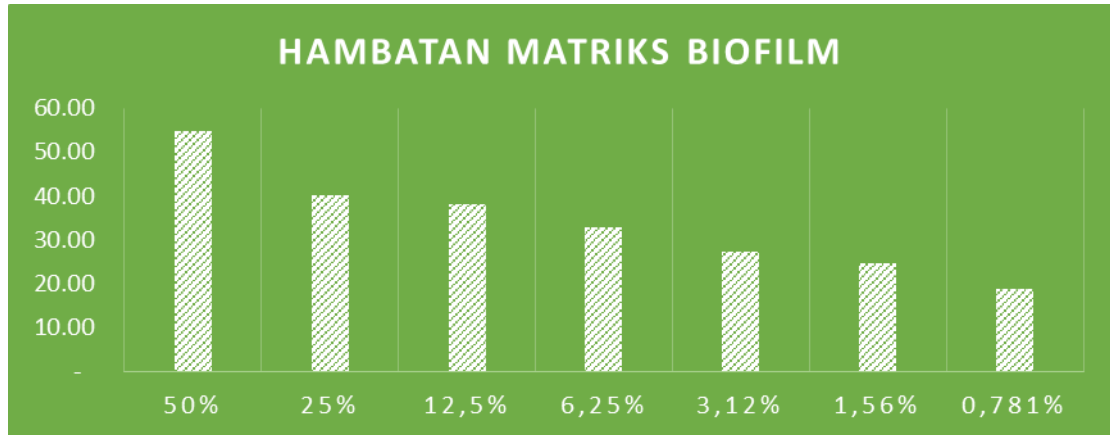
Gambar 3 Grafik Matriks Biofilm

Berdasarkan gambar 3 menunjukkan rata-rata pertumbuhan biofilm *Candida albicans* yang paling tinggi di kontrol negatif (3,264) dan konsentrasi yang paling rendah (0,781%) sebesar 2,653. Sedangkan untuk kontrol positif yang berisi fluconazole rata-rata pertumbuhan *Candida albicans* sebesar 2,015.

#### Penentuan Nilai KHBM

% Hambatan	Konsentrasi Madu						
	50%	25%	12,5%	6,25%	3,12%	1,56%	0,781%
	54.85	40.14	38.21	32.74	27.28	24.56	18.72

**Tabel 4 Hasil Hambatan Matriks Biofilm**



**Gambar 4 Grafik Hambatan Matriks Biofilm**

Berdasarkan tabel diatas menunjukkan semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka daya hambat pertumbuhan biofilm pada candida albicans akan semakin tinggi dan sebaliknya apabila konsentrasi yang diberikan semakin rendah daya hambat juga semakin rendah. Berdasarkan analisis probit spss dapat diperoleh bahwa konsentrasi minimal madu yang dapat menghambat biofilm *candida albicans* sebanyak 50% (KHbM 50) terletak pada konsentrasi 40%

## E. Analisis Data

### 1. Antifungi

#### a. Uji Normalitas

Pada penelitian ini menggunakan uji normalitas kolmogoro-smirnov, karena data lebih dari 50. Uji dilakukan untuk menganalisis distribusi data yang

diperoleh dari hasil penelitian dengan hasil sebagai berikut:

**Tabel 5 Uji Normalitas**

Data	Bermakna	Keterangan
Antifungi	0.200 > 0.05	Berdistribusi

Data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih besar dari 0.05. pada penelitian ini untuk uji normalitas data antifungi nilai signifikansi (0.200) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data berdistribusi normal.

#### b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk menganalisa data antar kelompok memiliki varian data yang sama atau tidak.

Pengujian ini menggunakan *Levene Test*, dengan kriteria nilai probabilitas > *level of significance* (alpha = 5%). Hasil spss dapat dilihat melalui tabel berikut:

**Tabel 6 Uji Homogenitas**

Data	Bermakna	Keterangan
Antifungi	0.878 > 0.05	Homogen

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa uji homogenitas data antifungi nilai signifikansi (0.878) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data homogen.

### c. Uji One Way Anova

Pada penelitian ini dilakukan menggunakan uji statistik one way anova untuk mengetahui pengaruh madu *apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel planktonik

### d. Uji Post-Hoc

Post-Hoc merupakan uji lanjutan dari one way anova untuk melihat kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan.

*Candida albicans*. Data dikatakan signifikan apabila nilai signifikansi  $p < 0.05$ , sehingga diketahui hasilnya pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 7 Uji One Way Anova**

Data	Bermakna	Keterangan
Antifungi	0.000 > 0.05	Signifikan

Berdasarkan tabel di atas dapat ditarik kesimpulan bahwa  $H_0$  ditolak dan  $H_1$  diterima yang berarti terdapat pengaruh antifungi madu *apis mellifera* terhadap *Candida albicans* karena data menunjukkan nilai signifikansi kurang dari 0.05, sehingga dilakukan uji lanjutan post hoc metode Tukey.

KELOMPOK	K-	K+	50%	25%	12.5%	6.25%	3.12%	1.562%	0.781%
K-		0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.001*
K+	0.000*		0.003*	1.000	1.000	0.874	0.132	0.025*	0.000*
50%	0.000*	0.003*		0.013*	0.003*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
25%	0.000*	1.000	0.013*		1.000	0.602	0.440	0.007*	0.000*
12.5%	0.000*	1.000	0.003*	1.000		0.881	0.137	0.260	0.000*
6.25%	0.000*	0.874	0.000*	0.602	0.881		0.882	0.470	0.021*
3.12%	0.000*	0.132	0.000*	0.044*	0.137	0.882		0.998	0.410
1.56%	0.000*	0.025*	0.000*	0.007*	0.026*	0.470	0.998		0.839
0.78%	0.001*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.021*	0.410	0.839	

**Tabel 8 Uji Post-Hoc Antifungi**

Keterangan Tabel:

\*= Terdapat perbedaan signifikan

Tabel 8 menjelaskan berkaitan perlakuan antifungi madu *apis mellifera* berdasarkan konsentrasi. Apabila hasil nilai signifikansi kurang dari 0.05 maka terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil penelitian untuk kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan seluruh perlakuan konsentrasi (50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625% dan 0,781%) menunjukkan nilai signifikansi kurang dari (0.05). berdasarkan hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan. Perlakuan kontrol positif (K+) hanya konsentrasi 25%, 12,5%, 6,25% dan 3,12% yang menunjukkan nilai signifikansi  $P > 0.05$ . Perlakuan konsentrasi yang paling tinggi 50% dibandingkan dengan konsentrasi keseluruhan juga menunjukkan nilai signifikansi ( $P < 0.05$ ). Perlakuan konsentrasi 25% yang dibandingkan dengan konsentrasi 12,5% dan 6,25% menunjukkan tidak terdapat perbedaan signifikan karena ( $P > 0.05$ ). Semakin rendah konsentrasi menunjukkan tidak ada perbedaan yang signifikan, yang dapat dilihat mulai dari perlakuan konsentrasi 3,12%.

## 2. Antibiofilm

### a. Uji Normalitas

Pada penelitian ini menggunakan uji normalitas kolmogoro-smirnov, karena data lebih dari 50. Uji

dilakukan untuk menganalisis distribusi data yang diperoleh dari hasil penelitian dengan hasil sebagai berikut:

**Tabel 9 Uji Normalitas**

Data	Bermakna	Keterangan
Antibiofilm	0.054 > 0.05	Berdistribusi normal

Data dikatakan berdistribusi normal apabila nilai signifikansi lebih besar dari 0.05. pada penelitian ini untuk uji normalitas data antibiofilm nilai signifikansi (0.054) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data berdistribusi normal.

### b. Uji Homogenitas

Uji homogenitas merupakan uji yang dilakukan untuk menganalisa data antar kelompok memiliki varian data yang sama atau tidak. Pengujian ini menggunakan Levene Test, dengan kriteria nilai probabilitas > level of significance ( $\alpha = 5\%$ ). Hasil spss dapat dilihat melalui tabel berikut:

**Tabel 10 Uji Homogenitas**

Data	Bermakna	Keterangan
Antibiofilm	0.600 > 0.05	Homogen

Berdasarkan tabel di atas dapat diketahui bahwa uji homogenitas data antifungi nilai signifikansi

(0.600) lebih besar dari 0.05 yang menunjukkan data homogen.

**c. Uji One Way Anova**

Pada penelitian ini dilakukan menggunakan uji statistik one way anova untuk mengetahui pengaruh madu apis mellifera terhadap pertumbuhan sel biofilm Candida albicans. Data dikatakan signifikan apabila nilai signifikansi  $p < 0.05$ ,

sehingga diketahui hasilnya pada tabel sebagai berikut:

**Tabel 11 Uji One Way Anova**

<b>Data</b>	<b>Bermakna</b>	<b>Keterangan</b>
	<b>a</b>	<b>n</b>
Biofilm	0.000 > 0.05	Signifikan

**d. Uji Post-Hoc**

Post-Hoc merupakan uji lanjutan dari one way anova untuk melihat kelompok mana saja yang memiliki perbedaan signifikan.

**Tabel 12 Uji Post-Hoc Biofilm**

<b>KELOMPOK</b>	<b>K-</b>	<b>K+</b>	<b>50%</b>	<b>25%</b>	<b>12.5%</b>	<b>6.25%</b>	<b>3.12%</b>	<b>1.562%</b>
<b>K-</b>		0.000*	0.000*	0.000*	0.748	0.000*	0.031*	1.000
<b>K+</b>	0.000*		0.000*	0.782	0.000*	0.997	0.383	0.000*
<b>50%</b>	0.000*	0.000*		0.053*	0.000*	0.004*	0.000*	0.000*
<b>25%</b>	0.000*	0.782	0.053*		0.000*	0.999	0.003*	0.000*
<b>12.5%</b>	0.748	0.000*	0.000*	0.000*		0.000*	0.000*	0.814
<b>6.25%</b>	0.000*	0.997	0.004*	0.999	0.000*		0.049*	0.000*
<b>3.12%</b>	0.031*	0.383	0.000*	0.003*	0.000*	0.049*		0.012*
<b>1.562%</b>	1.000	0.000*	0.000*	0.000*	0.814	0.000*	0.012*	

Keterangan Tabel:

\*= Terdapat perbedaan signifikan

Tabel 12 menjelaskan terkait perlakuan antibiofilm madu apis mallifera berdasarkan konsentrasi. Apabila hasil nilai signifikansi kurang dari 0.05 maka terdapat perbedaan yang signifikan.

Hasil uji post-hoc biofilm menunjukkan kontrol negatif (K-) dibandingkan dengan perlakuan konsentrasi (50%, 25%, 6,25%, dan 3,125%) menunjukkan nilai signifikansi kurang dari (0.05) berdasarkan hasil tersebut dapat ditarik kesimpulan bahwa terdapat perbedaan signifikan. Sedangkan perlakuan kontrol positif (K+) dibandingkan dengan konsentrasi 25%, 6,25%, dan 3,12% yang menunjukkan nilai signifikansi  $P > 0.05$ .

## PEMBAHASAN

### A. Pengaruh madu apis mallifera terhadap pertumbuhan sel planktonic *Candida Albicans*

Pada penelitian ini menggunakan metode mikrodilusi, yaitu salah satu metode untuk menguji aktivitas antifungi dan antibakteri karena lebih sensitif. Keuntungan metode mikrodilusi adalah mudah dilakukan, serta memberikan efektivitas dalam segi bahan dan tempat (Jorgensen dkk., 2009). Sedangkan untuk kekurangan dari metode ini adalah waktu pengerjaan yang lama, risiko kesalahan dalam penyiapan larutan antimikroba untuk setiap pengujian, dan sejumlah besar medium, reagen dan ruang pengujian (Balouiri. 2015; Jorgensen & Turnidge., 2016).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh madu terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* dengan beberapa konsentrasi yang digunakan, yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,5625%. Hasil dari pengujian viabilitas sel planktonik yang direplikasi sebanyak lima kali didapatkan rata-rata konsentrasi 50% sebesar 1,474; konsentrasi 25% sebesar 1,954; konsentrasi 12,5% sebesar 2,017; konsentrasi 6,25% sebesar 2,195; konsentrasi 3,12% sebesar 2,374; konsentrasi 1,56% sebesar 2,463; konsentrasi 0,781% sebesar 2,653 dan kontrol positif yang menggunakan fluconazole sebesar 2,015. Pertumbuhan sel planktonik akan semakin rendah apabila konsentrasi yang digunakan semakin tinggi, hal ini juga dapat dilihat grafik 5.2 daya hambatan pertumbuhan *Candida albicans* tertinggi terjadi pada kelompok madu dengan konsentrasi 50% sedangkan daya hambatan yang rendah dikelompok konsentrasi 0,781%.

Hasil uji statistik menggunakan one way anova menunjukkan terdapat pengaruh madu apis mallifera terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* terbukti dari nilai signifikansi  $p < 0.05$ . Hasil penelitian ini sama seperti yang dilakukan Winarsih (2013) yang menunjukkan madu memiliki efek antifungi terhadap *Candida albicans* secara in vitro dan terdapat korelasi antara madu dengan derajat antifungi pada *Candida albicans*.

Madu Apis mellifera dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* karena ada beberapa faktor, diantaranya kandungan utama madu

berupa glukosa dan fruktosa yang tinggi sehingga menyebabkan madu memiliki sifat hipertonis bila dibandingkan dengan *Candida albicans*. Selain itu ikatan yang kuat antar molekul gula dengan molekul air hanya menyisahkan molekul air sedikit agar mikroorganisme dapat tumbuh (Winarsih, dkk, 2013). Sejalan juga dengan penelitian Maleki, et al (2008) pada konsentrasi tinggi, ikatan antar molekul semakin kuat sehingga menyebabkan senyawa-senyawa aktif yang terkandung dalam ekstrak berukuran lebih besar akibatnya, molekul-molekul tersebut tidak mampu menembus pori-pori medium agar yang pada akhirnya terjadi pengerusakan membran sel jamur oleh senyawa aktif yang dikandung propolis tidak maksimal.

Menurut Suriawiria (2000), pH madu tergolong bersifat asam (3,2-4,5) sehingga peningkatan *Candida albicans* akan terhambat. Madu *Apis mellifera* memiliki beberapa komponen primer secara biologis seperti flavonoid, terpenoid, derivat asam cinnamic, alkohol, aldehid, asam fenol, asam amino, ligans, triterpenes, steroid dan gula. Komponen terbesarnya adalah flavonoid yang memiliki sifat biologis berspektrum luas, seperti efek antibacterial, antiviral, anti inflamasi dan antibiofilm (Bueno-Silva et al.,2013; Nijeveldt et al.,2001).

Flavonoid dikenal memiliki sifat antioksidan, anti-inflamasi, antimutagenik, dan antikarsinogenik ditambah dengan kapasitasnya untuk memodulasi fungsi enzim seluler utama. Mereka juga dikenal sebagai inhibitor kuat untuk beberapa enzim,

seperti xanthine oxidase (XO), cyclooxygenase (COX), lipoxygenase dan phosphoinositide 3-kinase (Panche, Diwan and Chandra, 2016) Senyawa flavonoid sebagai antifungi dapat berperan langsung dalam menghambat pertumbuhan jamur dengan cara membentuk kompleks dengan membrane berbahaya dan protein seluler. Membran mendenaturasi ikatan protein yang ada didalam membrane sel, sehingga sel lisis dan senyawa tersebut menembus kedalam inti sel yang menyebabkan jamur tidak berdilatasi lagi (Rintiswati, 2014). Potensi antioksidan dari flavonoid menghambat pembentukan biofilm dan menstimulasi gangguan membran sehingga terjadi pengurangan ukuran sel dan kebocoran komponen intraseluler (Lee, Woo and Lee, 2018).

#### **B. Nilai KHM madu *Apis mellifera* dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans***

Berdasarkan tabel nilai konsentrasi hambatan minimum (KHM) atau Minimal Inhibitory Concentration (MIC) adalah nilai konsentrasi terkecil yang masih memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans*, dalam penelitian ini konsentrasi yang menghambat pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* sebesar 50% (KHBM 50) terletak 28%

#### **C. Pengaruh madu *Apis mellifera* terhadap pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans***

Berdasarkan data hasil penelitian tabel 5.4 menunjukkan bahwa madu memiliki potensi untuk menghambat



pertumbuhan biofilm *Candida albicans* pada semua konsentrasi. Pada proses uji biofilm konsentrasi yang digunakan 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,12% dan 1,562%. Daya hambatan tertinggi pertumbuhan biofilm terjadi pada konsentrasi 50% dengan daya hambatan sebesar 71,90%. Semakin tinggi konsentrasi akan semakin tinggi daya hambatannya. Hasil uji statistik menggunakan one way anova menunjukkan terdapat pengaruh madu apis mellifera terhadap pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans* terbukti dari nilai signifikansi  $p < 0.05$ . Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan Ansori et al (2013), menunjukkan bahwa madu jujube dapat menghambat fase awal pembentukan biofilm dan memiliki potensi fungistatik, fungisida dan antibiofilm. Potensi ini adalah lebih unggul dari kebanyakan antijamur yang umum digunakan. Kandungan madu yang mempunyai efek antibiofilm yaitu kandungan pinostrobin yang disebut flavonoid dalam madu dapat mencegah resistensi biofilm yang bertindak sebagai agen anti biofilm (Laurence, 2015) Pada penelitian (Javed et al., 2013).

#### **D. KHBM**

konsentrasi terkecil yang masih memiliki kemampuan tinggi untuk menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sebagai antibiofilm adalah 40%. Hasil pengujian post hoc Duncan menunjukkan bahwa aktivitas penghambatan pertumbuhan biofilm *Candida albicans* dimulai pada konsentrasi 0.25% dan aktivitas degradasi biofilm *Candida albicans*

terjadi optimal pada konsentrasi 1% (Rizkiyah, 2019). kadar MIC madu jujube secara efektif mencegah pembentukan biofilm *Candida albicans* dan menghambat pertumbuhan biofilm *Candida albicans*. Ditemukan bahwa 20% b/v dan 40% b/v madu jujube secara signifikan mencegah pembentukan biofilm, dan 80% b/v sepenuhnya mencegah pembentukan biofilm. Sebaliknya, 5% b/v madu sedikit meningkatkan pembentukan biofilm.

## **KESIMPULAN DAN SARAN**

### **A. Kesimpulan**

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan, maka dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut:

1. Madu Apis Mellifera memiliki efek dalam menghambat pertumbuhan sel planktonik dan sel biofilm *Candida albicans*. Semakin tinggi konsentrasi yang diberikan maka semakin tinggi daya hambatan pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
2. Konsentrasi hambatan minimum (KHM) terhadap pertumbuhan sel planktonik *Candida albicans* adalah 3,12%
3. Madu Apis Mellifera memiliki pengaruh dalam menghambat pertumbuhan sel biofilm *Candida albicans* yang ditunjukkan dengan nilai signifikansi ( $P=0.000$ ).
4. Konsentrasi hambatan Biofilm minimum (KHBM) terhadap pertumbuhan hambatan biofilm minimum *Candida albicans* adalah 28%

### **B. Saran**

Bagi peneliti, dapat dilakukan penelitian dengan jenis madu yang lainnya dari berbagai jenis madu

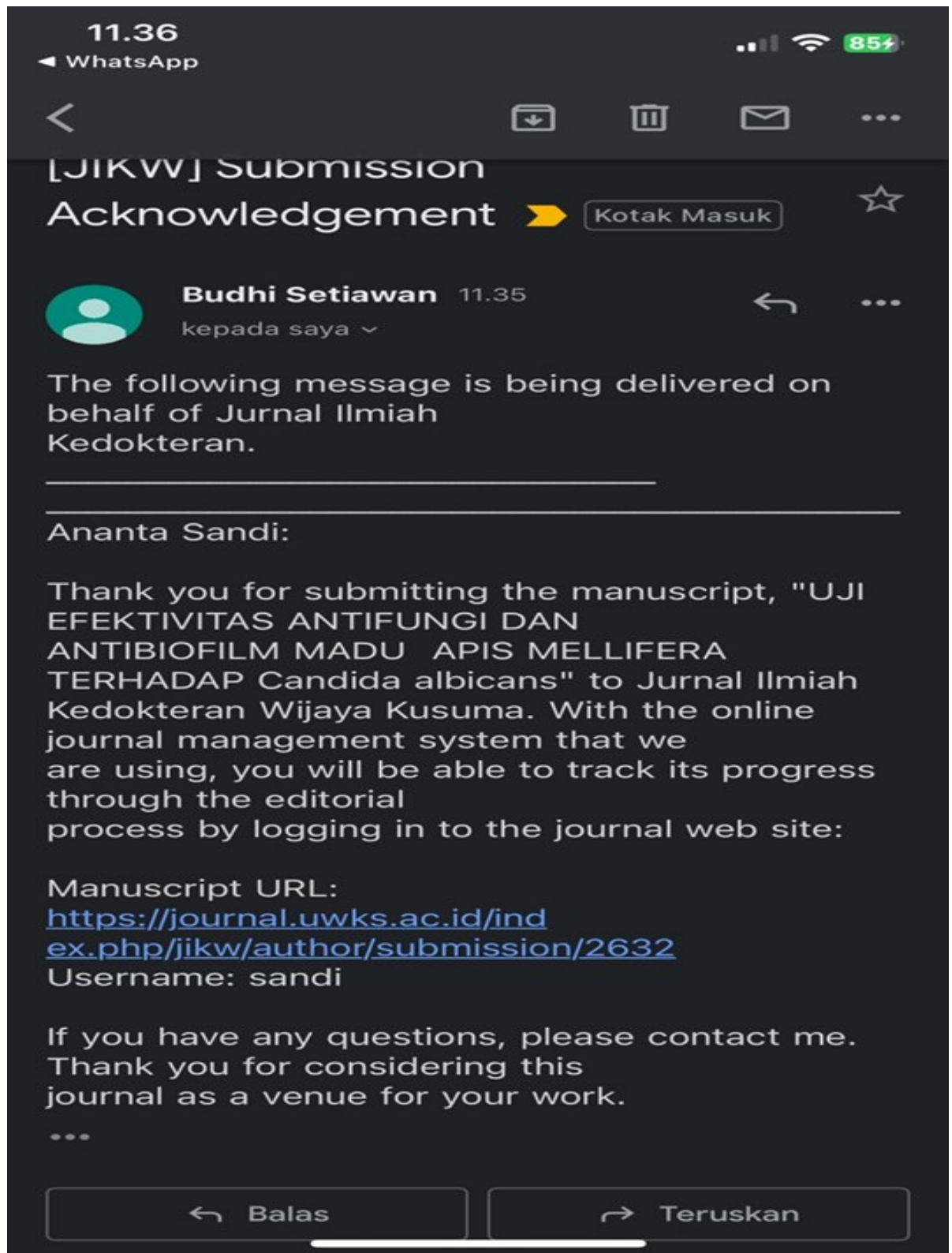
untuk melihat perbandingan terkait antifungi dan antibiofilm.

#### DAFTAR PUSTAKA.

- Adalina, Yelin. (2018). ANALISIS HABITAT KOLONI LEBAH HUTAN APIS DORSATA DAN KUALITAS MADU YANG DIHASILKAN DARI KAWASAN HUTAN DENGAN TUJUAN KHUSUS (KHDTK) RANTAU, KALIMANTAN SELATAN. *Jurnal Penelitian Hutan Dan Konservasi Alam*. 15. 25-40.  
10.20886/Jphka.2018.15.1.25-40.
- Archer, N. K., Mazaitis, M. J., Costerton, J. W., Leid, J. G., Powers, M. E., & Shirtliff, M. E. (2011). *Staphylococcus Aureus Biofilms: Properties, Regulation, And Roles In Human Disease*. *Virulence*, 2(5), 445–459.  
<https://doi.org/10.4161/Viru.2.5.17724>
- Aryal, S. (2020). *Candida Albicans-Habitat, Morphology, Cultural Characteristics, Life Cycle, Pathogenesis, Lab Diagnosis, Treatments, Prevention And Control*. [Online] *Online Microbiology Notes*. Available At:  
<https://microbenotes.com/Candida-Albicans/> [Accessed 16 November. 2021]
- Banowu, Hendri. “Studi Perkembangan Koloni Dan Produksi Lebah Trigona Sp. Dari Posisi Stup Yang Berbeda”. Skripsi. Kendari: Fakultas Kehutanan Dan Ilmu Lingkungan Universitas Halu Uleo, 2016
- Brooks, GF., Carroll KC, Butel JS, Morse, And All (2013). *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg*. Ed. 25. Penerbit Buku Kedokteran EGC: Jakarta
- Boase Sam, Foreman Andrew et al. 2013. The microbiome of chronic rhinosinusitis: culture, molecular diagnostics and biofilm detection. *BMC Infectious Diseases*.
- Calvillo-Medina, Rosa Paulina & Neria, Magda & Mena-Portales, Julio & Barba-Escoto, Luis & Raymundo, Tania & Campos-Guillén, Juan & Jones, George & Reyes-Grajeda, Juan & Gonzalez-Y-Merchand, Jorge & Bautista De Lucio, Victor. (2018). Identification And Biofilm Development By A New Fungal Keratitis Etiologic Agent. *Mycoses*. 62. 10.1111/Myc.12849.
- CANDRASARI, Anika; ROMAS, M. Amin; ASTUTI, Ovi Rizky. UJI DAYA ANTIMIKROBA EKSTRAK ETANOL DAUN SIRIH MERAH (Piper Crocatum Ruiz & Pav.) TERHADAP PERTUMBUHAN *Staphylococcus Aureus* ATCC 6538, *Eschericia Coli* ATCC 11229 DAN *Candida Albicans* ATCC 10231 SECARA IN VITRO. *Biomedika*, [S.L.], V. 4, N. 1, Feb. 2011. ISSN 2541-2582. Available At: <<https://journals.ums.ac.id/index.php/biomedika/article/view/258>>. Date Accessed: 30 Nov. 2021.  
Doi:<https://doi.org/10.23917/biomedika.v4i1.258>.
- Gunardi, W. D. 2014. Peranan Biofilm Dalam Kaitannya Dengan Penyakit Infeksi. *Jurnal Kedokteran Meditek*, 15(39A).

- Idris, N. A. (2017). Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Sarang Lebah Dan Madu Hutan Dari Luwu Utara Dengan Metode DPPH (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil).
- Kining E., Falah S., Dan Nurhidayat N. Aktivitas Antibiofilm Ekstrak Air Daun Pepaya (*Carica Papaya L.*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa* Secara In Vitro. *Current Biochemistry*, 2016, Vol. 2 (3): 150-155.
- Komariah, R. S. 2012. Kolonisasi *Candida* Dalam Rongga Mulut. *Majalah Kedokteran FK UKI*, 39-47.
- Langford, Melanie & Hasim, Sahar & Nickerson, Kenneth & Atkin, Audrey. (2009). Activity And Toxicity Of Farnesol Towards *Candida Albicans* Are Dependent On Growth Conditions. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 54. 940-2. 10.1128/AAC.01214-09.
- Latifah, Latifah (2015) Identifikasi Golongan Senyawa Flavonoid Dan Uji Aktivitas Antioksidan Pada Ekstrak Rimpang Kencur *Kaemferia Galanga L.* Dengan Metode Dpph (1,1-Difenil-2-Pikrilhidrazil). Undergraduate Thesis, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim.
- Manvitha, K., Dan Bidya, B. (2016). Review On Pharmacological Activity Of *Cymbopogon Citratus*. *International Journal Of Herbal Medicine*, 1(6), 5–7.
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2017). *Candida Albicans* Pathogenicity Mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119–128.
- <https://doi.org/10.4161/Viru.22913>
- Mozer, H. 2015. Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol 96% Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea Coromandelica*) Terhadap *Aspergillus Niger*, *Candida Albicans*, Dan *Trichophyton Rubrum*. Skripsi. Fakultas Kedokteran Dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta
- Neville, B. Anne; d'Enfert, Christophe; Bournoux, Marie-Elisabeth (2015). *Candida Albicans* Commensalism In The Gastrointestinal Tract. *FEMS Yeast Research*, (), Fov081 . Doi:10.1093/Femsyr/Fov081
- Ning, Yang; Ling, Junqi; Wu, Christine D. (2015). Synergistic Effects Of Tea Catechin Epigallocatechin Gallate And Antimycotics Against Oral *Candida* Species. *Archives Of Oral Biology*, 60(10), 1565–1570. Doi:10.1016/J.Archoralbio.2015.07.001
- Puspitasari, A., Et Al., 2019. Profil Pasien Baru Kandidiasi. *Periodical Of Dermatology And Venerology*, 31(1), 24-34.
- Sari, R.K., Bertoni, R., & Praptami, T.A. 2013. Kajian Mutu, Nilai Gizi Serta Potensi Pada Antibakteri Dan Antioksidan (Manfaat) Madu Hutan Indonesia. *Jaringan Madu Hutan Indonesia (JMHI)*.
- Shah, Sarita R.; Tatara, Alexander M.; D'Souza, Rena N.; Mikos, Antonios G.; Kasper, F. Kurtis (2013). Evolving Strategies For Preventing Biofilm On Implantable Materials. *Materials Today*, 16(5), 177–

182. Doi:10.1016/J.Mattod.2013.05.003
- Sumarlin, La Ode, Dkk. "Aktivitas Antikanker Dan Antioksidan Madu Di Pasaran Lokal Indonesia". Ilmu Pertanian Indonesia (JIPI) 19, No. 3 (2014): H. 136- 144.
- Zore, G. B., Thakre, A. D., Jadhav, S., & Karuppayil, S. M. (2011). Terpenoids Inhibit Candida Albicans Growth By Affecting Membrane Integrity And Arrest Of Cell Cycle. *Phytomedicine : International Journal Of Phytotherapy And Phytopharmacology*, 18(13), 1181–1190.  
<https://doi.org/10.1016/J.Phymed.2011.03.008>
- Rosyidi, D. et al. (2018) Perbandingan Sifat Antioksidan Propolis pada Dua Jenis madu (*Apis mellifera* dan *Trigona* sp.) di Mojokerto dan Batu, Jawa Timur, Indonesia *Jurnal Ilmu dan Teknologi Hasil Ternak* (2018) 13(2) 108-117
- Bueno-Silva B, Alencar SM, Koo H, Ikegaki M, Silva GVJ, Napimoga MH, et al. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from brazilian red propolis. *J Agric Food Chem.* 2013;61(19):4546–50
- Nijveldt, R.J., Van Nood, E., & Van Hoorn, D.E.C., 2001, Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications, *American Journal of Clinical Nutrition*, 74/4, pp 418-425
- Lee, Y. H., Woo, B., & Kim, Y. (2018). Transformational leadership and organizational citizenship behavior: Mediating role of affective commitment. *International Journal of Sports Science and Coaching*, 13(3), 373–382.  
<https://doi.org/10.1177/1747954117725286>
- Panche, A.N., Diwan, A.D., Chandra, S.R. 2016. Review Article: Flavonoids. *Journal of Nutritional Science*. Vol. 5: 1-15
- Suriawiria, U. 2014. *Sukses Beragrobisnis Jamur Kayu*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Maleki, et.al.,2018. Antibacterial Activity of The fluid of The Iranian *torillis leptophylla* Againsts Some clinical pathogen. *Pakistan Journal of Biological Science*,11,(9),1286-1289



## Lampiran 7 Pernyataan Publikasi

**Arsip: Sub Divisi Skripsi (UPPP)**  
**Form: Skripsi 21**

**FORMULIR PERNYATAAN PUBLIKASI**

Nama Mahasiswa : Ananta Sandi Putra  
NPM : 19700030  
Dosen Pembimbing Utama : Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si  
Dosen Pembimbing Pendamping\*) : dr.Handy Arief,Sp.B,FINACS,FICS  
Dosen Penguji : dr. Inawati, M.Kes  
Judul Naskah/Artikel : UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN  
ANTIBIOFILM MADU  
APIS MELLIFERA TERHADAP *Candida albicans*  
Nama Jurnal Tujuan : Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma  
Surabaya  
*Username* Akun : sandi  
*Password* Akun : 123456ss  
Kesepakatan penulis atas tahapan rencana publikasi artikel yang akan dicapai<sup>1)</sup>:  
1. Submit   
2. Publish

Surabaya, 12 Desember 2022

Mahasiswa



---

Ananta Sandi Putra

Menyetujui,

Pembimbing 1



Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si

NIK. 02333-ET

Penguji



dr. Inawati, M.Kes

NIK. 02349-ET

Pembimbing 2



dr. Handy Arief, Sp.B, FINACS, FICS

NIK : 00305-ET

**Keterangan:**

- 1) Berikan tanda centang untuk tahapan yang sepakat akan diselesaikan oleh para penulis (mahasiswa, Dosen atau lainnya).
  - 2) Dosen Penguji bisa atau tidak dimasukkan sebagai penulis sesuai kesepakatan mahasiswa dan Dosen Pembimbing berdasarkan kontribusi terhadap naskah/artikel yang dipublikasi sebagai bagian dari *Academic Honesty*
- \*) Coret jika tidak ada

**Arsip: Dosen**

**Form: Skripsi 21**

## FORMULIR PERNYATAAN PUBLIKASI

Nama Mahasiswa : Ananta Sandi Putra  
NPM : 19700030  
Dosen Pembimbing Utama : Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si  
Dosen Pembimbing Pendamping\*) : dr.Handy Arief,Sp.B,FINACS,FICS  
Dosen Penguji : dr. Inawati, M.Kes  
Judul Naskah/Artikel : UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN  
ANTIBIOFILM MADU  
APIS MELLIFERA TERHADAP *Candida albicans*  
Nama Jurnal Tujuan : Jurnal Ilmiah Kedokteran Wijaya Kusuma  
Surabaya  
*Username* Akun : sandi  
*Password* Akun : 123456ss  
Kesepakatan penulis atas tahapan rencana publikasi artikel yang akan dicapai<sup>1)</sup>:  
1. Submit   
2. Publish

Surabaya, 12 Desember 2022

Mahasiswa



---

Ananta Sandi Putra

Menyetujui,



Pembimbing 1



Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si

NIK. 02333-ET

Penguji



dr. Inawati, M.Kes

NIK. 02349-ET

Pembimbing 2



dr. Handy Arief, Sp.B, FINACS, FICS


NIK : 00305-ET

Keterangan:

- 1) Berikan tanda centang untuk tahapan yang sepakat akan diselesaikan oleh para penulis (mahasiswa, Dosen atau lainnya).
- 2) Dosen Penguji bisa atau tidak dimasukkan sebagai penulis sesuai kesepakatan mahasiswa dan Dosen Pembimbing berdasarkan kontribusi terhadap naskah/artikel yang dipublikasi sebagai bagian dari *Academic Honesty*

\*) Coret jika tidak ada

Lampiran 8 Sertifikat Etik



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK  
"ETHICAL CLEARANCE"

No. 24 /SLE/FK/UWKS/2022

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

PENELITIAN BERJUDUL:  
UJI EFEKTIVITAS ANTIFUNGI DAN ANTIBIOFILM MADU APIS  
MELLIFERA TERHADAP *CANDIDA ALBICANS*


PENELITI UTAMA:  
ANANTA SANDI PUTRA

UNIT / LEMBAGA / TEMPAT PENELITIAN:  
LABORATORIUM MIKROBIOLOGI RUMAH SAKIT KHUSUS INFEKSI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA

MENYATAKAN:  
" LAIK ETIK "

Surabaya, 8 Februari 2022

Mengetahui,  
Dekan  
  
Prof. Dr. Suhartati, dr. MS

Ketua Unit,  
  
Dr. Erny, dr., Sp.A (K)