

fkuwks

by Aswa Zahrah

Submission date: 09-Jun-2023 12:55PM (UTC+0700)

Submission ID: 2112293237

File name: Proposal_Zahrah_Aswa_Ananta_20700082_5.pdf (2.33M)

Word count: 13105

Character count: 81839

**EFEKTIVITAS MADU *Apis cerana* SEBAGAI
ANTIBIOFILM TERHADAP *Candida albicans***

Skripsi

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh:

Zahrah Aswa Ananta

NPM: 20700082

PROGRAM STUDI KEDOKTERAN FAKULTAS KEDOKTERAN

UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA

SURABAYA

2022-2023

HALAMAN PERSETUJUAN

PROPOSAL SKRIPSI

EFEKTIVITAS MADU *Apis cerana* SEBAGAI ANTIBIOFILM

TERHADAP *Candida albicans*

1
Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

Zahrah Aswa Ananta

NPM : 20700082

Menyetujui untuk diuji

Pada Tanggal : 29 Desember 2022

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si

NIK: 02333-ET

dr. Eva Diah Setijowati, M.Si, med

NIK: 08409-ET

Penguji,

Dr. Sri Lestari Utami, S.Si, M.Kes

NIK: 99289-ET

HALAMAN PERSETUJUAN

SKRIPSI

EFEKTIVITAS MADU *Apis cerana* SEBAGAI ANTIBIOFILM

TERHADAP *Candida albicans*

1
Diajukan Untuk Memenuhi Salah Satu Syarat Guna
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran

Oleh:

Zahrah Aswa Ananta

NPM : 20700082

Menyetujui untuk diuji

Pada Tanggal : 29 Desember 2022

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si

NIK: 02333-ET

dr. Eva Diah Setijowati, M.Si, med

NIK: 08409-ET

Penguji,

Dr. Sri Lestari Utami, S.Si, M.Kes

NIK: 99289-ET

HALAMAN PENGESAHAN
PROPOSAL SKRIPSI
EFEKTIVITAS MADU *Apis cerana* SEBAGAI ANTIBIOFILM
TERHADAP *Candida albicans*

Oleh:

Zahrah Aswa Ananta

NPM: 20700082

1
Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 29 Desember 2022

dan dinyatakan lulus oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si

NIK: 02333-ET

dr. Eva Diah Setijowati, M.Si, med

NIK: 08409-ET

Penguji,

Dr. Sri Lestari Utami, S.Si, M.Kes

NIK: 99289-ET

HALAMAN PENGESAHAN
SKRIPSI
EFEKTIVITAS MADU *Apis cerana* SEBAGAI ANTIBIOFILM
TERHADAP *Candida albicans*

Oleh:

Zahrah Aswa Ananta

NPM: 20700082

1
Telah diuji pada

Hari : Kamis

Tanggal : 29 Desember 2022

dan dinyatakan lulus oleh:

Pembimbing I,

Pembimbing II,

Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si

NIK: 02333-ET

dr. Eva Diah Setijowati, M.Si, med

NIK: 08409-ET

Penguji,

Dr. Sri Lestari Utami, S.Si, M.Kes

NIK: 99289-ET

PERNYATAAN ORISINALITAS

Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri, bebas plagiat, semua sumber baik yang dikutip maupun yang dirujuk telah saya nyatakan dengan benar. Apabila kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi saya, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Surabaya, 29 Desember 2022

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Zahrah' with a stylized flourish below it.

Zahrah Aswa Ananta
NPM : 20700082

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur kehadiran Allah SWT atas berkah, rahmat dan hidayah-Nya yang senantiasa dilimpahkan kepada penulis, sehingga bisa menyelesaikan Tugas Akhir dengan judul “Efektivitas Madu *Apis cerana* Sebagai Antibiofilm Terhadap *Candida albicans*” sebagai syarat untuk menyelesaikan Program Sarjana (S1) pada Program Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya. Penyusunan proposal ini juga dimaksudkan untuk menambah wawasan bagi penulis.

Selama penulisan Tugas Akhir ini tentunya penulis mendapat banyak bantuan dari berbagai pihak yang telah mendukung dan membimbing penulis. Kasih yang tulus serta penghargaan yang setinggi-tingginya kepada:

1. Allah SWT yang telah memberi hikmat dan karuniannya pada penulis sehingga penulis dapat dilancarkan menulis Tugas Akhir ini dengan baik.
2. Prof. Suhartati, dr., MS., Dr., sebagai Dekan Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya yang telah memberikan kesempatan kepada penulis menuntut ilmu di Fakultas Kedokteran Universitas Wijaya Kusuma Surabaya.
3. Dr. Masfufatun, S.Si, M.Si. sebagai Dosen Pembimbing I yang memberikan arahan, bimbingan, serta kasih sayang terhadap saya selama proses pembuatan Tugas Akhir.
4. dr. Eva Diah Setijowati, M.Si, med. sebagai Dosen Pembimbing II yang telah memberikan bimbingan, masukan selama proses pembuatan Tugas Akhir.
5. Dr. Sri Lestari Utami, S.Si, M.Kes. sebagai Dosen penguji Proposal maupun

Tugas Akhir.

6. Kedua Orang Tua, serta Adik saya tercinta yang selalu memberi motivasi, memberikan doa tulus, dan selalu memberikan dukungan penuh selama pembuatan Tugas Akhir.
7. Teman-teman saya yang selalu memberi doa dan dukungan serta memberikan semangat kepada saya dalam menyelesaikan skripsi.
8. Teman hidup saya insyaallah Abdul Aziz yang telah mendampingi saya dan memberikan dukungan dalam proses pembuatan Tugas Akhir.

Penulis menyadari bahwa Tugas Akhir ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan segala bentuk saran serta masukan bahkan kritik yang membangun dari berbagai pihak. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi para pembaca.

Surabaya, 29 Desember 2022

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN PROPOSAL SKRIPSI	ii
HALAMAN PENGESAHAN PROPOSAL SKRIPSI	iii
PERNYATAAN ORISINALITAS	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Tujuan Penelitian	5
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. <i>Candida albicans</i>	7
1. Definisi.....	7
2. Klasifikasi	7
3. Morfologi	8
4. Patogenesis.....	8
A. Biofilm <i>Candida albicans</i>	14
1. Definisi.....	14
2. Tahap Pembentukan	14

3. Patogenesis Biofilm	16
4. Dampak Biofilm	19
5. Antibiofilm	20
B. Madu	22
1. Definisi	22
2. Kandungan dalam Madu	23
3. Farmakologi Madu	24
4. Madu sebagai Antibiofilm	29
5. Uji Antibiofilm	32
BAB III KERANGKA KONSEP	35
A. Penjelasan Kerangka Konsep	36
B. Hipotesis	37
BAB IV METODE PENELITIAN	38
A. Desain Penelitian	38
B. Lokasi dan Waktu Penelitian	38
C. Populasi dan Sampel/Subjek Penelitian	38
1. Populasi dan Sampel	38
2. Besar Sampel	38
D. Variabel Penelitian	39
1. Variabel Bebas	39
2. Variabel Terikat	39
E. Definisi Operasional	40
F. Prosedur Penelitian	41

1. Persiapan Alat dan Bahan	41
2. Tahap Penelitian	42
3. Diagram Penelitian	49
4. Standar Operasional Prosedur (SOP)	49
G. Analisis Data	51

BAB V HASIL DAN ANALISIS DATA

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Madu *A. cerana*
2. Pembuatan Larutan Induk Madu 100%
3. Data Pertumbuhan Matriks Biofilm *C. albicans* Pada Varian
Konsentrasi Madu
 - a. Uji Matriks Biofilm
 - b. Hasil Penentuan Nilai KHBM Konsentrasi Madu *A. cerana* Pada
Matriks Biofilm *C. albicans*

B. Analisis Data

1. Antibiofilm

BAB VI PEMBAHASAN

- A. Pengaruh Madu *A. cerana* Terhadap Pertumbuhan Matriks Biofilm *C. albicans*
- B. Penentuan Nilai KHBM Madu *A. cerana* pada Matriks Biofilm *C. albicans*

BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN

- A. Kesimpulan
- B. Saran

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR LAMPIRAN

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kandidiasis merupakan suatu infeksi mukosa kulit dan organ dalam yang disebabkan karena jamur dari genus *Candida* (Richardson dan Moyes, 2015). *Candida* merupakan flora normal tubuh pada seseorang dengan sistem kekebalan tubuh yang normal namun pembiakan *Candida* dapat terjadi secara berlebihan pada seseorang yang mengalami penurunan sistem imun. Indonesia merupakan salah satu negara yang menjadi faktor resiko penyakit kandidiasis yang menempati urutan ketiga karena Indonesia merupakan negara dengan iklim tropis dengan kelembapan udara yang sangat tinggi sehingga memudahkan untuk pertumbuhan hidup jamur dengan lebih cepat. Kandidiasis ini paling banyak menginfeksi di daerah mulut (kandidiasis oral) dan urogenital (kandidiasis vaginal) (Itsa et al., 2018). Informasi tentang faktor dan karakteristik penyakit kandidiasis masih sangat terbatas. ¹ Prevalensi kandidiasis di Indonesia sekitar 20-25%, dapat menyerang rambut, kulit, kuku, selaput lendir, dan organ lain seperti mulut dan kerongkongan (Puspitasari et al., 2019)

Ada beberapa jenis spesies *Candida* yang sering menginfeksi manusia antara lain disebabkan oleh *Candida albicans* (*C. albicans*), *Candida glabrata* (*C. glabrata*), *Candida tropicalis* (*C. tropicalis*), *Candida parapsilosis* (*C. parapsilosis*), dan *Candida krusei* (*C. krusei*). Namun, infeksi jamur yang paling sering terjadi pada manusia disebabkan oleh *C.*

albicans (Pristov dan Ghannoum, 2019) *C. albicans* merupakan suatu mikroba yang berkoloni di saluran gastrointestinal, saluran reproduksi, rongga mulut, dan kebanyakan di kulit. *C. albicans* bersifat tidak berbahaya dan tetap seimbang pada individu yang memiliki respon imun yang sehat. Namun sebaliknya, jika terjadi perubahan dalam mikroba inang, perubahan respon imun, perubahan lingkungan lokal (misalnya, perubahan pH atau kandungan gizi) dapat menyebabkan pertumbuhan *C. albicans* yang berlebihan dan dapat menyebabkan infeksi pada tubuh manusia (Nobile dan Johnson, 2015).

Infeksi *C. albicans* kedalam tubuh dapat terjadi melalui : (1) mulut sebagai pintu masuk saluran pencernaan, yang selanjutnya menetap menjadi flora normal, dan (2) melalui kateter atau bahan prostetik yang dipasang pada bagian tubuh dalam jangka waktu yang relatif lama. Infeksi cara kedua juga disebut juga dengan infeksi nosocomial atau infeksi terkait perawatan kesehatan (*Healthcare Associated Infections-HCAI*). Permukaan kateter dan bahan prostetik yang basah dan lembab mendukung *C. albicans* untuk melakukan adhesi dan kolonisasi kemudian *C. albicans* memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm sehingga menyebabkan mikroorganisme ini menempel kuat pada permukaan kateter dan sulit dilepaskan. Setelah terbentuk biofilm yang matur, sebagian sel terlepas dan masuk ke dalam tubuh inang, melakukan adhesi pada permukaan sel epitel mukosa, melakukan perubahan morfologi, melakukan invasi ke jaringan tubuh inang di sekitarnya dengan bantuan enzim proteinase (Sap) dan

fosfolipase, menghasilkan mitotoksin dan menyebabkan infeksi sistemik (Sardi et al., 2021; Irfan et al., 2022) Enzim proteolitik dapat mengakibatkan kerusakan ikatan protein sel penjamu sehingga memudahkan proses invasi sedangkan sekresi mikotoksin dapat menekan sistem imun sehingga sistem imun menjadi menurun. Kadar mitotoksin seperti asetaldehid dihasilkan *C. albicans* lebih tinggi ketika berwujud biofilm. Asetaldehid dihasilkan dari katabolisme alkohol bersifat sangat toksik, mutagenik, dan karsinogenik (Masfufatun et al., 2017).

Biofilm merupakan sekumpulan sel mikroba yang diselimuti oleh matriks polimer ekstraseluler. Komposisi biofilm terdiri dari 50-90% matriks polimer ekstraseluler (Homenta et al., 2016). Dalam wujud biofilm, *C. albicans* mampu mengoptimalkan fungsinya untuk mengatur metabolisme sehingga dapat memiliki pertahanan yang lebih baik (Vasudevan, 2014). Akibatnya, *C. albicans* tetap berada dalam tubuh manusia dan terlindungi dari antimikroba dan sistem imun manusia. Selain itu, lingkungan di dalam biofilm mendukung interaksi antar mikroba yang dapat menyebabkan penyebaran resistensi (Kali et al., 2016). Matriks ekstraseluler memberikan perlindungan dari pertahanan imun inang dan obat antijamur. Hal ini menyebabkan terapi kandidiasis kurang maksimal, sehingga diperlukan suatu antibiofilm yang dapat merusak pertahanan biofilm mikroorganisme agar pengobatan yang dilakukan dapat berhasil dan mengurangi insidensi resistensi antibiotik. (Gulati dan Nobile, 2016).

Madu dikonsumsi karena dinilai memiliki nutrisi yang tinggi serta efek yang bermanfaat bagi kesehatan. Madu mempunyai sifat sebagai antioksidan, anti inflamasi, antimikroba, bakteriostatik, serta efek penyembuhan luka yang baik (Fernandes et al., 2021). Komposisi dan sifat fisik yang terdapat di dalam madu dapat berbeda tergantung pada lebah apa yang membuat madu, nektar yang diambil atau perbedaan jenis flora, kondisi iklim serta letak geografis juga mempengaruhi sifat fisik dan komposisi madu (Rao et al., 2016). Madu memiliki daya antimikroba yang dipengaruhi oleh kandungan glukosa tinggi yang ada di dalam madu, tingkat keasaman madu, serta senyawa flavonoid yang dapat mengikat radikal bebas dan melawan agen infeksi yang masuk ke dalam tubuh (Matheos, 2014). Selain itu, madu juga memiliki nutrisi yang penting yaitu karbohidrat yang ada dalam bentuk monosakarida, fruktosa, dan glukosa. (Meo et al., 2017).

Madu dapat digunakan sebagai bahan untuk menghambat biofilm pada bakteri dan jamur. Madu dapat menghambat pertumbuhan biofilm karena memiliki kandungan asam fenolik, tanin, saponin, dan terpenoid (Hartini, 2017). Salah satu jenis madu yang mampu menghambat dan mendegenerasi biofilm terhadap jamur menggunakan madu jujube. Madu jujube merupakan madu yang berasal dari Arab Saudi umumnya digunakan untuk mengobati penyakit infeksi dan ditemukan efektif melawan planktonik *C. albicans*. ¹ Madu jujube dapat mencegah dan menghambat pembentukan biofilm *C. albicans*. Madu jujube dapat menghambat dan

mengganggu perkembangan biofilm terhadap *C. albicans* pada Konsentrasi Hambatan Biofilm Minimum (KHBM) 50% (Ansari et al., 2013).

Penelitian madu sebagai antibiofilm terhadap jamur khususnya *C. albicans* masih sangat terbatas. Oleh karena itu, peneliti tertarik melakukan penelitian lebih lanjut mengenai efektivitas madu dalam menghambat pembentukan biofilm *C. albicans* menggunakan madu *Apis cerana* (*A. cerana*). Pada penelitian ini, madu yang digunakan berasal dari kecamatan Pemangkat, kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. Madu *A. cerana* biasa dikonsumsi warga setempat untuk mengatasi masalah kesehatan.

B. Rumusan Masalah

Bagaimana efektivitas madu *A. cerana* sebagai antibiofilm terhadap *C. albicans*?

C. Tujuan

1. Tujuan Umum

Mengetahui efektivitas madu *A. cerana* sebagai antibiofilm terhadap *C. albicans*.

2. Tujuan Khusus

- a. Menganalisis aktivitas antibiofilm madu *A. cerana* terhadap *C. albicans*.
- b. Menentukan konsentrasi hambatan minimum biofilm (KHBM₅₀) madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan biofilm *C. albicans*.

D. Manfaat Penelitian

1. Manfaat bagi masyarakat

Menambah pengetahuan dan informasi tentang khasiat madu *A. cerana* dalam menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans*.

2. Manfaat bagi institusi

Dapat dijadikan sebagai alternatif pengobatan dalam menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans*.

3. Manfaat bagi peneliti

Menambah pengetahuan dan pengalaman peneliti dalam pemanfaatan madu *A. cerana* dalam menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans*.

4. Manfaat bagi pengembangan ilmu

Dapat dijadikan bahan penelitian lebih lanjut mengenai efek madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan biofilm spesies *Candida* lainnya.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. *Candida albicans*

1. Definisi

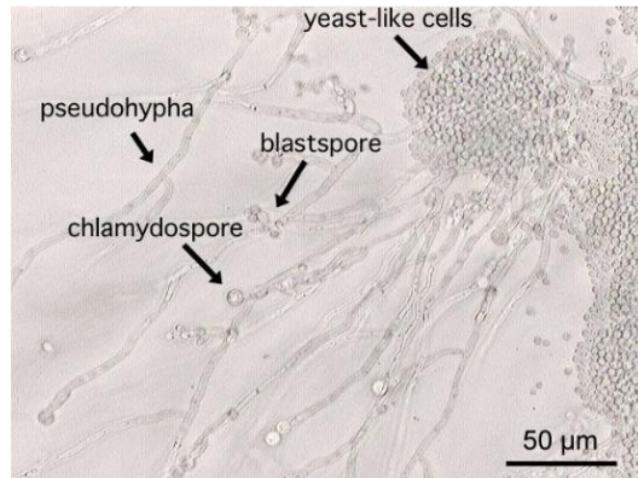
C. albicans merupakan patogen jamur yang menyebabkan infeksi mulai dari infeksi permukaan kulit dan mukosa, serta dapat menyebabkan infeksi sistemik. *C. albicans* merupakan penyebab utama infeksi jamur yang sering terjadi pada manusia (Talapko et al., 2021).

2. Klasifikasi

Taksonomi jamur *C. albicans* adalah sebagai berikut :

- Kingdom : Fungi
- Filum : Ascomycota
- Subphylum : Ascomycotina
- Class : Ascomycetes
- Ordo : Saccharomycetales
- Famili : Saccharomycetaceae
- Genus : *Candida*
- Spesies : *Candida albicans*
- Sinonim : *Candida stellatoide*

(Hameed et al., 2018)



Gambar II.1 *Candida albicans*
Sumber : Risalatul (2016).

3. Morfologi

C. albicans memiliki beberapa bentuk morfologi yaitu ragi (blastospora), pseudohifa dan hifa (Mayer et al., 2013). *C. albicans* berbentuk bulat hingga lonjong, ber dinding lunak, termasuk jamur dengan Gram-positif, dan memiliki ukuran diameter 5 μm . *C. albicans* merupakan jamur dimorfik yaitu jamur yang dapat membentuk morfologi yang berbeda tergantung pada keadaan atau suhu mengikuti kondisi lingkungan (Hameed et al., 2018).

4. Patogenesis

Patogenesis *C. albicans* dipengaruhi oleh kemampuan *C. albicans* untuk menginfeksi inang yang didukung oleh faktor virulensi. Hal tersebut meliputi :

10
a. Morfologi *C. albicans*

C. albicans merupakan jamur dimorfik yang tumbuh baik sebagai ragi tunas berbentuk bulat, sebagai sel elipsoid memanjang dan ada penyempitan pada pseudohyphae. Kondisi lingkungan sangat berpengaruh besar terhadap morfologi *C. albicans*. Pada pH rendah (<6) *C. albicans* akan tumbuh dalam bentuk ragi, sedangkan pada pH tinggi (>7) pada pertumbuhan hifa akan diinduksi. Hal lain yang mendorong pembentukan hifa yaitu sejumlah kondisi termasuk kelaparan, adanya serum atau N-asetilglukosamine, suhu fisiologis dan CO₂ (Mayer et al., 2013).

Pada *C. albicans* terdapat molekul penginderaan kuorum utama termasuk farnesol, tirosol, dan dodekanol. Penginderaan kuorum menyebabkan terjadinya kepadatan sel yang tinggi (> 10⁷ sel) mendorong pertumbuhan ragi, sedangkan kepadatan sel yang rendah (<10⁷ sel) mendukung pembentukan hifa. Transisi antara ragi dan pembentukan hifa disebut dimorfisme. Bentuk hifa telah terbentuk memiliki sifat lebih invasive daripada bentuk ragi (Mayer et al., 2013).

b. Adhesi dan Invasi

Adhesi dan invasi sangat penting untuk keberhasilan *C. albicans* sebagai patogen. Sel ragi *C. albicans* melekat pada epitel dan endothelium dan memicu terjadinya pemanjangan hifa dengan penetrasi aktif selanjutnya yang berasal dari sel inang. Proses ini

dimediasi oleh anggota adhesin dan invasin yaitu oleh gen ALS dan HWP. Adhesi *C. albicans* ke sel epitel diikuti oleh pembentukan hifa, kemudian secara aktif menembus membran plasma sel epitel (Lopes dan Lionakis, 2022).

c. Pembentukan Biofilm

C. albicans memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm pada permukaan abiotik atau biotik. Biofilm ini merupakan struktur yang sangat kompleks sehingga sangat mempengaruhi virulensi jamur. Hampir semua infeksi jamur berkaitan dengan pembentukan biofilm (Atriwal et al., 2021). Biofilm ini dianggap merupakan suatu tempat untuk mikroba yang bersifat sangat kompleks yang terbentuk oleh banyak spesies (multispecies). Pembentukan biofilm ini sangatlah tidak menguntungkan karena merupakan salah satu faktor penting dalam siklus penyakit yang disebabkan oleh *Candida* (Purbowati, 2016).

d. Penginderaan Kontak dan Tigmotropisme

Tigmotropisme merupakan pembentukan hifa yang terarah. Tigmotropisme hifa *C. albicans* dapat terjadi karena diatur oleh penyerapan kalsium ekstraseluler melalui saluran kalsium oleh Cch1, Mid1, dan Fig1. Tigmotropisme *C. albicans* terbukti diperlukan untuk kerusakan penuh pada sel pitel dan virulensi normal. Oleh karena itu, tigmotropisme sangat penting untuk patogenesis *C. albicans* (Mayer et al., 2013).

e. Hidrolase yang Disekresikan

C. albicans juga melakukan sekresi dengan mengeluarkan hidrolase yang berfungsi untuk memfasilitasi penetrasi aktif ke dalam sel. Selain itu, hidrolase yang dikeluarkan dianggap dapat meningkatkan efisiensi perolehan nutrisi ekstraseluler. Tiga macam hidrolase yang disekresikan oleh *C. albicans* yaitu protease, fosfolipase, dan lipase (Mayer et al., 2013).

Keluarga protease yang disekresikan adalah golongan aspartik terdiri dari sepuluh anggota, yaitu Sap 1-10. Sap 1-8 disekresikan ke media pembulatan sedangkan Sap9 dan Sap10 tetap terikat pada permukaan sel. Protease ini menunjukkan peran dalam mendukung faktor virulensi *C. albicans*. Sap pada proteinase telah terbukti memainkan peran pleiotropik baik secara in vitro maupun in vivo. Sap juga menginduksi kerusakan sel epitel sehingga mendorong virulensi jamur, perekrutan neutrofil, dan induksi respon pro-inflamasi (Mayer et al., 2013; Lopes dan Lionakis, 2022).

Keluarga fosfolipase terdiri dari empat kelas yang berbeda (A, B, C, dan D). Namun, hanya lima anggota kelas B (PLB1-5) yang dapat berkontribusi terhadap patogenesis ekstraseluler melalui gangguan membrane inang. Keluarga ketiga yaitu lipase terdiri dari 10 anggota (LIP1-10) namun, LIP8 yang mendukung peran hidrolase ekstraseluler sebagai patogenesis *C. albicans*.

Lipase meningkatkan virulensi pada kandidiasis sistemik (Mayer et al. 2013; Lopes and Lionakis 2022)

f. Adaptasi perubahan pH

Pertumbuhan jamur *C. albicans* dapat tumbuh pada variasi pH yang luas. Pertumbuhan *C. albicans* akan lebih stabil jika tumbuh pada pH antara 4,5-6,5 (Gaib, 2013). Jamur akan lebih cepat tumbuh pada kondisi asam dibandingkan dengan pH normal atau alkali. Percepatan pertumbuhan jamur ini akan menyebabkan peningkatan jumlah jamur yang bisa mengakibatkan terjadinya infeksi (Nuraini et al., 2017).

g. Adaptasi Metabolik dan Perolehan Nutrien

Glukosa merupakan sumber karbon pilihan untuk *C. albicans*. Sebagian besar kolonisasi jamur membatasi glukosa. Adanya jaringan menjadi sumber nutrisi yang membatasi jamur dan dapat menahan jejak nutrisi melalui kekebalan nutrisi. Pembatasan glukosa tersebut menyebabkan *C. albicans* beradaptasi dengan mengatur jalur pemanfaatan karbon alternatif dengan menggunakan asam karboksilat seperti laktat, asam amino, dan N-acetylglucosamine (GlcNAc). Selain itu, *C. albicans* mengembangkan strategi untuk memperoleh mikronutrien dengan cara menghasilkan protein pengikat seng (PRA1). PRA1 dapat mengganggu pertahanan inang (Lopes dan Lionakis, 2022).

h. Respon Stres Lingkungan

Respon stress sangat berkontribusi terhadap kelangsungan hidup dan virulensi *C. albicans*. Respon stress ini berkontribusi dengan cara memfasilitasi kemampuan jamur untuk beradaptasi terhadap perubahan kondisi dan melindunginya dari stress yang berasal dari inang. Jika *C. albicans* mengalami respon stress, akan terjadi kekurangan gen pada pengatur respon stress atau enzim sehingga terjadi kelemahan faktor virulensinya. Respon stress seluler yang muncul dapat berupa sengatan panas, osmotik, oksidatif, dan nitrosatif (Mayer et al., 2013).

i. Resistensi Obat

Resistensi obat pada patogenesis *C. albicans* dapat disebabkan karena respon stress yang ditimbulkan sehingga *C. albicans* menjadi kebal terhadap obat antijamur (Lopes dan Lionakis, 2022). Resistensi yang terjadi menyebabkan terjadinya ketidakefektifan terapi dan infeksi (Purbowati, 2016).

j. Status Imun

Respon imun tubuh terhadap jamur ada dua yang terdiri atas respon alamiah dan respon adaptif. Respon imun alamiah memiliki peran sangat penting karena memiliki peran sebagai barier pertahanan pertama untuk melawan sejumlah patogen atau infeksi yang masuk ke dalam tubuh. Sedangkan respon imun adaptif merupakan lanjutan dari respon alamiah yang berfungsi untuk mengradikasi patogen

yang masuk ke dalam tubuh. Respon adaptif ini membentuk suatu produk akhir yaitu terbentuknya sel memori terhadap antigen spesifik (Ahsani, 2014). Status imun yang mengalami penurunan sangat rentan untuk terjadinya infeksi jamur (Dabas, 2013).

B. Biofilm *Candida albicans*

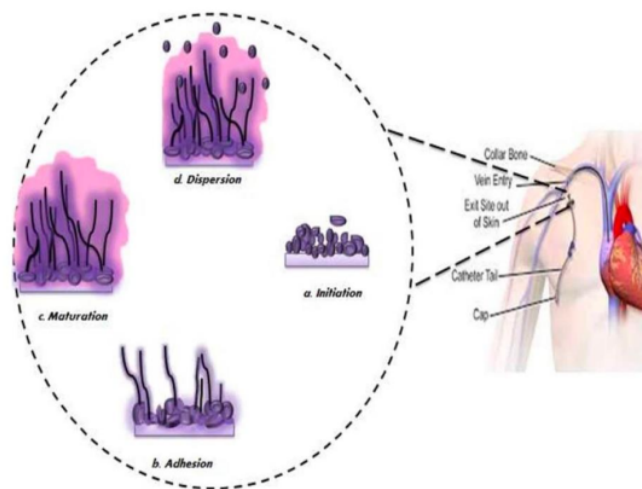
1. Definisi

Biofilm merupakan komunitas mikroba yang terstruktur sangat kompleks melekat pada permukaan yang dikemas dalam matriks ekstraseluler. Biofilm ini terdiri dari struktur kompleks hifa yang terkait dengan abiotik. Ketika biofilm menempel pada permukaan abiotik atau biotik, biofilm akan membentuk ciri karakteristik fenotipik baru. Biofilm bersifat kurang sensitif bahkan tidak sensitif terhadap agen antimikroba seperti jamur dan bakteri. Biofilm yang dibentuk *C. albicans* terdiri dari beberapa jenis sel yaitu sel berbentuk ragi bertunas bulat, sel hifa memanjang, dan sel pseudohyphal oval. Adanya biofilm pada *C. albicans* dikaitkan dengan sifat resistensi dan virulensi dari *C. albicans*. Biofilm memiliki sifat resistensi terhadap obat antijamur sehingga dapat meningkatkan sifat virulensi dari *C. albicans* (Atriwal et al., 2021; Putri dan Masfufatun, 2022).

2. Tahap Pembentukan

Pembentukan biofilm terjadi sekitar 24-48 jam. Tahap pembentukan biofilm terdiri dari 4 langkah, yaitu langkah insiasi, langkah adhesi, langkah maturasi, dan langkah penyebaran. Pada langkah insiasi, satu

sel ragi akan menempel pada substrat untuk membuat fondasi kemudian membentuk lapisan sel ragi dan akan membentuk lapisan basal biofilm. Selanjutnya, diikuti juga dengan fase proliferasi dan filamen sel dimana sel-sel akan menonjol keluar kemudian akan terus tumbuh membentuk struktur filamen sel hifa melalui permukaan adanya produksi hifa ini merupakan tanda dimulainya pembentukan biofilm langkah ini disebut dengan langkah adhesi. Kemudian, rakitan hifa yang telah terbentuk akan membentuk biofilm yang disertai dengan terjadinya pembentukan Matriks Ekstraseluler (ECM) pada biofilm langkah ini disebut langkah maturasi. Terakhir langkah penyebaran dimana sel ragi yang tidak melekat melepaskan diri dari biofilm dan menyebar ke lingkungan baru untuk mencari tempat perlekatan dan memulai Kembali proses pembentukan biofilm baru (Atriwal et al., 2021; Talapko et al., 2021).



Gambar II.2 Tahap Pembentukan Biofilm

Sumber : Atriwal et al (2021).

3. Patogenesis Biofilm

Patogenesis biofilm pada jamur *C. albicans* dipengaruhi oleh beberapa faktor yaitu diantaranya :

a. Matriks Ekstraseluler (ECM)

Matriks ekstraseluler merupakan salah satu fitur biofilm yang memiliki peran penting untuk menjaga sel yang melekat terhadap sistem kekebalan inang dan agen antijamur dengan cara membentuk struktur matriks yang luas. Matriks ekstraseluler terdiri dari sekitar 55% kombinasi glikoprotein dengan 25% total komposisi karbohidrat. Matriks ekstraseluler juga terdiri dari 15% lipid dan 5% asam nukleat. Matriks ekstraseluler juga terdiri dari struktur β -1,3 glukukan yang memberikan perlindungan terhadap struktur biofilm sehingga terjadi resistensi biofilm terhadap obat antijamur karena mencegah kontak dengan sel target (Silva et al., 2017; Atriwal et al., 2021; Talapko et al., 2021).

b. DNA Ekstraseluler dan Faktor Genetik DNA

DNA ekstraseluler ini terdapat di dalam matriks ekstraseluler merupakan kontributor utama untuk stabilitas biofilm *C. albicans*. Ketika pembentukan biofilm diperlukan enzim DNAase. Berbagai komponen faktor genetik seperti *Bcr1* (faktor transkripsi yang diperlukan untuk perlekatan sel jamur ke permukaan biotik), *RImp*, *Brg1*, *Efg1*, *Ndt80*, *Rob1*, *Tec1*, *Fsk1p*, *Smi1p* (memiliki fungsi penyatuan *Fsk1p* dan *RImp*), *Gcr1*, *Mnn4* semua faktor ini

bekerja sama dan berinteraksi dengan gen untuk mengatur dan menghasilkan biofilm. Selain itu, DNA eektraseluler berperan untuk mengikat biofilm ke substrat (Atriwal et al., 2021; Talapko et al., 2021).

c. Penginderaan Kuorum

Penginderaan kourum ini berkaitan dengan sifat ekstraseluler matriks yang memiliki peran sangat penting dalam pembentukan biofilm. Penginderaan kourum ini merupakan mekanisme komunikasi sel-sel yang bergantung pada kepadatan dimana autoinduser (molekul sinyal) akan dilepaskan sebagai respons terhadap peningkatan kepadatan yang meningkatkan atau menekan aktivasi gen atau faktor tertentu. Mikroba berkomunikasi dengan cara menggunakan bahan kimia dan molekul-molekul kecil misalnya, menggunakan *Asil-Homoserine Lakton* (AHL) yang akan memediasi *Qourum sensing* (QS) pada bakteri gram negatif sedangkan bakteri gram positif berkomunikasi menggunakan *autoinducer-2* (AI-2). Mekanisme ini mempengaruhi berbagai aspek mikroorganisme seperti pathogenesis, morfologi, dll. Kuorum berkontribusi dalam pembentukan biofilm (Hidayati dan Liuwan, 2019; Atriwal et al., 2021).

d. Penghindaran Respons Kekebalan Inang

Sistem kekebalan atau sistem imun merupakan garis pertahanan pertama untuk mengenali patogen yang masuk ke dalam

tubuh kemudian memberi sinyal ke organisme inang untuk melakukan pemusnahan sel *C. albicans*. Sistem imun memiliki peran untuk pengenalan dan eliminasi *C. albicans*. Respon imun tubuh terhadap jamur ada dua yang terdiri atas respon alamiah dan respon adaptif. Di sisi lain *C. albicans* mempunyai banyak cara untuk menghindari respon imun agar tetap dapat menginfeksi. Biofilm dewasa memiliki lapisan atas biofilm yang terdiri dari sel hifa yang menutupi komponen dari biofilm. Biofilm dewasa selalu lolos dari respon imun. Selanjutnya, sel hifa yang lolos akan menembus sel epitel dan melarikan diri dari respon imun (Dabas, 2013; Atriwal et al., 2021).

e. Spesies Polimikrobia

Manusia memiliki spesies mikrobiota dalam skala kecil yang mencakup tiga anggota yaitu archaea, bakteri, dan jamur. Mikrobiota yang berlebih akan menyebabkan ketidakseimbangan dalam hubungan simbiosis. Ketidakseimbangan ini dapat terjadi karena faktor genetik atau lingkungan dari inang, perubahan pH, pergeseran imunitas inang, viskositas lapisan mukosa, dan penggunaan agen antimikroba secara luas dan sembarangan yang dapat menyebabkan infeksi tidak proporsional oleh pertumbuhan berlebih dari mikroba (Atriwal et al., 2021). Mikroba yang menyebar dan membentuk biofilm menganggap bahwa biofilm

sebagai sarana untuk pertahanan diri dari berbagai infeksi (Purbowati, 2016).

f. Pompa

Ekspresi pompa yang berlebih dapat menyebabkan terjadinya resistensi obat antijamur pada *C. albicans* karena menyebabkan terjadinya penyerapan obat dengan memompa keluar obat antijamur yang diberikan sebagai pengobatan. Pengobatan tersebut menjadi tidak efektif dan menyebabkan terjadinya resistensi terhadap obat antijamur. Regulasi yang cepat dari pompa penghabisan terjadi selama tahap utama pembentukan biofilm (Atriwal et al., 2021; Talapko et al., 2021).

g. Sel Persister

Sel persister juga berkontribusi terhadap resistensi. Sel persister merupakan subset sel ragi yang tidak penting dengan aktivitas metabolisme minimum yang diasumsikan sebagai varian fenotipik. Sel persister ini sangat resisten terhadap biofilm. Sel-sel persister akan mempertahankan diri dalam tahap tidak aktif. Namun, dalam situasi stress sel persister akan menjadi aktif ke keadaan metabolisme aktif dan memulihkan diri sebagai biofilm. Sel persister melakukan penyerapan obat karena memiliki sifat mematikan (Atriwal et al., 2021).

4. Dampak Biofilm

Dampak adanya biofilm pada *C. albicans* meliputi :

- a. Saat produksi hifa pada tahap pematangan, disertai dengan sekresi zat *Polimer Ekstraseluler* (EPS) dimana pada biofilm *C. albicans* EPS bersifat sangat kompleks memiliki polisakarida utamanya mengandung β -1,6 glukukan dan β -1,3 glukukan yang berperan dalam terjadinya resistensi dalam pengobatan antijamur karena dapat memblokir difusi obat (Pereira et al., 2021).
- b. Pembentukan biofilm *C. albicans* menyebabkan terjadinya peningkatan kadar *Acetaldehyde* (ACH) yang dapat berbahaya bagi organ (Masfufatun et al., 2017).
- c. Biofilm *C. albicans* bersifat sangat resisten terhadap suatu gangguan terhadap sel inang sehingga meningkatkan virulensi *C. albicans* (Masfufatun et al., 2021).
- d. Adanya biofilm *C. albicans* menyebabkan resistensi terhadap obat antijamur sehingga menyebabkan terapi antijamur sulit dan hasilnya kurang optimal (Putri dan Masfufatun, 2022).

5. Antibiofilm

Biofilm merupakan suatu kumpulan sel pada mikroba yang melekat pada permukaan yang terbungkus dalam Matriks Ekstraseluler (ECM). Biofilm merupakan salah satu faktor yang berperan dalam virulensi *C. albicans*. Adanya biofilm menyebabkan terjadinya resisten terhadap obat salah satunya terhadap antibiotik. Biofilm ini

menyebabkan mikroba mampu bertahan terhadap antibiotik sehingga antibiotik gagal untuk melakukan penetrasi menembus biofilm. Akibat keberadaan biofilm ini menyebabkan infeksi mikroba sulit untuk disembuhkan (Fitria et al., 2018).

Pencarian pengobatan alternatif untuk mengendalikan pembentukan biofilm terus dicari. Sebagian besar bahan alam dapat berpotensi sebagai antibiofilm. Bahan alam yang mengandung senyawa terpenoid, steroid, karotenoid, fenolik, tanin, flavonoid, saponin, alkaloid, peptide, lakton, dll dapat berfungsi sebagai antibiofilm. Mekanisme utama suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antibiofilm jika dapat mengganggu pembentukan biofilm dengan cara degradasi komponen polisakarida dan matriks biofilm (*extracellular polymer/EPS*), mengganggu sistem signaling sel bakteri (*quorum sensing/QS*), dan membran sel yang tertanam di dalamnya (Kining et al., 2015).

Dalam penelitian yang dilakukan oleh Asahi *et al* daun teh memiliki kandungan senyawa catechin dan quercetin yang dapat berfungsi sebagai antibiofilm terhadap bakteri. Senyawa catechin bekerja dengan cara merusak biofilm yang sudah terbentuk dan menghambat pembentukan biofilm (Asahi et al., 2014). Selain itu, teh memiliki kandungan senyawa polifenol yang memiliki aktivitas melawan pembentukan biofilm. Pada teh hijau juga mengandung EGCg dan ECg yang dapat menghambat pertumbuhan dan perlekatan biofilm *P.*

gingivitis dengan menekan aktivitas kolagenase dan MMPs, serta meningkatkan integritas keratinosit gingiva untuk melindungi *P. gingivalis* dari invasi (Widyarman, 2020).

Selanjutnya, penelitian yang dilakukan Hidayatul Ulyah *et al* menunjukkan minyak atsiri rimpang bengle mempunyai sifat sebagai antibiofilm. Kandungan utama rimpang bengle yang berperan aktif sebagai antibiofilm adalah terpinen-4-ol. Terpinen-4-ol memiliki kemampuan untuk menghambat pertumbuhan biofilm terhadap mikroba (Ulyah *et al.*, 2015).

Buah kranberi merupakan buah yang memiliki kandungan nutrisi yang tinggi dan kaya akan berbagai senyawa bioaktif seperti flavonol, tanin, flavan-3-ols dan turunan asam fenolat. Senyawa bioaktif flavonol dan *Proanthocyanins* (PACs) yang terkandung dalam buah cranberry memiliki fungsi untuk merusak pembentukan biofilm pada bakteri *S. mutans*. Hambatan pembentukan biofilm PACs bekerja dengan mengurangi hidrofobisitas bakteri, dan membuat perubahan pada permukaan molekul sel bakteri (Widyarman, 2020).

C. Madu

1. Definisi

Madu merupakan bahan alami memiliki rasa yang sangat manis berasal dari nektar tanaman yang didehidrasi oleh lebah. Madu memiliki banyak nutrisi yang sangat baik jika dikonsumsi manusia (Fakhlai *et al.*, 2020). Madu memiliki sifat sebagai antioksidan, anti inflamasi,

antitumor, dan antimikroba. Madu sering digunakan sebagai pengobatan alternatif (Fernandes et al., 2021).

2. Kandungan dalam Madu

Madu memiliki kandungan kompleks yang sangat baik untuk kesehatan. Namun, kandungan di dalam madu dapat berbeda tergantung darimana asal madu, letak geografis, kondisi iklim, pengelolaan madu saat panen, dan penyimpanan madu (Escuredo dan Seijo, 2019).

a. Vitamin

Madu mengandung beberapa jenis vitamin yaitu vitamin A (retinol), vitamin E (tokoferol), vitamin K (antihemoragik), vitamin B1 (tiamin), vitamin B6, vitamin C (asam askorbat), vitamin B2, vitamin B6 (Inayah et al., 2012).

b. Mineral

Madu juga memiliki banyak kandungan zat mineral antara lain natrium (Na), kalsium (Ca), kalium (K), magnesium (Mg), klorin (Cl), zat besi (Fe), zink (Zn), fosfor (P), aluminium (Al) dan lain-lain (Inayah et al., 2012; Wulandari, 2017).

c. Enzimatik dan Nonenzimatik

Madu memiliki kandungan yang berasal dari zat enzimatik dan non enzimatik. Enzim utama yang terkandung dalam madu adalah enzim invertase, diastase (amilase), katalase, asam fosfatase, dan glukosa oksidase. Di dalam madu juga terdapat asam glukonat yang merupakan asam organik utama madu yang berasal dari asam

enzimatik maleat, oksalat, piroglutamat, dan terutama berasal dari oksidasi glukosa. Selain itu, zat nonenzimatik yang terkandung dalam madu misalnya asam askorbat, α -tokoferol, karotenoid, asam amino, protein, asam fenolat, flavonoid, dll (Wulandari, 2017; Zaid et al., 2021).

d. Molekul Gula

Kandungan utama di dalam madu terdiri dari beberapa molekul gula terdiri dari 38% fruktosa, 31% glukosa, dan sedikit campuran kompleks disakarida, trisakarida, maltose, maltulosa, fruktosa, dan polisakarida. Kandungan molekul gula dalam madu berperan sebagai antibakteri (Yulianti, 2017; Zaid et al., 2021).

3. Farmakologi Madu

Madu memiliki sifat farmakologis yang bervariasi, yaitu diantaranya:

a. Antioksidan

Madu memiliki peran dalam mencegah kerusakan sebagai agen oksidan. Fungsi antioksidan alami belum dapat dipahami sepenuhnya, namun penelitian menggambarkan fungsi madu memiliki bahan yang sangat reaktif dari oksigen yang disebut radikal bebas. *Spesies Oksigen Reaktif* (ROS) dihasilkan selama proses metabolisme. Bahan-bahan reaktif ini berinteraksi dengan komponen lipid dan protein di membrane sel, enzim, dan DNA. Interaksi yang ditimbulkan dapat menyebabkan berbagai penyakit.

Namun, dengan adanya antioksidan ini dapat mencegah radikal bebas sebelum mereka dapat merusak (Samarghandian et al., 2017).

Sifat antioksidan madu dapat dilihat dari tingkat kecerahan madu. Madu yang memiliki warna gelap memiliki sifat antioksidan yang tinggi sedangkan madu yang cerah memiliki sifat antioksidan yang rendah. Senyawa fenolik merupakan senyawa yang menjadi faktor utama yang berperan untuk aktivitas antioksidan madu karena tingkat fenolik terkait dengan kemampuan aktivitas absorbansi radikal madu (Samarghandian et al., 2017). Kandungan nutrisi madu yang memiliki peran sebagai antioksidan adalah vitamin C, vitamin B3, asam organik, enzim, asam fenolik, flavonoid, vitamin A, dan vitamin E. (Inayah et al., 2012).

b. Antimikroba

Madu sebagai antimikroba dilihat dari beberapa faktor antara lain tekanan osmotik yang tinggi, pH rendah menandakan bahwa lingkungan asam, kandungan protein rendah, rasio karbon terhadap nitrogen tinggi, potensi redoks rendah karena tingginya kadar gula pereduksi, dan viskositas membatasi oksigen terlarut atau bahan kimia lainnya. Beberapa penelitian menunjukkan aktivitas antibakteri madu dipengaruhi oleh konsentrasi penghambatan minimum. Oleh karena itu, madu harus memiliki konsentrasi penghambatan minimum yang tepat dan sesuai untuk menghambat pertumbuhan bakteri secara sempurna. Sejumlah penelitian juga

telah membuktikan bahwa madu efektif untuk aktivitas antibakteri pada bakteri patogen dan jamur (Samarghandian et al., 2017).

Madu sebagai antimikroba juga dipengaruhi oleh kandungan madu yang terdapat flavonoid. Selain itu, madu juga mengandung gugus hidroksil seperti hidron peroksida yang berperan dalam penghambatan pertumbuhan mikroba. Madu juga bersifat antimikroba karena tersusun dari beberapa molekul gula seperti glukosa dan fruktosa serta sejumlah mineral dan vitamin. Madu juga mengandung asam fenolik, tanin, minyak atsiri, sapanoid yang berperan sebagai antimikroba (Nadhilla, 2014; Hartini, 2017).

c. Aktivitas Apoptosis Sel

Apoptosis sel berhubungan dengan sel kanker. Munculnya sel kanker ditandai dengan pergantian apoptosis sel yang tidak adekuat dan proliferasi sel yang tidak terkontrol. Madu digunakan untuk membuat apoptosis sel pada berbagai jenis sel kanker dengan cara depolarisasi pada membrane mitokandria. Sifat apoptosis yang dimiliki madu membuatnya menjadi bahan alami pengobatan sebagai agen anti-kanker atau digunakan sebagai agen penginduksi apoptosis sel (Samarghandian et al., 2017).

d. Anti-inflamasi dan Imunomodulator Peradangan Kronis

Peradangan kronis dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan menghambat proses penyembuhan. Menurut beberapa literatur, madu mempunyai sifat sebagai anti-inflamasi karena madu memiliki

kandungan fenolik yang bertanggung jawab atas efek anti-inflamasi. Selain itu, madu juga mengandung senyawa flavonoid kemudian senyawa flavonoid dan senyawa fenolik akan menyebabkan penekanan aktivitas *pro-inflamasi Siklooksigenase-2* (COX-2) dan *Inducible Nitric Oxide Synthase* (iNOS). Kandungan ³ iNOS, *ornithine decarboxylase*, *tyrosine kinase*, dan COX-2 diindikasikan terlibat dalam regulasi protein. Kemudian, berbagai jenis kandungan madu seperti ³ *necrosis factor alpha*, *Interleukin-1 beta*, dan produksi IL-6 dipercaya mampu menginduksi tumor (Samarghandian et al., 2017).

Madu memiliki kandungan asam lemak rantai pendek (SCFA) yang bertindak sebagai imunomodulator. Madu juga dapat menginduksi respon imun melalui zat gula yang difermentasi salah satu zat gula yaitu nigerooligosaccharides yang memiliki efek sebagai imunopotensiasi. Selain itu, bahan yang bukan gula yang terkandung dalam madu juga berperan untuk imunomodulasi (Samarghandian et al., 2017).

e. Antibiofilm

Senyawa madu yang memiliki potensi sebagai antibiofilm yaitu flavonoid, terpenoid, fenolik, dan tanin. Senyawa flavonoid bekerja dengan cara menghambat aktivitas enzim dan mengganggu proses metabolisme mikroba. Flavonoid juga bekerja dengan cara mengganggu fungsi membran mikroba dan mampu menghambat

tahap adhesi yaitu tahap perlekatan mikroba pada permukaan sehingga terjadi penurunan kemampuan untuk melekat pada mikroba (Hartini, 2017).

Senyawa ⁷terpenoid terbagi menjadi 8 kelas yaitu monoterpenoid, sesquiterpenoid, hemiterpenoid, politerpenoid, sesterpenoid, diterpenoid, tertrapenoid, dan triterpenoid. Terpenoid ini telah dibuktikan memiliki kemampuan sebagai antimikroba terhadap patogen yang memiliki resistensi terhadap obat, baik terhadap bakteri dan jamur. Terpenoid mampu menghambat dua proses penting terhadap mikroba, yaitu menghambat pengambilan oksigen dan menghambat mekanisme fosforilasi oksidatif. Selain itu, terpenoid juga mampu menyebabkan kerusakan membran pada mikroba, menghambat faktor virulensi *C. albicans*, dan dapat menghambat pertumbuhan biofilm (Lahiri et al., 2019; Mahizan et al., 2019).

Fenolik atau yang sering disebut ⁷asam fenolat memiliki gugus satu asam karboksil fungsional dan asam terhidroksilasi yang merupakan turunan benzoikum misalnya asam galat, *protocatechuic* dan *p-hydroxybenzoicacids*. Asam fenolat ini memiliki potensi sebagai antibiofilm dengan cara ⁷menghambat sintesis fimbria, menurunkan produksi matriks ekstraseluler, dan mengganggu proses *quorum sensing* (QS). Selain itu, asam galat dan asam ferulat

pada senyawa fenolik juga dapat menyebabkan perubahan membran pada mikroba (Borges et al., 2012).

Tanin sebagai antibiofilm bekerja dengan cara mengikat reseptor permukaan mikroba sehingga mempengaruhi kemampuan mikroba untuk melekat pada permukaan ini juga disebut dengan antiadhesive. Selain itu, tanin juga dapat menghancurkan maktriks ekstraseluler pada biofilm dan merusak membrane bakteri. Tanin juga dapat menghambat ¹⁰ pembentukan biofilm (Trentin et al., 2013; Kining et al., 2016; Dong et al., 2019).

4. Madu Sebagai Antibiofilm

Madu sebagai antibiofilm dipengaruhi oleh kandungan madu yang terdapat flavonoid. Madu juga mengandung asam fenolik, tanin, sapanoid, terpenoid yang berperan sebagai antibiofilm (Nadhilla, 2014; Hartini, 2017). Dalam penelitian Ansari *et al* madu jujube diketahui efektif untuk menghambat pembentukan biofilm *C. albicans* karena madu jujube diketahui mengandung senyawa fenolik dan flavonoid yang dapat berpengaruh terhadap struktur biofilm *C. albicans*. Madu jujube merupakan madu yang berasal dari Arab yang digunakan untuk nutrisi dan terapi (Ansari et al., 2013).

Penelitian menggunakan madu lebah Pakistan yang berasal dari lebah *Apis dorsata* dan *A. cerana* menunjukkan bahwa sampel madu memiliki potensi sebagai penyebaran antibiofilm terhadap bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*,

Morganella morganii dan *Klebsiella Pneumoniae*. Selain itu, potensi fitokimia yang terdapat didalam madu *Apis cerana* memiliki potensi antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan madu *Apis dorsata* yaitu mengandung kandungan fenolik, flavonoid, daya pereduksi besi, dan intensitas warna yang tinggi sehingga memiliki potensi sebagai penghambat dalam pembentukan biofilm (Liaqat et al., 2022).

Penelitian menggunakan madu sumra yang berasal dari Saudi menunjukkan bahwa madu sumra memiliki aktivitas antimikroba. Madu sumra memiliki potensi sebagai penghambatan biofilm sebesar 59% untuk *Bactilus subtilus*, 48% untuk *S. aureus*, 38% untuk *E. coli*, dan 33,63% untuk *P. aeruginosa*. Kemampuan madu sumra sebagai antibiofilm itu dinilai dari kemampuannya untuk mempengaruhi adhesi atau penempelan ke permukaan mengalami penurunan (Bazaid et al., 2022).

Ekstra etanolik dari madu propolis juga memiliki efek sebagai penghambat terhadap pertumbuhan dan perlekatan biofilm *S. Mutans*, *Lactobacilli*, *P. intermedia*, *P. gingivals*, *A. israelii*, dan *C. albicans*. Propolis memiliki senyawa yang memiliki sifat biologis dengan mempengaruhi viabilitas bakteri senyawa tersebut yaitu flavonoid, turunan asam sinamik, apigenin, dan *trans-trans farnesol* (tt-farnesol). Senyawa tt-farnesol ini dianggap mampu mengurangi viabilitas sel dan dapat merusak integritas membran dan biofilm (Widyarman, 2020).

Madu portugis juga memiliki kemampuan sebagai antibiofilm.

³ Penelitian yang dilakukan oleh Fernandes *et al* menunjukkan bahwa madu portugis mempunyai sifat fitokimia yang mirip dengan madu manuka. Madu portugis dan madu manuka memiliki kandungan flavonoid dan fenolik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan biofilm *Candida*. Madu portugis dapat menghambat pertumbuhan biofilm pada *C. tropicalis* (Fernandes et al., 2021).

Dalam penelitian yang dilakukan menggunakan lima jenis madu yaitu madu Jarrah, madu Kelulut, madu Gelam, madu Akasia dan madu Manuka bahwa semua madu ini memiliki kemampuan secara efektif untuk menghambat pertumbuhan *P. aeruginosa* dan *S. pyogenes*. Dalam pemeriksaan *Scanning Electron Microscopy* (SEM) mengungkapkan bahwa semua madu memiliki potensi untuk memberikan perubahan morfologi sel mikroba, kerusakan sel, menyebabkan lisis pada sel, dan menyebabkan gangguan biofilm. Namun, diantara semua madu yang diuji madu manuka memiliki efek yang sangat tinggi terhadap pertumbuhan sel planktonik dan biofilm terutama pada *P. aeruginosa* dan *S. pyogenes*. Dalam penelitian ini menunjukkan konsentrasi madu yang tinggi diperlukan untuk menghilangkan biofilm yang ada (Al-Kafaween dan Al-Jamal, 2022)

5. Uji Antibiofilm

Identifikasi biofilm dapat dilakukan dengan menggunakan beberapa metode, yaitu :

a. Metode Mikrotiter Plate (MTP)

Metode MTP termasuk metode baku emas untuk deteksi biofilm yang melekat pada permukaan abiotik merupakan metode kuantitatif. Pengukuran menggunakan MTP dilakukan dengan cara membaca nilai OD yang dihasilkan *microplate* dibaca menggunakan alat ELISA. Biofilm yang melekat diwarnai dengan larutan kristal violet. Metode MTP ini memiliki beberapa keuntungan yaitu hasil penempelan biofilm yang relatif tinggi, memberikan perlindungan untuk mikroba yang menempel kurang sempurna, dan bisa dilakukan evaluasi perbedaan efek dari setiap perlakuan untuk dilihat penempelan atau pembentukan biofilm yang terjadi. Namun, metode MTP ini juga memiliki kekurangan yaitu sulit untuk mempelajari sifat resistensi dan struktur biofilm (Jesus dan Dedeles, 2020)

b. Pemeriksaan *Scanning Electron Microscopy* (SEM)

Pemeriksaan SEM dilakukan dengan cara sedikit modifikasi. Metode SEM mampu mendeteksi biofilm dengan menghasilkan gambar 3 dimensi bersifat molekuler dengan sangat spesifik. Namun, pemeriksaan biofilm menggunakan metode SEM memiliki kekurangan yaitu biaya yang sangat mahal (Kirmusaoglu, 2019)

c. ⁷ Metode Tabung

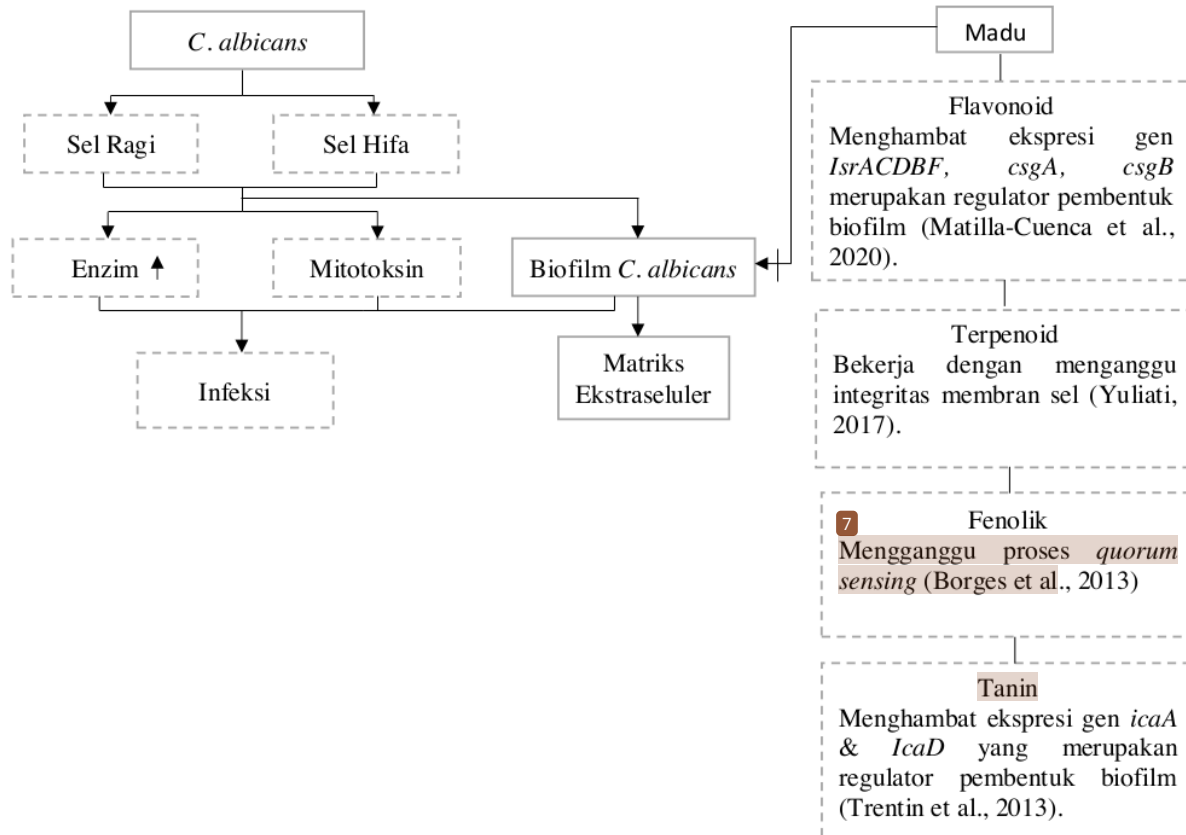
Metode tabung merupakan metode uji biofilm yang termasuk metode kualitatif. Metode ini dilakukan dengan cara mengamati bagian dasar tabung dengan melihat garis biofilm yang terbentuk. Jika ada pembentukan biofilm dinilai positif jika dengan indikasi terbentuknya cincin biofilm melapisi airfluid border (batas antara medium cair dan udara dalam tabung). Metode ini dapat digunakan untuk mengevaluasi Kadar Hambat Biofilm Minimal (KHBM). Keuntungan dari metode ini adalah akan didapatkan larutan uji dengan kadar terkecil yang terlihat tanpa adanya pertumbuhan mikroba uji yang ditetapkan sebagai KHBM. Metode tabung ini memiliki banyak keunggulan yaitu hemat dalam hal biaya dan prosedur kerja yang sangat mudah untuk dilakukan dibanding dengan pemeriksaan lain (Trivedi dan Gomathi, 2016; Kusumaningrum et al., 2019).

d. Congo Red Agar Method (CRA)

Metode ini digunakan untuk mengetahui pembentukan biofilm termasuk kedalam metode kualitatif sederhana dan merupakan metode uji biofilm secara in vitro. Metode CRA merupakan salah satu pemeriksaan biofilm yang mudah dan cepat untuk dilakukan. Selain itu, hasil analisis lapisan biofilm yang terbentuk menggunakan metode CRA lebih tinggi. Untuk mendeteksi biofilm yang terbentuk menggunakan metode CRA

dilihat berdasarkan kemampuan pewarna media untuk memberikan warna hitam pada polisakarida. Isolat yang menghasilkan koloni hitam dianggap sebagai produsen biofilm yang kuat. Koloni gelap tanpa morfologi dan koloni kristal kering menunjukkan produksi biofilm yang sedang. Untuk produsen biofilm yang lemah menunjukkan warna koloni merah muda gelap (Kaiser et al., 2013; Lebeaux et al., 2013).

BAB III
KERANGKA KONSEP



Gambar III.1. Kerangka Konsep Penelitian

Keterangan

Diteliti :

Tidak Diteliti :

Menghambat :

A. Penjelasan Kerangka Konsep

Berdasarkan gambar diatas dapat dijelaskan kerangka konsep penelitian sebagai berikut :

C. albicans terdiri dari sel ragi bertunas bulat dan sel hifa memanjang. ⁴ Bentuk hifa memiliki kemampuan untuk melakukan invasi ke jaringan atau organ yang lebih dalam dengan fasilitas beberapa enzim yaitu dengan enzim *secreted aspartyl proteinase (Sap)* sehingga meningkatkan kemampuan *C. albicans* untuk melakukan kolonisasi. Selain itu, bentuk hifa dan ragi juga menghasilkan enzim proteolitik dan mitotoksin. Enzim proteolitik dapat mengakibatkan kerusakan ikatan protein sel penjamu (*host*) dan memudahkan proses invasi sedangkan sekresi mikotoksin dapat menekan sistem imun sehingga sistem imun menjadi menurun. Adanya enzim proteolitik dan mitoksin menyebabkan terjadinya infeksi *C. albicans*. Dalam kondisi tertentu, *C. albicans* akan berkumpul menjadi sebuah koloni dan memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm. Biofilm merupakan komunitas mikroba yang terstruktur sangat kompleks melekat pada permukaan yang dikemas dalam matriks ekstraseluler. Matriks Ekstraseluler memiliki peranan penting dalam biofilm *C. albicans* (Pierce et al., 2017; Atriwal et al., 2021; Putri, 2022). Biofilm *C. albicans* tersusun atas matriks ekstraseluler yaitu 50-90%. Adanya matriks ekstraseluler ini memberikan perlindungan dari pertahanan imun inang dan obat anti jamur

sehingga menyebabkan terjadi resistensi obat antijamur (Homenta et al., 2016).

Madu memiliki banyak manfaat bagi kesehatan antaranya yaitu bersifat sebagai antioksidan, antimikroba, aktivitas apoptosis sel, dan anti-inflamasi (Samarghandian et al., 2017). Selain itu, madu memiliki beberapa senyawa yang dianggap berpotensi sebagai antibiofilm. Senyawa madu yang memiliki potensi sebagai antibiofilm yaitu flavonoid, terpenoid, fenolik, sapanoid, dan tanin.

B. Hipotesis

Terdapat efektifitas madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan biofilm *Candida albicans*.

BAB IV

² METODE PENELITIAN

A. Desain Penelitian

Penelitian ini menggunakan desain penelitian *true eksperimental* dengan pendekatan *Post-Test Only Control Group* Desain dengan metode microplate untuk mengetahui efek antibiofilm madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian uji aktivitas antibiofilm madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan ²*C. albicans*. Dilaksanakan di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi (RSKI) Universitas Airlangga pada bulan Februari-Maret 2023.

C. Populasi dan Sampel/Subjek Penelitian

1. Populasi dan Sampel

Populasi dan sampel penelitian ini menggunakan biakan *C. albicans* yang tersedia ²di Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga.

2. Besar Sampel

Perhitungan jumlah sampel pengaruh pemberian madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan biofilm *C. albicans* menggunakan ⁷rumus Federer sebagai berikut :

Rumus Federer

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

Keterangan :

n = banyak pengulangan

t = jumlah kelompok

= 8

Jumlah kelompok yang digunakan adalah 8, terdiri atas enam kelompok perlakuan dan dua kelompok kontrol

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

$$(8-1)(n-1) \geq 15$$

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

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3,14$$

Pada penelitian ini, kelompok perlakuan dan kelompok kontrol dilakukan pengulangan sebanyak 4 kali sehingga total sampel yang diperoleh adalah sebanyak 32.

D. Variabel Penelitian**1. Variabel Bebas**

Variabel bebas penelitian ini adalah konsentrasi madu *A. cerana*.

2. Variabel Terikat

Variabel terikat penelitian ini adalah pertumbuhan biofilm *C. albicans*.

E. Definisi Operasional

Tabel III.1: Definisi Operasional

No	Variabel	Definisi Operasional	Kategori dan Kriteria	Alat Ukur	Skala
1	Pertumbuhan triks biofilm <i>C. albicans</i>	Biofilm merupakan komunitas mikroba terstruktur sangat kompleks melekat di permukaan dikemas dalam matriks ekstraseluler. Pertumbuhan biofilm <i>C. albicans</i> diukur dari matriks biofilm yang terbentuk menggunakan kristal violet. Kristal violet ini berikatan dengan matriks biofilm <i>C. albicans</i> menghasilkan warna ungu. Intensitas warna ungu mencerminkan ketebalan matriks biofilm. Secara kuantitatif, intensitas ini diukur melalui nilai absorbansi yang dibaca menggunakan <i>ELISA-Reader</i> . Nilai OD yang dihasilkan merupakan banyaknya matriks biofilm yang terbentuk.	Matriks biofilm	ELISA reader	Rasio
2	Konsentrasi madu <i>Apis cerana</i>	Konsentrasi madu merupakan kepekatan madu <i>A. cerana</i> dibuat dengan cara dilakukan pengenceran berseri dari larutan induk madu 100% sehingga diperoleh konsentrasi madu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, 1,525%. Madu <i>A. cerana</i> yang digunakan dalam penelitian ini didapatkan dari peternak lebah yang berasal dari kecamatan Pemangkat, kabupaten Sambas, Kalimantan Barat.	50% 25% 12,5% 6,25% 3,125% 1,525%	Mikropipet	Rasio

F. Prosedur Penelitian

1. Persiapan Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian adalah cawan petri, autoklaf, inkubator, aluminium foil, gelas ukur, erlenmeyer, kertas cakram, jarum ose, tabung reaksi, rak tabung reaksi, pinset, mikroskop, kaca preparat, pipet tetes, kapas, jangka sorong, ELISA reader, microtiter plate 96 well, bunsen, timbangan, shaker, laminar.

b. Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah kristal violet 0,2 ml, aquadest steril, biakan *C. albicans*, flukonazol, media SDA, media SDB, spirtus, alkohol 75%, methanol, media RPMI 64, dan madu *A. cerana*.

c. Alat Pelindung Diri

Alat pelindung diri yang digunakan peneliti dalam penelitian ini adalah masker, *handscoon*, dan jas laboratorium.

d. Sterilisasi Alat dan Bahan

Sterilisasi dianggap penting saat melakukan penelitian supaya mendapatkan data yang akurat yang tidak terkontaminasi dengan jamur lain. Untuk sterilisasi alat dapat menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit (Patabang et al., 2022).

e. Pembuatan Media

1) Pembuatan Media SDA

Sabouroud Dekstrosa Agar (SDA) sebanyak 6,5 gram dilarutkan dalam 100 ml aquadest dalam 250 ML erlenmeyer kemudian dihomogenkan dengan cara diaduk. Media disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan 2 atm selama 15-20 menit, kemudian selanjutnya dituang ke dalam petri dan dinginkan hingga media menjadi padat (Lestari et al., 2019).

2) Pembuatan Media SDB

Pembuatan media cair dilakukan dengan cara mensuspensikan 3 gram *Sabourand Dextrose Broth* (SDB) kedalam 100 mL akuades menggunakan tabung erlenmeyer 100 mL. Kemudian medium dicampur dengan cara dipanaskan sampai mendidih. Kemudian dilakukan sterilisasi di autoklaf selama 15 menit, pada suhu 121°C, tekanan 2 atm.

2. Tahap Penelitian

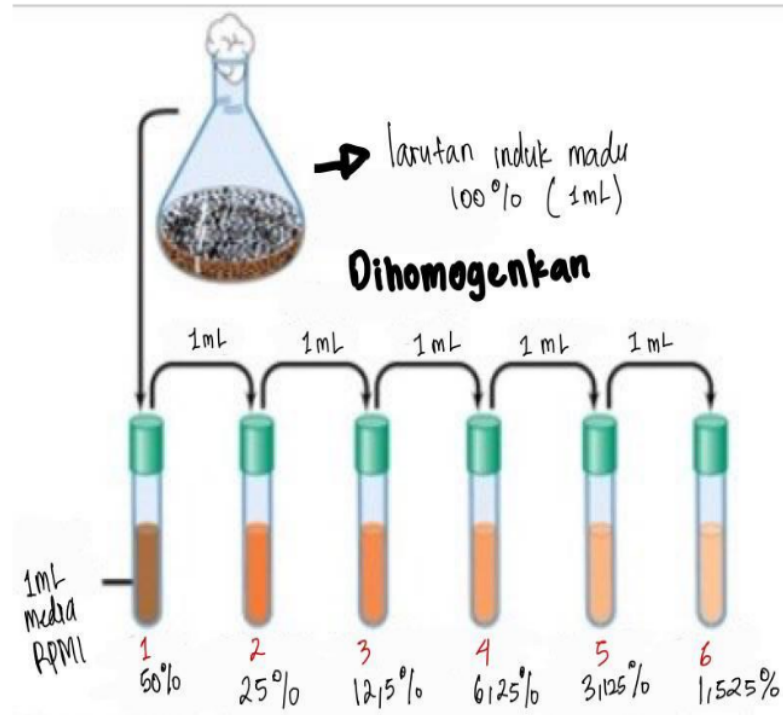
a. Pembuatan Larutan Induk Madu

Pembuatan larutan induk madu dilakukan dengan cara mengambil larutan induk madu dengan konsentrasi 100% sebanyak 10 gr kemudian dilarutkan dengan akuades sebanyak 10 ml.

b. Pembuatan Konsentrasi Larutan Madu

Dilakukan pengenceran berseri menggunakan larutan madu 100%. Enam tabung reaksi diisi dengan 1 mL media RPMI. Pada

tabung ke-1 ditambahkan 1 ml larutan madu 100% (1:1) kemudian dihomogenkan dengan cara pipetting sehingga diperoleh konsentrasi madu 50%. Larutan pada tabung 1 diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam tabung 2 dan dihomogenkan sehingga diperoleh konsentrasi madu 25%. Lakukan cara yang sama sampai tabung ke-6 sehingga diperoleh konsentrasi larutan madu berikutnya yaitu 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,525%.



Gambar IV.1 Pembuatan Larutan Induk dan Konsentrasi

Madu

c. Proses Regenerasi *C. albicans*

Koloni *C. albicans* dipindahkan dari media *Sabourand Dextrose Agar* (SDA) lama ke media SDA baru dengan cara menggoreskan koloni atau disebut juga dengan metode streak plate. Kemudian media SDA yang baru diinkubasi pada suhu 37°C selama 48 jam. Sediaan *C. albicans* dapat disimpan di kulkas selama berbulan-bulan dan setiap 2 bulan sekali diganti dengan media SDA baru.

d. Pembuatan Inokulum *C. albicans*

Koloni *C. albicans* diambil menggunakan jarum ose steril sebanyak 1 ose dari media SDA baru dan dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer yang berisi 10mL *Sabourand Dextrose Broth* (SDB) dan selanjutnya diagitasi dengan kecepatan 150 rpm selama 18-24 jam pada suhu kamar. Setelah 18-24 jam, isi erlenmeyer akan berubah menjadi keruh yang merupakan inokulum *C. albicans*.

e. Panen Inokulum *C. albicans*

Inokulum *C. albicans* dipindahkan ke dalam tabung sentrifus dan disentrifugasi 3000 rpm selama 15 menit. Pelet yang dihasilkan dipisahkan dari supernatant dan disuspensi dengan 10 mL buffer *Phosphate Buffer Saline* (PBS) dan selanjutnya divortex. Lakukan hal yang sama (sentrifus dan pencucian) sebanyak dua kali. Pelet hasil sentrifus terakhir diresuspensi dengan ditambahkan 10 mL PBS dan divortex serta dibaca ODnya dengan ELISA reader sampai

OD nya 0,5. Jika OD lebih dari 0,5 maka dilakukan pengenceran dengan menggunakan akuades. Suspensi *C. albicans* yang telah memperoleh OD 0,5 siap digunakan untuk uji antibiofilm.

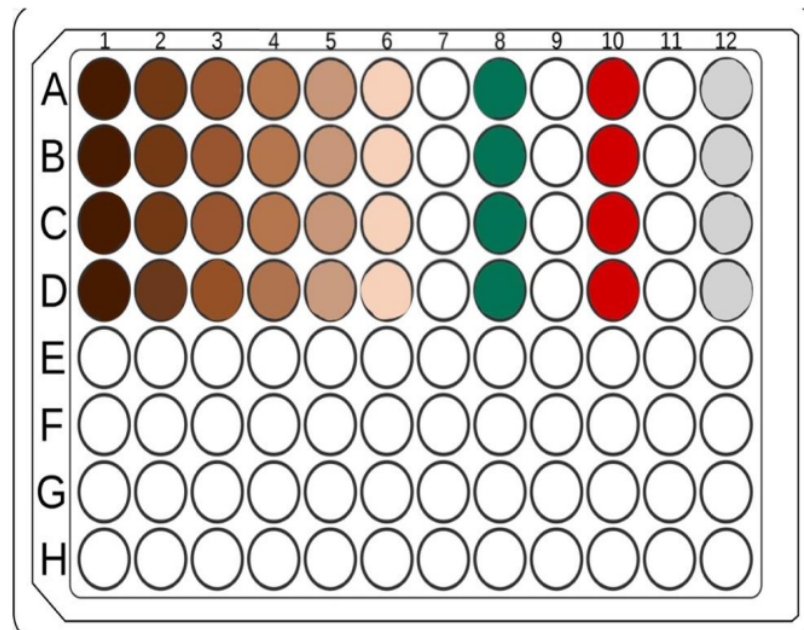
f. ² Pembentukan Biofilm *C. albicans*

Pembentukan biofilm *C. albicans* dimulai dari tahap adhesi atau perlekatan *C. albicans* pada *microplate*. Sebanyak 200 µl suspensi *C. albicans* dimasukkan kedalam sumuran pada kolom 1-6, 8, dan 10 pada baris A-D dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 90 menit. Setelah 90 menit, *microplate* dibalik dan dituangkan pada tissue ⁷ untuk menghilangkan sel-sel planktonik *C. albicans* yang tidak menempel pada *microplate*.

Kemudian pada kolom 1-6 ditambahkan 200 µl madu didalam media RPMI dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 50%, 25%, 12,5%, 6,25%, 3,125%, dan 1,525%. Pada kelompok kontrol positif, yaitu kolom 8 baris A-D ditambahkan (200 µl flukonazol 1 mg/ml) sedangkan untuk kontrol negatif, yaitu kolom 10 baris A-D ditambahkan (200 µl media RPMI). Sebagai blanko, kolom 12 diisi 200 µl media RPMI. Selanjutnya *microplate* yang berisi madu, flukonazol, dan media RPMI ini diinkubasi selama 48 jam pada suhu 37 °C sehingga terbentuk biofilm *Calbicans* yang melekat pada dasar *microplate*.

g. Uji Matriks Biofilm *C. albicans*

Setelah diinkubasi 48 jam, *microplates* dibalik 180⁰ diatas ² tissue dan dilakukan pencucian menggunakan PBS sebanyak dua kali. Setelah dicuci, dilakukan fiksasi menggunakan methanol dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 15 menit. Kemudian, diwarnai dengan 0,1% kristal violet sebanyak 200 µl dan diinkubasi selama 5 menit. Selanjutnya, *microplates* dibalik dan dilakukan pencucian sebanyak satu kali untuk menghilangkan warna berlebihan dari kristal violet menggunakan PBS. Selanjutnya, masing-masing sumuran ditambahkan ethanol 96% dan di shaker selama 5 menit pada kecepatan 150 rpm di suhu 37 °C. Kemudian dilakukan pengukuran nilai OD matriks biofilm menggunakan ELISA pada gelombang 595 nm.



Gambar IV.2 Uji Antibiogram

Keterangan :

A1, B1, C1, D1 : 200 μ l madu 50% dalam media RPMI

A2, B2, C2, D2 : 200 μ l madu 25% dalam media RPMI

A3, B3, C3, D3 : 200 μ l madu 12,5% dalam media RPMI

A4, B4, C4, D4 : 200 μ l madu 6,25% dalam media RPMI

A5, B5, C5, D5 : 200 μ l madu 3,125% dalam media RPMI

A6, B6, C6, D6 : 200 μ l madu 1,525% dalam media RPMI

A8, B8, C8, D8 : 100 μ l media RPMI + 100 μ l flukonazol 2 mg/ml

A10, B10, C10, D10 : 100 µl media spider

A12, B12, C12, D12 : 200 µl media spider

Pada masing-masing sumuran diberi kristal violet 0,1%

h. Penentuan KHBM₅₀

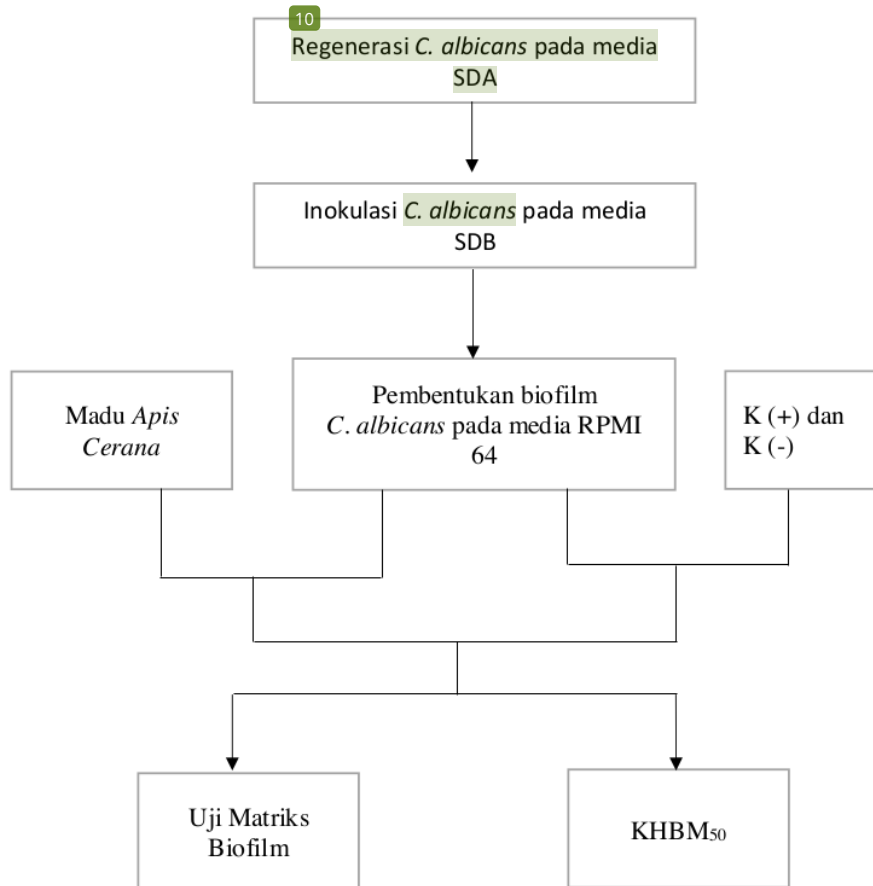
Penentuan nilai KHBM dapat dilakukan dengan menghitung % penghambatan menggunakan nilai absorbansi/OD matriks biofilm sesuai dengan rumus dibawah ini :

$$\% \text{ penghambatan} = \left(1 - \frac{OD \text{ sampel uji} \quad OD \text{ blanko sampel}}{OD \text{ pelarut uji} \quad OD \text{ blanko pelarut}} \right) \times 100 \%$$

Data persen penghambatan yang diperoleh kemudian dianalisis menggunakan SPSS probit untuk menentukan nilai KHBM 50%.

Nilai KHBM 50 (Konsentrasi Hambatan Minimum Biofilm) merupakan konsentrasi minimal madu yang dapat menghambat 50% pertumbuhan biofilm *C. albicans*.

3. Diagram Penelitian



Gambar IV.1 Diagram Penelitian

4. Standar Operasional Prosedur (SOP)

a. Pengambilan Fungi

Isolat *C. albicans* yang dipakai diambil dari Laboratorium Mikrobiologi Rumah Sakit Khusus Infeksi Universitas Airlangga dengan pembiakkan untuk menyediakan stok penelitian. Isolat yang tersedia disimpan di kulkas khusus penyimpanan mikroba.

b. Pembuangan Fungi (Kementrian Lingkungan Hidup, 2014).

- 1) Sampah yang digunakan untuk penelitian seperti objek glass dibersihkan menggunakan desinfektan. Setelah mengering, sampah dibuang ke tempat sampah medis.
- 2) Media dengan mikroorganisme dilakukan sterilisasi diautoklaf dengan suhu 121°C selama 15-20 menit kemudian media dapat dibuang pada saluran yang memiliki bak control.
- 3) Lepaskan jas laboratorium.
- 4) Untuk sampah yang tidak mengalami kontaminasi langsung dengan mikroba dapat dibuang di tempat sampah non medis.

c. Penggunaan Alat Laboratorium

- 1) Alat yang akan digunakan diletakkan dalam satu rak kemudian disterilisasi diautoklaf dengan suhu 121°C selama 15-20 menit.
- 2) Menggunakan alat-alat sesuai prosedur (misalkan: ose harus dibakar dan dipijarkan sebelum dan setelah digunakan). Setiap alat di laboratorium memiliki instruksi kerja. Hal ini harus dipelajari, diperhatikan, dan diikuti untuk mencegah terjadinya kecelakaan dalam bekerja di laboratorium.
- 3) Setelah selesai, alat-alat laboratorium yang dapat digunakan kembali seperti tabung reaksi dan cawan petri dilakukan pencucian dan sterilisasi diautoklaf dengan suhu 121°C selama 15-20 menit.

d. Penanganan Tumpahan Bahan Infeksius (Anonim, 2017).

- 1) Petugas mengambil 1 set spill kit, memakai jas laboratorium dan dipasang papan peringatan bahwa ada tumpahan cairan infeksius.
- 2) Buka dan siapkan plastik kuning
- 3) Daerah tumpahan diberi tanda menggunakan pasir
- 4) Bersihkan daerah tumpahan menggunakan bahan yang bisa menyerap cairan
- 5) Buang kain yang dipakai untuk membersihkan tumpahan ke dalam plastik kuning
- 6) Daerah tumpahan dituang detergen kemudian diserap menggunakan tisu/kain sekali pakai
- 7) Kemudian daerah tumpahan diberi cairan clorin 0,5% dan didiamkan selama 3 menit kemudian diserap menggunakan tisu/kain sekali pakai dan dibuang ke plastik kuning
- 8) Ikat plastik kuning dan buang ke sampah medis
- 9) Lanjutkan mengepel permukaan lantai
- 10) Lepaskan jas laboratorium kemudian cuci tangan

G. Analisis Data

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh madu terhadap pertumbuhan biofilm *C. albicans* dengan cara membandingkan beberapa perlakuan dan menggunakan lebih dari 2 sampel sehingga diuji menggunakan uji One Way ANOVA dengan syarat data yang diperoleh

berdistribusi **normal dan homogen**, dan apabila syarat tidak terpenuhi dilanjutkan dengan uji non parametrik Kruskal Wallis. Data yang diperoleh akan diolah dengan SPSS 28.0.0.0 for Window.

BAB V
HASIL DAN ANALISIS DATA

A. Hasil Penelitian

1. Karakteristik Madu *A.cerana*

Penelitian ini dilakukan untuk menguji efektivitas antibiofilm madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan biofilm *C. albicans*. Madu *A. cerana* ini di dapatkan dari peternak lebah di daerah Pemangkat, Kalimantan Barat. Madu ini cairannya pekat dan sangat kental serta warna madu ini coklat tua. Madu ini memiliki citra rasa yang manis dan aroma dari madu ini wangi.



Gambar V.1 Madu *A. cerana*

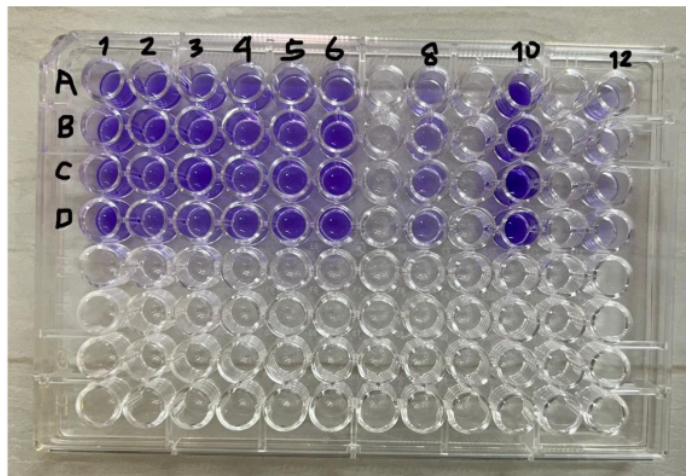
2. Pembuatan Larutan Induk Madu 100%

Pembuatan larutan madu dilakukan dengan melarutkan madu dengan media RPMI 1640 dalam tabung reaksi sampai mencapai volume larutan 100ml. Larutan madu yang dihasilkan merupakan larutan induk 100%.

3. Data Pertumbuhan Matriks Biofilm *C. albicans* pada Varian Konsentrasi Madu

a. Uji Matriks Biofilm *C. albicans*

Pertumbuhan matriks biofilm *C. albicans* ditentukan dengan metode kristal violet menggunakan ELISA reader. Hasil uji matriks biofilm dapat dilihat pada Gambar V.2 :



Gambar V.2 Hasil Uji Matriks Biofilm *C. albicans*

Keterangan :

Kolom 1_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu 50 %

Kolom 2_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu 25%

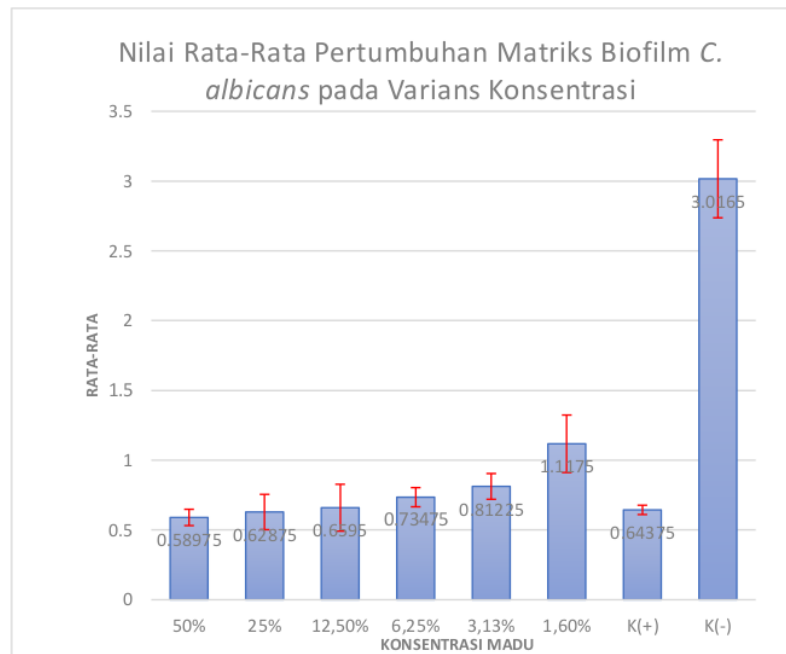
- Kolom 3_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu 12.50%
- Kolom 4_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu 6.25%
- Kolom 5_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu 3.13%
- Kolom 6_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu 1.60%
- Kolom 8_{A-D} : Biofilm *C. albicans* yang ditreatment dengan madu flukonazol
- Kolom 10_{A-D} : Biofilm *C. albicans* tanpa perlakuan
- Kolom 12_{A-D} : Media RPMI

Gambar V.2 pada kolom 1 (konsentrasi tinggi) didapatkan kristal violet berwarna ungu pudar sedangkan pada kolom 6 (konsentrasi rendah) didapatkan sumuran berwarna ungu pekat. Semakin rendah konsentrasi madu makin pudar warna kristal violet. Hal ini menunjukkan semakin banyak matriks biofilm yang terbentuk.

Hasil pengukuran nilai absorbansi (OD) matriks biofilm *C. albicans* dengan konsentrasi madu dapat dilihat pada Tabel V.1

Tabel V.1 Data Matriks Biofilm *C. albicans*

Replikasi	Nilai OD Konsentrasi Madu <i>A. cerana</i>						Nilai OD Kelompok Kontrol	
	50%	25%	12,50%	6,25%	3,13%	1,60%	K(+)	K(-)
1	0.653	0.596	0.9	0.833	0.803	0.846	0.678	2.624
2	0.625	0.594	0.589	0.715	0.713	1.269	0.631	3.254
3	0.532	0.81	0.514	0.673	0.797	1.286	0.603	3.171
4	0.549	0.515	0.635	0.718	0.936	1.069	0.663	3.017
Mean	0.589	0.628	0.659	0.734	0.812	1.117	0.643	3.016
Standar Devisiasi	0.058	0.126	0.167	0.068	0.092	0.206	0.033	0.279



Gambar V.3 Diagram Matriks Biofilm *C. albicans* pada Varian Konsentrasi

Berdasarkan Tabel V dan Diagram V, pertumbuhan matriks biofilm *C. albicans* terbesar pada kelompok control negatif dan terendah pada kelompok perlakuan konsentrasi 50%.

b. Hasil Penentuan Nilai KHBM Konsentrasi Madu *A. cerana* Pada Matriks Biofilm *C. albicans*

Nilai absorbansi/OD yang diperoleh digunakan untuk menentukan persen penghambatan dengan rumus sehingga diperoleh

$$\% \text{ penghambatan} = \left(1 - \frac{OD \text{ sampel uji} - OD \text{ blanko sampel}}{OD \text{ pelarut uji} - OD \text{ blanko pelarut}} \right) \times 100 \%$$

Tabel V.2 Persen Penghambatan Matriks Biofilm *C. albicans*

Replikasi	Konsentrasi Madu						K(+)
	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.6%	
%	80.449	79.156	78.136	75.642	73.073	62.953	78.659
Penghambatan							

Data pada Tabel V.2 dianalisis menggunakan SPSS Probit untuk penentuan nilai KHBM 50. Berdasarkan pada Lampiran ..., dapat diperoleh bahwa konsentrasi madu *A.cerana* yang dapat menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans* sebesar 50% (KHBM 50) terletak pada konsentrasi 1.686%.

B. Analisis Data

1. Antibiofilm

Data nilai absorbansi pada Tabel V.1 dianalisis menggunakan uji statistik one way ANOVA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi madu terhadap pembentukan matriks biofilm *C. albicans*. Sebelum dilakukan uji statistik one way ANOVA terdapat dua syarat utama, yaitu uji normolitas dan uji homogenitas. Hasil uji normolitas dapat dilihat pada Tabel V.3

Tabel V.3 Uji Normalitas Antibiofilm

Konsentrasi	Uji Normalitas Shapiro-Wilk			Keterangan
	Statistik	df	Sig	
50%	0.896	4	0.413	Data berdistribusi normal
25%	0.858	4	0.253	
12.50%	0.881	4	0.342	
6.25%	0.863	4	0.272	
3.13%	0.934	4	0.617	
1.60%	0.884	4	0.357	
K (+)	0.961	4	0.782	
K (-)	0.897	4	0.419	

Berdasarkan uji normalitas pada Tabel V.3, memiliki nilai signifikansi >0.05 sehingga data berdistribusi normal. Selanjutnya akan dilakukan uji homogenitas yang dapat dilihat pada Tabel V.

Tabel V.4 Hasil Uji Homogenitas

Variabel Penelitian		Df	p	Keterangan
Pertumbuhan sel planktonic <i>C.albicans</i>	Mean	7	0.082	Data homogen
	Median	7	0.224	
	Median dan adjusted df	7	0.271	
	Trimmed mean	7	0.092	

Berdasarkan uji homogenitas pada Tabel V.4, diperoleh nilai signifikansi sebesar 0.082. Oleh karena nilai signifikansi >0.05 dapat disimpulkan bahwa kelompok perlakuan maupun kelompok kontrol adalah sama atau homogen. Sehingga asumsi homogenitas dalam uji one way ANOVA terpenuhi. Kemudian dapat dilanjutkan dengan uji one way ANOVA untuk mengetahui pengaruh konsentrasi madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan sel biofilm *C. albicans*. Data dikatakan

signifikan apabila nilai signifikansi $p < 0.05$. Hasil uji one way ANOVA pada tabel V.5 sebagai berikut:

Tabel V.5 Uji one way ANOVA

Data	Bermakna	Keterangan
Matriks Biofilm	0.000 < 0.05	Signifikansi

Berdasarkan Tabel V.5 didapat nilai P hitung < 0.05 dengan nilai signifikansi 0.000 maka ditarik kesimpulan bahwa H_0 ditolak dan H_1 diterima yang berarti terdapat pengaruh pemberian madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan matriks biofilm *C. albicans*.

Perbandingan pertumbuhan biofilm *C. albicans* pada masing-masing konsentrasi dapat dilihat pada Uji Post Hoc (Mann Whitney). Jika nilai P hitung > 0.05 tidak ada perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Jika nilai P hitung < 0.05 terdapat perbedaan yang bermakna antar kelompok perlakuan. Uji Post Hoc (Mann Whitney) dapat dilihat pada Tabel V.6

Tabel V.6 Uji Post Hoc Man Whitney Antibiofilm

KELOMPOK	K-	K+	50%	25%	12.5%	6.25%	3.13%	1.60%
K-		0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*
K+	0.000*		1.000	1.000	1.000	0.988	0.758	0.004*
50%	0.000*	1.000		1.000	0.998	0.867	0.452	0.001*
25%	0.000*	1.000	1.000		1.000	0.971	0.676	0.003*
12.5%	0.000*	1.000	0.998	1.000		0.996	0.835	0.005*
6.25%	0.000*	0.988	0.867	0.971	0.996		0.995	0.027*
3.13%	0.000*	0.758	0.452	0.676	0.835	0.995		0.127*
1.60%	0.000*	0.004*	0.001*	0.003*	0.005*	0.027*	0.127	

Keterangan Tabel :

* = Terdapat Perbedaan Signifikan

Tabel V.6 menjelaskan terkait perlakuan antibiofilm madu *A. cerana* berdasarkan konsentrasi. Apabila hasil nilai signifikansi < 0.05 maka terdapat perbedaan yang signifikan.

BAB VI

PEMBAHASAN

A. Pengaruh Madu *A. cerana* Terhadap Pertumbuhan Biofilm *C. albicans*

Pada proses ini menggunakan metode mikrodilusi dengan media Sabouraud Dextrose Agar (SDA) dan Sabaroud Dextrose Broth (SDB). Media SDA digunakan untuk regenerasi koloni *C. albicans* dari media SDA lama ke media SDA baru. Setelah diregenerasi, dilanjutkan dengan proses pembuatan inokulum dengan menggunakan media SDB. Pertumbuhan biofilm *C. albicans* diawali dengan tahapan adheren sel, yaitu tahap perlekatan sel matriks *C. albicans* pada sumuran. Inokulum *C. albicans* diinkubasi selama 90 menit kemudian dilakukan perlakuan dan diinkubasi selama 48 jam. Pertumbuhan biofilm *C. albicans* diukur dari matriks biofilm yang terbentuk menggunakan kristal violet. Kristal violet ini berikatan dengan matriks biofilm *C. albicans* menghasilkan warna ungu. Kemudian matriks biofilm *C. albicans* diukur menggunakan ELISA microplate reader yang nilainya dapat dibaca pada panjang gelombang 595nm.

Berdasarkan data hasil penelitian tabel V.1 dan grafik V.3 menunjukkan bahwa madu memiliki potensi untuk menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans* pada semua konsentrasi. Daya hambatan tertinggi pertumbuhan biofilm terjadi pada madu dengan

konsentrasi 50% dengan daya hambatan sebesar 80,44%. Semakin tinggi konsentrasi akan semakin tinggi daya hambatannya. Hasil uji statistik menggunakan one way ANOVA menunjukkan terdapat pengaruh madu *A. cerana* terhadap pertumbuhan sel biofilm *C. albicans* terbukti dari nilai signifikansi $p < 0.05$.

Penelitian ini juga sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Liaqat *et al* (2022) menggunakan madu lebah Pakistan yang berasal dari lebah *Apis dorsata* dan *A. cerana* menunjukkan bahwa sampel madu memiliki potensi sebagai antibiofilm dan menghambat sel planktonik terhadap bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *M. morgani* dan *K. Pneumoniae* pada konsentrasi 5%. Ini terbukti dari data penelitian yang telah dianalisis dengan one way ANOVA menggunakan SPSS menunjukkan nilai signifikansi $p < 0.05$ sehingga diperoleh kesimpulan bahwa madu *Apis dorsata* dan *A. cerana* yang berasal dari Pakistan memiliki sifat sebagai antibiofilm dan dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik pada bakteri *P. aeruginosa*, *E. coli*, *S. aureus*, *M. morgani* dan *K. Pneumoniae*.

Berdasarkan penelitian Fernandes *et al*, (2021) madu Portugis juga memiliki sifat sebagai antibiofilm dan dapat menghambat pertumbuhan sel planktonik pada *C. albicans*. Madu portugis memiliki sifat fitokimia yaitu terdapat kandungan flavonoid dan fenolik yang berperan dalam menghambat pertumbuhan biofilm dan sel planktonik pada *C. albicans*. Madu portugis dapat

menghambat pertumbuhan sel planktonik pada konsentrasi 50%. Penghambatan biofilm *C. albicans* oleh madu portugis yaitu pada konsentrasi 50 dan 75% b/v (Fernandes et al., 2021)

Berdasarkan penelitian Ansari et al, (2013) madu jujube diketahui efektif untuk menghambat pembentukan biofilm *C. albicans*. Konsentrasi MIC madu jujube secara efektif mencegah pembentukan biofilm *C. albicans* dan menghambat pertumbuhan biofilm *C. 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 (Ansari et al., 2013).

Penelitian yang dilakukan Capoci et al, (2015) menggunakan madu propolis yang berasal dari Brazil menunjukkan bahwa larutan ekstraktif propolis (PES) pada konsentrasi 546,87 g/mL mampu menyebabkan kematian 75,8% isolat *C. albicans* dari kandidiasis vulvovaginal dan dapat menghambat pertumbuhan biofilm (Capoci et al., 2015).

Dari beberapa penelitian diatas menunjukkan bahwa sifat madu sebagai antibiofilm dan dapat menghambat sel planktonik pada *C. albicans* dipengaruhi oleh kandungan di dalam madu. Kandungan di dalam madu dapat berbeda tergantung darimana asal madu, letak

geografis, kondisi iklim, pengelolaan madu saat panen, dan penyimpanan madu.

B. Penentuan Nilai KHBM Madu *A.cerana* pada Matriks Biofilm *C. albicans*

Pada penelitian ini, penentuan konsentrasi hambatan biofilm minimum dihitung melalui perhitungan $KHBM_{50}$ dengan menggunakan analisis probit. Berdasarkan analisis probit pada Lampiran ..., konsentrasi madu *A. cerana* yang dapat menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans* 50% adalah pada konsentrasi 1.686%. Nilai KHBM ini lebih besar dari penelitian yang dilakukan oleh Liaqat *et al* (2022) menggunakan madu *A. cerana* yang berasal dari Pakistan menunjukkan bahwa madu berpotensi sebagai antibiofilm dengan nilai MIC biofilm pada konsentrasi 5% (Liaqat *et al.*, 2022)

Selain itu, penelitian yang dilakukan Ahmed *et al* (2020) menggunakan madu sahara yang dikombinasikan dengan madu propolis yang berasal dari Aljazair Selatan menunjukkan bahwa kombinasi madu mempunyai efektivitas sebagai antibiofilm terhadap *C. albicans*. Kombinasi madu ini memiliki nilai MIC biofilm pada konsentrasi 25% (Ahmed *et al.*, 2020).

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Madu *A. cerana* berpengaruh dalam menghambat pertumbuhan biofilm *C. albicans* dengan nilai KHBM sebesar 1.686%.

B. Saran

1. Dapat dilakukan penelitian dengan jenis madu yang lainnya dari berbagai jenis madu untuk melihat perbandingan terkait antibiofilm.
2. Madu *A. cerana* dapat dijadikan pencegahan terhadap infeksi *C. albicans*.
3. Diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas antibiofilm madu *A. cerana* dengan menggunakan metode yang berbeda.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahsani, D. N. (2014). Respon Imun Pada Infeksi Jamur. *JKKI*, 6(2), 55–66.
- Al-Kafaween, M. A., & Al-Jamal, H. A. N. (2022). A comparative study of antibacterial and antivirulence activities of four selected honeys to Manuka honey. *Iran J Microbial*, 14(2), 238–251. <https://doi.org/10.18502/ijm.v14i2.9193>.
- Anonim. (2017). *SPO-Penanganan-Tumpahan-Darah*.
- ¹ Ansari, M. J., Al-Ghamdi, A., Usmani, S., Al-Waili, N. S., Sharma, D., Nuru, A., & Al-Attal, Y. (2013). Effect of jujube honey on *Candida Albicans* growth and biofilm formation. *Archives of Medical Research*, 44(5), 352–360. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2013.06.003>
- Asahi, Y., Noiri, Y., Miura, J., Maezono, H., Yamaguchi, M., Yamamoto, R., Azakami, H., Hayashi, M., & Ebisu, S. (2014). Effects of the tea catechin epigallocatechin gallate on *Porphyromonas gingivalis* biofilms. *Journal of Applied Microbiology*, 116(5), 1164–1171. <https://doi.org/10.1111/jam.12458>
- Atriwal, T., Azeem, K., Husain, F. M., Hussain, A., Khan, M. N., Alajmi, Mohamed F., & Abid, M. (2021). Mechanistic Understanding of *Candida albicans* Biofilm Formation and Approaches for Its Inhibition. *Frontiers in Microbiology*, 12, 1–34. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.638609>
- Bazaid, A. S., Aldarhami, A., Patel, M., Adnan, M., Hamdi, A., Snoussi, M., Qanash, H., Imam, M., Monjed, M. K., & Khateb, A. M. (2022). The Antimicrobial Effects of Saudi Sumra Honey against Drug Resistant Pathogens: Phytochemical Analysis, Antibiofilm, Anti-Quorum Sensing, and Antioxidant Activities. *Pharmaceuticals*, 15(10), 1–17. <https://doi.org/10.3390/ph15101212>
- ⁹ Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2013). Antibacterial activity and mode of action of ferulic and gallic acids against pathogenic bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256–265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>
- Borges, A., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2012). The activity of ferulic and gallic acids in biofilm prevention and control of pathogenic bacteria. *Biofouling*, 28(7), 755–767. <https://doi.org/10.1080/08927014.2012.706751>

- Capoci, I. R. G., Bonfim-Mendonça, P. D. S., Arita, G. S., Pereira, R. R. D. A., Consolaro, M. E. L., Bruschi, M. L., Negri, M., & Svidzinski, T. I. E. (2015). Propolis is an efficient fungicide and inhibitor of biofilm production by vaginal *Candida albicans*. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/287693>
- Dabas, P. S. (2013). An approach to etiology, diagnosis and management of different types of candidiasis. *Journal of Yeast and Fungal Research*, 4(6), 63–74. <https://doi.org/10.5897/JYFR2013.0113>
- Dong, G., Li, J., Chen, L., Bi, W., Zhang, X., Liu, H., Zhi, X., Zhou, T., & Cao, J. (2019). Effects of sub-minimum inhibitory concentrations of ciprofloxacin on biofilm formation and virulence factors of *Escherichia coli*. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 23(1), 15–21. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2019.01.004>
- Escuredo, O., & Seijo, M. C. (2019). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Foods*, 8(11), 1–3. <https://doi.org/10.3390/foods8110577>
- Fakhlai, R., Selamat, J., Khatib, A., Razi, A. F. A., Sukor, R., Ahmad, S., & Babadi, A. A. (2020). The toxic impact of honey adulteration: A review. *Foods*, 9(11), 1–21. <https://doi.org/10.3390/foods9111538>
- Fernandes, L., Ribeiro, H., Oliveira, A., Silva, A. S., Freitas, A., Henriques, M., & Rodrigues, M. E. (2021). Portuguese honeys as antimicrobial agents against *Candida* species. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11(2), 130–136. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2020.02.007>
- Fitria, A., Nugraha, A. T., Meliani, Y., & Choiriah, A. (2018). The Bactericidal and Antibiofilm Activity of Stem Bark of *Jatropha multifida* L. Against *Staphylococcus aureus* and MRSA. *Eksakta: Journal of Sciences and Data Analysis*, 18(1), 42–55. <https://doi.org/10.20885/eksakta.vol18.iss1.art5>
- Gaib. (2013). Faktor-Faktor Yang Berpengaruh Terhadap Terjadinya Kandidiasis Eritematosa Pada Pengguna Gigitiruan Lengkap. *E-GiGi*, 1(2). <https://doi.org/10.35790/eg.1.2.2013.3228>
- Gulati, M., & Nobile, C. J. (2016). *Candida albicans* biofilms: development, regulation, and molecular mechanisms. *Microbes and Infection*, 18(5), 310–321. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2016.01.002>
- Hameed, A. R., Ali, S. M., & Ahmed, L. (2018). Biological Study of *Candida* Species and Virulence Factor. *International Journal of Advanced Research in Engineering & Technology*, 1(4), 8–16. www.ijariet.org

- Hartini. (2017). Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Sarang Lebah dari Luwu Utara terhadap Candida Albicans Test of Antifungal Activity of Hive Extract and North Luwu Forest Honey on Candida albicans Hartini. *Bioedukasi*, 10(2), 44–46. <https://doi.org/10.20961/bioedukasi-uns.v10i2.15158>
- Hidayati, A. N., & Liuwan, C. C. (2019). Peran Biofilm terhadap Infeksi Saluran Genital yang disebabkan oleh Vaginosis Bakterial. *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 31(2), 150–158. <https://doi.org/10.20473/bikk.v31.2.2019.150-158>
- Homenta, H. (2016). Infeksi biofilm bakterial. *E-Biomedik*, 4(1), 1–11. <https://doi.org/10.35790/ebm.v4i1.11736>
- Inayah, Marianti, A., & Lisdiana. (2012). Efek Madu Randu dan Kelengkeng dalam Menurunkan Kolestrol pada Tikus Putih Hiperkolesterolemik. *Unnes Journal of Life Science*, 1(1), 8–12. <http://journal.unnes.ac.id/sju/index.php/UnnesJLifeSci>
- Irfan, M., Rudhanton, Diah, & Septina, F. (2022). Ekstrak Teh Putih Sebagai Penghambat Biofilm *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (In Vitro). *E-Prodenta Journal of Dentistry*, 6(1), 534–539. <https://doi.org/10.21776/ub.eprodenta.2022.006.01.1>
- Itsa, N. S., Sukohar, A., & Anggraini, D. I. (2018). Pemanfaatan Cuka Sari Apel Sebagai Terapi Antifungi Terhadap Infeksi *Candida albicans* (Kandidiasis). *Medical Journal of Lampung University*, 7(3), 290–295.
- Jesus, R. de, & Dedeles, G. (2020). Data on quantitation of *Bacillus cereus* sensu lato biofilms by microtiter plate biofilm formation assay. *Data in Brief*, 28, 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2019.104951>
- Kaiser, T. D. L., Pereira, E. M., dos Santos, K. R. N., Maciel, E. L. N., Schuenck, R. P., & Nunes, A. P. F. (2013). Modification of the Congo red agar method to detect biofilm production by *Staphylococcus epidermidis*. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 75(3), 235–239. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.11.014>
- Kali, A., Bhuvaneshwar, D., Charles, P. M. v., & Seetha, K. (2016). Antibacterial synergy of curcumin with antibiotics against biofilm producing clinical bacterial isolates. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7(3), 93. <https://doi.org/10.4103/0976-0105.183265>
- Kining, E., Falah, S., & Nurhidayat, N. (2016). Current Biochemistry. *Current Biochemistry*, 2(3), 150–163.

- Kirmusaoglu, S. (2019). The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents. *The Methods for Detection of Biofilm and Screening Antibiofilm Activity of Agents*, 1–17. <https://doi.org/10.5772/INTECHOPEN.84411>
- Kusumaningrum, A., Maemunah, I., Prasetyo, D. S., Bela, B., & Ibrahim, F. (2019). Deteksi *Acinetobacter baumannii* Multiresisten Obat Penghasil Biofilm menggunakan Pewarnaan Berbasis Crystal Violet Detection of Biofilm Formation on Multidrug Resistant *Acinetobacter baumannii* Using Crystal Violet Based Staining Method. *The Indonesian Journal of Infectious Disease*, 5(2), 41–51.
- Lahiri, D., Dash, S., Dutta, R., & Nag, M. (2019). Elucidating the effect of anti-biofilm activity of bioactive compounds extracted from plants. *Journal of Biosciences*, 44(2), 1–19. <https://doi.org/10.1007/s12038-019-9868-4>
- Lebeaux, D., Chauhan, A., Rendueles, O., & Beloin, C. (2013). From in vitro to in vivo models of bacterial biofilm-related infections. *Pathogens*, 2(2), 288–356. <https://doi.org/10.3390/pathogens2020288>
- Lestari, K., Agustien, A., & Djamaan, A. (2019). Potensi Jamur Endofit pada Tumbuhan Mangrove *Avicennia marina* di Kuala Enok Indragiri Hilir sebagai Penghasil Antibiotika The Potential of Endophytic Fungi Isolated from Leaves, Stems, Mangrove Roots *Avicennia marina* as a Producer of Antibiotics. *Jurnal Metamorfosa*, 6(1), 83–89. <https://doi.org/10.24843/metamorfosa.v06.i01.p13>
- Liaqat, I., Gulab, B., Hanif, U., Sultan, A., Sadiqa, A., Zafar, U., Afzaal, M., Naseem, S., Akram, S., & Saleem, G. (2022). Honey Potential as Antibiofilm, Antiquorum Sensing and Dispersal Agent against Multispecies Bacterial Biofilm. *Journal of Oleo Science*, 71(3), 425–434. <https://doi.org/10.5650/jos.ess21199>
- Lopes, J. P., & Lionakis, M. S. (2022). Pathogenesis and virulence of *Candida albicans*. *Virulence*, 13(1), 89–121. <https://doi.org/10.1080/21505594.2021.2019950>
- ⁶ Mahizan, N. A., Yang, S. K., Moo, C. L., Song, A. A. L., Chong, C. M., Chong, C. W., Abushelaibi, A., Erin Lim, S. H., & Lai, K. S. (2019). Terpene derivatives as a potential agent against antimicrobial resistance (AMR) pathogens. *Molecules*, 24(14), 1–21. <https://doi.org/10.3390/molecules24142631>
- Masfufatun, Bayasud, S. L., Yasinta, M. S., Ni'matuzahro, & Baktir, A. (2017). Serum Acetaldehyde as a Potential Biomarker for The Detection of Pathogenic

Biofilm Formation by *Candida albicans*. *Journal of Chemical Technology and Metallurgy*, 52(6), 1032–1038.

- Masfufatun, M., Raharjo, L. H., Wiradinata, H., Tania, P. O. A., Ni'matuzahroh, N., & Baktir, A. (2021). New phenomena for clinicians, model of *Candida albicans* mobilization before and after biofilm formation in the intestinal mucosa of Wistar rats (*Rattus norvegicus*). *International Journal of One Health*, 7(2), 165–170. <https://doi.org/10.14202/IJOH.2021.165-170>
- Matheos, C. (2014). Gambaran Histologik Jaringan Limpa Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinfeksi *Eschericia coli* dan Diberi Madu. *Jurnal E-Biomedik*, 1(2), 961–965. <https://doi.org/10.35790/ebm.1.2.2013.3251>
- Matilla-Cuenca, L., Gil, C., Cuesta, S., Rapún-Araiz, B., Žiemytė, M., Mira, A., Lasa, I., & Valle, J. (2020). Antibiofilm activity of flavonoids on staphylococcal biofilms through targeting BAP amyloids. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75929-2>
- Mayer, F. L., Wilson, D., & Hube, B. (2013). *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*, 4(2), 119–128. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
- Meo, S. A., Al-Asiri, S. A., Mahesar, A. L., & Ansari, M. J. (2017). Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(5), 975–978. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.12.010>
- Nadhilla, N. F. (2014). The Activity of Antibacterial Agent of Honey Against *Staphylococcus aureus*. *J MAJORITY*, 3(7), 94–101.
- Nobile, C. J., & Johnson, A. D. (2015). *Candida albicans* Biofilms and Human Disease. *Annual Review of Microbiology*, 69(1), 71–92. <https://doi.org/10.1146/annurev-micro-091014-104330>
- Nuraini, S., Herliani, Y., Mulyani, N., & Tajmiati, A. (2017). Mini Review: Prevalensi Vulvovaginitis di Indonesia. *Jurnal Kesehatan Tasikmalaya*, 1(3), 7–12.
- Patabang, D. L., Suartha, I. N., & Sudipa, P. H. (2022). Madu Trigona Mampu Menghambat Pertumbuhan Jamur *Curvularia* sp. yang Diisolasi dari Anjing. *Indonesia Medicus Veterinus*, 11(1), 117–125. <https://doi.org/10.19087/imv.2022.11.1.117>
- Pereira, R., Fontenelle, R. O. dosSantos, de Brito, E. H. S., & de Moraes, S. M. (2021). Biofilm of *Candida albicans*: formation, regulation and resistance. *Journal of Applied Microbiology*, 131(1), 11–22. <https://doi.org/10.1111/jam.14949>

- Pierce, C. G., Vila, T., Romo, J. A., Montelongo-Jauregui, D., Wall, G., Ramasubramanian, A., & Lopez-Ribot, J. L. (2017). The *Candida albicans* biofilm matrix: Composition, structure and function. *Journal of Fungi*, 3(1), 1–8. <https://doi.org/10.3390/jof3010014>
- ⁸ Pristov, K. E., & Ghannoum, M. A. (2019). Resistance of *Candida* to azoles and echinocandins worldwide. *Clinical Microbiology and Infection*, 25(7), 792–798. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2019.03.028>
- Purbowati, R. (2016). Hubungan Biofilm Dengan Infeksi : Implikasi Pada Kesehatan Masyarakat Dan Strategi mengontrolnya. *Ilmiah Kedokteran*, 5(1), 1–14.
- ² Puspitasari, A., Kawilarang, A. P., Ervianti, E., & Rohiman, A. (2019). Profil Pasien Baru Kandidiasis (Profile of New Patients of Candidiasis). *Berkala Ilmu Kesehatan Kulit Dan Kelamin*, 31(1), 24–34.
- Putri, R. A., & Masfufatun. (2022). Karakteristik Biofilm *Candida albicans* dan Beberapa Antibiofilmnya. *Jurnal Kedokteran Dan Kesehatan*, 5(2), 208–219.
- Rao, P. V., Krishnan, K. T., Salleh, N., & Gan, S. H. (2016). Biological and therapeutic effects of honey produced by honey bees and stingless bees: A comparative review. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 26(5), 657–664. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2016.01.012>
- Richardson, J. P., & Moyes, D. L. (2015). Adaptive immune responses to *Candida albicans* infection. *Virulence*, 6(4), 327–337. <https://doi.org/10.1080/21505594.2015.1004977>
- Risalatul, M. (2016). Uji Aktivitas Antijamur Jamur Madura “Empot Super” Terhadap Jamur *Candida albicans*. <http://etheses.uin-malang.ac.id/id/eprint/2896>
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., & Samini, F. (2017). Honey and health: A review of recent clinical research. *Pharmacognosy Research*, 9(2), 121–127. <https://doi.org/10.4103/0974-8490.204647>
- Sardi, A., & Biologi, J. (2021). Infeksi Nosokomial: Jenis Infeksi dan Patogen Penyebabnya. *Seminar Nasional Riset Kedokteran*, 2(1), 117–125.
- Silva, S., Rodrigues, C. F., Araújo, D., Rodrigues, M. E., & Henriques, M. (2017). *Candida* species biofilms’ antifungal resistance. *Journal of Fungi*, 3(1), 1–17. <https://doi.org/10.3390/jof3010008>

Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., & Škrlec, I. (2021). *Candida albicans*-the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, 7(2), 1–19. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>

⁶ Trentin, D. S., Silva, D. B., Amaral, M. W., Zimmer, K. R., Silva, M. v., Lopes, N. P., Giordani, R. B., & Macedo, A. J. (2013). Tannins Possessing Bacteriostatic Effect Impair *Pseudomonas aeruginosa* Adhesion and Biofilm Formation. *PLOS ONE*, 8(6), 1–13. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0066257>

Trivedi, L., & Gomathi, S. (2016). Detection of biofilm formation among the clinical isolates of Enterococci: An evaluation of three different screening methods. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 5(3), 643–650. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2016.503.075>

⁵ Ulyah, H., Ulfa, E. U., & Puspitasari, E. (2015). Uji Aktivitas Antibakteri dan Antibiofilm Minyak Atsiri Rimpang Bengle (*Zingiber purpureum* Roscoe) terhadap Bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Jurnal Pustaka Kesehatan*, 3(2), 267–271.

Vasudevan, R. (2014). Biofilms: Microbial Cities of Scientific Significance. *Journal of Microbiology and Experimentation*, 1(3), 84–98. <https://doi.org/10.15406/jmen.2014.01.00014>

Widyarman, A. sari. (2020). *Diktat Mikrobiologi Oral Biofilm* [Universitas Trisakti]. http://www.karyailmiah.trisakti.ac.id/uploads/kilmiah/dosen/Diktat_-_Oral_Biofilm_-_Dr._drg._Armelia_Sari_W,_M._Kes_.pdf

Wulandari, D. D. (2017). Kualitas Madu (Keasaman, Kadar Air, dan Kadar Gula Pereduksi) Berdasarkan Perbedaan Suhu Penyimpanan. *Jurnal Kimia Riset*, 2(1), 16–22.

Yuliati. (2017). Uji Efektivitas Larutan Madu Sebagai Antibakteri Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* Dan *Pseudomonas aeruginosa* Dengan Metode Disk Diffusion. *Jurnal Profesi Medika*, 11(1), 7–15.

Zaid, S. S. M., Ruslee, S. S., & Mokhtar, M. H. (2021). Protective roles of honey in reproductive health: A review. *Molecules*, 26(11), 1–15. <https://doi.org/10.3390/molecules26113322>

LAMPIRAN

Lampiran 1

Lampiran 1: Pernyataan Keaslian Tulisan

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Yang bertanda tangan di bawah ini saya:

Nama : Zahrah Aswa Ananta
NPM : 20700082
Program Studi : Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran Universitas
Wijaya Kusuma Surabaya

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa Skripsi yang saya tulis dengan judul “Hubungan Pemberian Pola Makan dengan Kejadian *Stunting* pada Balita Usia 0-59 Bulan Puskesmas Kalianget Madura Tahun 2020”, benar-benar hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai tulisan atau pikiran saya sendiri. Apabila di kemudian hari dapat dibuktikan bahwa Skripsi ini adalah hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Surabaya,
Yang membuat pernyataan,

Materai 10.000,00

(Zahrah Aswa Ananta)
NPM: 20700082

SURAT PERNYATAAN

Yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Mulyo Had. Yulist
Alamat : Perum. Griya Asri Saritoyo 80 Ploarjo
Jenis Kelamin : Laki - Laki
Pekerjaan : PNS , Owner madu carissa .

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Berdasarkan pengalaman pribadi saya madu yang digunakan untuk penelitian adalah benar madu *Apis cerana* yang berasal dari Kalimantan Barat.
2. Telah dilakukan beberapa tes sederhana terhadap madu yang digunakan untuk jenis lebah adalah benar lebah *Apis cerana*.
3. Untuk vegetasi madu didominasi dari pohon kelapa, aren, *Acasia crassicaarpa*, rumput-rumputan, dan tanaman lainnya.

Demikian surat pernyataan ini saya buat dengan sebenar-benarnya. Atas perhatiannya, saya ucapkan terimakasih.

Surabaya, Januari 2023



Lampiran 2 ETIK PENELITIAN



KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS WIJAYA KUSUMA SURABAYA

KETERANGAN KELAIKAN ETIK
"ETHICAL CLEARANCE"

No. 47 /SLE/FK/UWKS/2023

KOMISI ETIK PENELITIAN KESEHATAN

PENELITIAN BERJUDUL:
EFEKTIVITAS MADU *Apis cerana* SEBAGAI
ANTIBIOFILM TERHADAP *Candida albicans*

PENELITI UTAMA:
ZAHRAH ASWA ANANTA

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

MENYATAKAN:
" LAIK ETIK "

Mengetahui,
Dekan

Prof. Dr. Kuntaman, dr. MS., Sp.MK(K)



Surabaya, 6 April 2023

Ketua Unit,

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

ORIGINALITY REPORT

12%

SIMILARITY INDEX

13%

INTERNET SOURCES

2%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

1	erepository.uwks.ac.id Internet Source	4%
2	ojshafshawaty.ac.id Internet Source	2%
3	klinikgizi.com Internet Source	1%
4	repository.unair.ac.id Internet Source	1%
5	repository.poltekkes-denpasar.ac.id Internet Source	1%
6	journal.unnes.ac.id Internet Source	1%
7	etheses.uin-malang.ac.id Internet Source	1%
8	posgradosalud.unison.mx Internet Source	1%
9	psasir.upm.edu.my Internet Source	1%

10

repository.ub.ac.id

Internet Source

1 %

Exclude quotes Off

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography Off