

LEMBARAN PENGESAHAN

**Judul : Uji Efektivitas Antijamur Air Perasan Rimpang Lengkuas Merah
(*Alpinia purpurata* K.Schum) dalam Menghambat Pertumbuhan Jamur
Malassezia furfur Secara In Vitro**

Nama : Reinaldy Pangihutan Hutasoit

NPM : 200100023

Dosen Pembimbing I

(dr. Susi Sembiring, Sp.An)

Dosen Pembimbing II

(dr. Owen Sitompul, M.Ked (Surg), Sp.B)

Dosen Penguji

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

Ketua PSSH Sarjana Kedokteran

(dr. Ade Pryta Simarmare, M.Biotmed)

**Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas HKBP Nommensen**

(Dr. dr. Lee Simanjuntak, Sp.OG)

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Indonesia sebagai negara tropis yang memiliki tingkat kelembapan yang cukup tinggi memudahkan jamur untuk tumbuh dan berkembang. Salah satu infeksi jamur superfisial yang memiliki angka kejadian yang cukup tinggi sekitar 30-40% di daerah tropis adalah *Pityriasis Versicolor*. Masyarakat Indonesia menyebutnya sebagai panu, yang merupakan infeksi jamur menempati urutan kedua tertinggi di Indonesia.¹ *Pityriasis Versicolor* atau panu merupakan mikosis superfisial yang pada kulit, dimana gambaran yang tampak infeksi dari *Pityriasis Versicolor* adalah bercak yang berbatas tegas, berbentuk oval, dan bersisik halus pada kulit. Lesi pada kulit dapat berupa hipopigmentasi, hiperpigmentasi, atau eritematoso dan dapat meluas. Penyebaran kulit yang terkena mencerminkan sifat lipofilik dari jamur yaitu area seboroik (batang, leher, dan lengan). Lesi kulit yang terinfeksi pada umumnya asimtomatik dan sedikit gatal.² Kejadian *Pityriasis Versicolor* di seluruh dunia telah dilaporkan sebanyak 50% di lingkungan masyarakat tropis, pada daerah subtropis sekitar 5% dan kurang dari 1% pada masyarakat daerah dingin.³ Secara keseluruhan di Indonesia belum ada data pasti yang menunjukkan mengenai prevalensi *Pityriasis Versicolor* dikarenakan banyak masyarakat Indonesia tidak mencari pengobatan medis untuk mengatasi PV. Sementara pada tahun 2021 di Jakarta, kejadian PV masuk ke dalam urutan kedua terbanyak setelah dermatitis.⁴

Malassezia furfur merupakan jamur penyebab *Pityriasis Versicolor*, jamur ini dapat ditemukan pada orang dewasa bahkan anak bayi usia 3-6 bulan dan pada semua usia, ras, dan jenis kelamin. *Malassezia furfur* merupakan flora normal yang merupakan mikroorganisme komensal yang terdapat pada kulit manusia. *Malassezia furfur* menjadi patogen akibat dari proses multifaktorial pendukung pertumbuhan seperti, faktor genetik, *immunocompromised*, dan faktor suhu dan lingkungan yang lembab.⁵

Karena tumbuhnya membutuhkan lemak, *Malassezia furfur* tumbuh dan bergantung pada kulit yang mengandung minyak di kelenjar sebaceous pada area kulit manusia.⁶

Pengobatan *Pityriasis versicolor* harus dilakukan sesuai dengan anjuran tenaga kesehatan, karena infeksi jamur ini bersifat kambuh atau rekuren. Pengobatan *Pityriasis Versicolor* dapat dilakukan secara topikal dan sistemik. Terapi topikal merupakan terapi lini pertama yang efektif dibanding dengan sistemik. Pengobatan sistemik biasanya digunakan untuk pengobatan infeksi berat. Salah satu antigen jamur yang terbukti efektif terhadap *Pityriasis versicolor* adalah agen antijamur nonspesifik *selenium sulfid 2,5%* yang tersedia dalam berbagai bentuk sediaan seperti krim, sampo, dan losion. Disamping itu, ketokonazol merupakan obat yang mudah didapat di tengah masyarakat dengan kerja obat cepat dan harus digunakan secara rutin.⁷ Banyaknya masyarakat yang melakukan pengobatan secara mandiri dan tidak rutin serta tidak sesuai prosedur penggunaan dianjurkan oleh tenaga kesehatan, akan sulit sembuh dan bahkan dapat mengakibatkan resistensi terhadap antijamur.⁸

Banyak masyarakat Indonesia dengan keanekaragaman khayati memanfaatkan bahan alam sebagai alternatif pengobatan. *World Health Organization* (WHO) menyetujui penggunaan bahan alami sebagai tindakan alternatif dalam melakukan pengobatan tradisional. Ada banyak tanaman Indonesia yang dapat digunakan sebagai pengobatan alternatif, salah satunya adalah rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. Schum*). Rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. Schum*) adalah salah satu tanaman dari famili *zingiberaceae* yang tumbuh di berbagai dataran Indonesia yang mudah dibudidayakan ekonomis, mudah didapat, dan rimpangnya dimanfaatkan sebagai antijamur. Dalam beberapa penelitian, rimpang lengkuas merah memiliki kandungan kimia alami yang mengandung minyak atsiri yang sudah diuji dan dapat digunakan sebagai antijamur.⁹

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh *Violita, dkk.* tahun 2013, dengan membandingkan efektivitas air perasan rimpang lengkuas putih dan rimpang lengkuas merah terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* membuktikan bahwa rimpang lengkuas merah lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan jamur dibanding dengan air perasan lengkuas putih.¹⁰ Lalu pada penelitian yang dilakukan oleh *Husein*, tahun 2018, pada konsentrasi 10%,30%,50%,70%,90% didapatkan hasil berturut-turut sebesar 2.17mm,3.67mm,4.83mm,6.83mm dan 8mm.¹¹

Penelitian mengenai efektivitas air rimpang lengkuas dalam menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* sudah dilakukan dan sudah terbukti efek antijamurnya, akan tetapi uji dalam berbagai metode masih sedikit dan konsentrasi air perasan yang digunakan belum bervariasi, oleh karena itu peneliti ingin melakukan penelitian mengenai uji efektivitas antijamur air perasan rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K.Schum*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* penyebab panu dalam konsentrasi yang bervariasi.

1.2. Rumusan Masalah

Bagaimana efektivitas air perasan rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata K.Schum*) dalam menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*?

1.3. Hipotesis

1.3.1. Hipotesis Alternatif (Ha)

Ditemukan adanya daya hambat antijamur air perasan rimpang lengkuas merah terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur* penyebab jamur panu.

1.3.2. Hipotesis Nol (H0)

Tidak ditemukan adanya daya hambat antijamur air perasan rimpang merah lengkuas terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur* penyebab jamur panu.

1.4. Tujuan Penelitian

1.4.1. Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk mengetahui efektivitas air perasan rimpang lengkuas merah dalam menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Untuk menilai daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah pada konsentrasi 15% terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.
2. Untuk menilai daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah pada konsentrasi 45% terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.
3. Untuk menilai daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah pada konsentrasi 65% terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.
4. Untuk menilai daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah pada konsentrasi 75% terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.
5. Untuk menilai daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah pada konsentrasi 90% terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.
6. Untuk menilai daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah pada konsentrasi 100%
7. Untuk membandingkan daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah dengan aquades sebagai kontrol negatif.
8. Untuk membandingkan daya hambat air perasan rimpang lengkuas merah dengan ketokonazol sebagai kontrol positif.

1.5. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Peneliti

1. Menambah pengalaman dan wawasan kepada peneliti tentang khasiat dan pemanfaatan bahan alami khususnya rimpang lengkuas merah dalam menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.
2. Sebagai bahan referensi untuk peneliti selanjutnya untuk mengembangkan penelitian ini terlebih dalam bidang farmakologi.

1.5.2. Bagi Masyarakat

1. Memberikan informasi penting mengenai kegunaan lengkuas yang selama ini digunakan hanya untuk bumbu dapur juga dapat digunakan sebagai antijamur yang didalamnya terdapat senyawa kimia alami.

1.5.3. Bagi Instansi

1. Menambah referensi di Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan dan pelayanan kesehatan setempat sehingga penelitian ini dapat dipergunakan sebagai dasar dalam melakukan penelitian yang lebih lanjut.
2. Memberikan ide bagi suatu instansi untuk dilakukan penelitian selanjutnya guna mengembangkan penggunaan air perasan lengkuas merah sebagai antijamur dalam berbagai bentuk sediaan obat.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Lengkuas Merah (*Alpinia Purpurata K. Schum*)

2.1.1. Rimpang Lengkuas Merah

Lengkuas merupakan tanaman dari keluarga *Zingiberaceae*, dijuluki sebagai tanaman herbal yang memiliki banyak manfaat untuk bahan obat-obatan alami dan juga digunakan sebagai bahan-bahan bumbu dapur. Bagian lengkuas yang paling sering digunakan adalah bagian rimpangnya.¹² Terdapat dua jenis varietas lengkuas yaitu lengkuas berimpang merah dan berimpang putih. Lengkuas dengan rimpang merah memiliki kandungan kimia antijamur yang sedikit berbeda dengan yang berimpang putih.¹ Rimpang lengkuas merah sering digunakan sebagai obat alami yang sering digunakan sebagai antiseptik, antialergi, antijamur, meningkatkan nafsu makan dan dapat digunakan sebagai obat panu.¹²



Gambar 2. 1 Rimpang Lengkuas Merah

2.1.2. Taksonomi

Berdasarkan taksonomi tumbuhan, lengkuas merah (*Alpinia purpurata K. Schum*) diklasifikasikan sebagai berikut.¹³

Kerajaan : *Viridiplantae*

Filum : *Streptophyta*

Kelas	: <i>Magnoliopsida</i>
Ordo	: <i>Zingiberales</i>
Familia	: <i>Zingiberaceae</i>
Genus	: <i>Alpinia</i>
Spesies	: <i>Alpinia purpurata</i>

Rimpang lengkuas merah memiliki nama yang berbeda beda disetiap daerah di Indonesia antara Rimpang lengkuas merah memiliki nama yang berbeda-beda daerah di Indonesia antara lain: Lankueueh (Aceh), Kelawas (Batak) Langkuwe (Nias), Langkuweh (Minang), Laos (Jawa, Madura), Laja (Sunda) Langkuwas (Banjar), Lahwas (Bali), Lankuwasa (Makassar), Lingsuwas (Manado), Galiasa (Halmahera, Ternate) Langoewas (Belanda), Hongdoukou (Tiongkok), Galangal (Inggris).¹⁴

2.1.3. Morfologi

Lengkuas merupakan tumbuhan tegak yang tersusun oleh pelepah-pelepah yang memiliki tinggi batang mencapai 2-2,5 m. Lengkuas dapat tumbuh pada dataran rendah maupun dataran tinggi. Lengkuas memiliki akar berbentuk rimpang besar, tebal, berdaging, berbentuk silindris, berdiameter 2-4 cm, dan bercabang. Bagian luar rimpang berwarna coklat agak kemerahan. Bentuk daun lengkuas lanset memanjang dan runcing dan tepi daun rata serta memiliki panjang daun sekitar 20-60 cm, lebar 4-15 cm, dan berwarna hijau. Bunga lengkuas berbentuk lonceng berwarna putih kehijauan yang memiliki ukuran sekitar 10-3- cm x 5-7 cm. Jumlah bunga dibawah tandan lebih banyak daripada diatas.¹⁵



Gambar 2. 2 Tanaman Lengkuas Merah

2.1.4. Kandungan Kimia

Kandungan kimia rimpang lengkuas merah adalah minyak atsiri yang terdiri atas senyawa kamfer dan metil sinamat.¹⁶ Minyak atsiri yang terdapat pada rimpang lengkuas merah adalah *methyl-cinamate* 48%, *sineol* 20% - 30% dan kamfer 1%, fenol, flavonoid, zat resin, heksa-hidrokadalen hidrat dan senyawa terpenoid (eugenol dan galangin). Terdapat juga senyawa bioaktif yaitu 1'-asetoksi chavicol asetat (ACA) dan saponin.¹ Hasil skrining fitokimia yang dilakukan oleh Mardhiyyah K dkk. pada tahun 2021, perasan rimpang lengkuas merah mengandung alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, fenolik, dan triterpenoid. Berbeda sedikit dengan perasan rimpang lengkuas putih yang tidak memiliki kandungan saponin.¹⁷

2.1.5. Khasiat dan Penggunaan

Dalam bidang kesehatan, rimpang lengkuas memiliki banyak manfaat diantaranya adalah sebagai antibakteri dan antijamur. Kandungan senyawa *flavonoid* diduga mampu menghambat pertumbuhan bakteri yang resisten terhadap antibiotik.¹⁸ Senyawa *flavonoid* dan *galangal* dapat menghambat pertumbuhan jamur kulit pada manusia. Kandungan kimia rimpang lengkuas berkhasiat mengatasi masalah pada gangguan pencernaan seperti diare, kolik usus dan penyakit herpes. Selain itu lengkuas juga memiliki khasiat untuk

menambah nafsu makan dan dapat digunakan sebagai *detoksifikasi*, mengencerkan dahak, bahkan memiliki khasiat afrodisiak yang dapat meningkatkan gairah seksual.¹⁹ Masyarakat Indonesia dalam kehidupan sehari-hari sering memanfaatkan rimpang lengkuas sebagai bumbu masak untuk menguatkan cita rasa masakan, penghilang bau amis, bahkan sebagai pengawet.²⁰

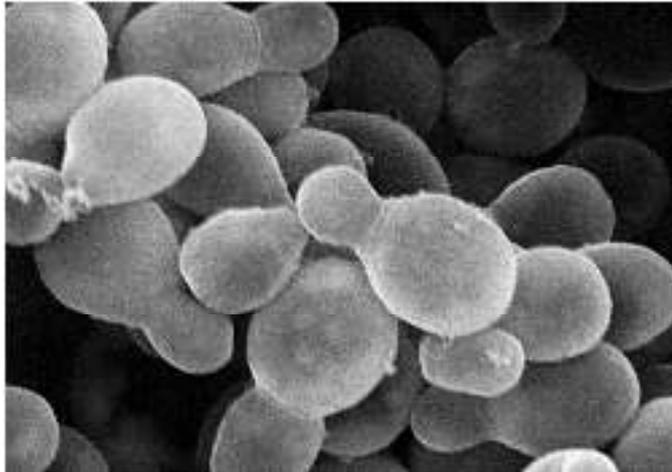
2.1.6. Efek Anti Jamur Rimpang Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K.Schum)

Rimpang Lengkuas merah memiliki kandungan minyak atsiri yang dijadikan sebagai antijamur. Minyak atsiri rimpang lengkuas merah (*Alpinia Purpurata* K.Schum) yang bersifat sebagai antijamur adalah *eugenol* dan *flavonoid*. Aktivitas *eugenol* terbukti dapat merusak membran sitoplasma dan dapat menghambat sintesis dari enzim intraseluler dan ekstraseluler, sedangkan *flavonoid* mampu mengerutkan dinding sel jamur sehingga jamur akan mengalami lisis.²¹ Cara kerja lengkuas menghambat pertumbuhan jamur *Malassezia* adalah dengan merusak membran sel sehingga rusak menyebabkan kebocoran dan komponen penting sel seperti protein, asam nukleat, nukleotida keluar sehingga tidak dapat melakukan aktivitas hidup maupun pertumbuhannya terhambat bahkan mati.²²

2.2. Jamur *Malassezia furfur*

2.2.1. Morfologi dan Identifikasi

Secara mikroskopis, *Malassezia furfur* bersel tunggal berbentuk bulat ataupun silindris dengan lebar 1,5-4,5 μm dan panjang 2-6 μm . Sel-selnya memiliki membran plasma berdinding tebal dan multilaminar yang tersusun atas kitin. *Malassezia furfur* memiliki ragi lipolitik yang membutuhkan lingkungan yang tinggi akan lemak dan minyak untuk berkembang dan dapat tumbuh pada suhu sekitar 35 °C.²³



Gambar 2. 3 Jamur *Malassezia furfur* secara mikroskopis²⁴

2.2.2. Taksonomi

Berdasarkan taksonomi tumbuhan, *Malassezia furfur* diklasifikasikan sebagai berikut.²⁵

Kerajaan	: <i>Fungi</i>
Divisio	: <i>Basidiomycota</i>
Kelas	: <i>Malasseziomycetes</i>
Ordo	: <i>Malasseziales</i>
Familia	: <i>Malasseziaceae</i>
Genus	: <i>Malassezia</i>
Spesies	: <i>Malassezia furfur</i>

2.2.3. Karakteristik Pertumbuhan

Malassezia furfur bereproduksi secara aseksual dengan cara bertunas monopolar, tunas khas akan muncul dari *collarete* yang merupakan hasil sisa dari pembelahan sel. Semua genus *Malassezia* membutuhkan lemak untuk bertumbuh dan hanya tumbuh dalam media yang mengandung asam lemak.²³ Ada beberapa media yang dapat digunakan untuk melihat pertumbuhan yaitu agar Dixon, Leeming, Littman, dan Norman. Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) dengan minyak zaitun adalah media yang paling sering digunakan karena lebih efisien.

Komposisi yang terdapat pada media SDA dapat memenuhi pertumbuhan jamur. *Malassezia furfur* akan bertumbuh dengan optimal pada media SDA dengan bantuan minyak zaitun dengan masa inkubasi 3-5 hari pada suhu 35-37°C. Koloni menyebar dengan warna putih berkilau hingga putih kekuningan halus agak berkerut dan akan menjadi akan berwarna putih kekuningan hingga krem.²³

2.2.4. Patogenesis *Malassezia furfur*

Malassezia furfur merupakan flora normal yang terdapat pada stratum korneum kulit manusia. Ada beberapa faktor yang mendukung pertumbuhan *Malassezia furfur* seperti kondisi yang memiliki kelembapan yang tinggi, gangguan keseimbangan minyak dan lemak pada kulit, faktor genetika dan imunitas yang rendah.²³ Patogenesis dimulai pada saat menjadi miselium dan bermanifestasi sebagai sel khamir yang menunjukkan adanya lesi pada kulit. Lesi hipopigmentasi yang dihasilkan *Malassezia furfur* muncul karena asam azaleat (asam dikarboksilat) yang mampu menghambat produksi melanin pada kulit. *Malassezia furfur* juga menghasilkan *pityriacitrin* yang dapat menyerap sinar ultraviolet yang menjadikan *Malassezia furfur* resisten terhadap sinar matahari.²⁶

2.3. Uji Aktivitas Antijamur

2.3.1. Uji Daya Hambat atau Sensitivitas

Sensitivitas menyatakan bahwa uji sensitivitas mikroorganisme merupakan suatu metode untuk menentukan tingkat kerendahan jamur terhadap zat anti jamur dan untuk mengetahui senyawa murni yang memiliki aktifitas anti jamur. Metode uji sensitivitas jamur adalah cara bagaimana mengetahui dan mendapatkan produk alam yang berpotensi sebagai bahan anti jamur serta mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan atau mematikan jamur pada konsentrasi yang rendah. Diameter zona hambat pertumbuhan jamur menunjukkan sensitivitas jamur terhadap zat anti jamur. Selanjutnya dikatakan bahwa semakin lebar diameter zona hambat yang terbentuk pada jamur maka semakin sensitif.

Pada umumnya metode yang digunakan dalam uji sensitivitas mikroorganisme adalah metode difusi agar yaitu dengan cara mengamati daya hambat pertumbuhan mikro organisme oleh ekstrak atau perasan (sari) yang diketahui dari daerah disekitar kertas cakram (*Paper disk*) yang tidak ditumbuhi oleh mikroorganisme. Zona hambat pertumbuhan inilah yang menunjukkan sensitivitas jamur terhadap bahan antifungi.

Tabel 2. 1 Klasifikasi Respon Hambatan (Greenwod, 1995)

Diamter Zona Bening	Respon Hambatan pertumbuhan
< 10 mm	Tidak ada
11-15 mm	Lemah
16-20 mm	Sedang
>20 mm	Kuat

2.3.2. Media Pertumbuhan

Media pertumbuhan mikroorganisme adalah suatu bahan yang terdiri atas campuran nutrisi (*nutrient*) yang digunakan oleh suatu mikroorganisme untuk tumbuh dan berkembangbiak pada media tersebut *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) merupakan modifikasi dari *Dextrose Agar* dengan *sobouraud*.

Sabouraud Dextrose Agar digunakan untuk budidaya jamur patogen, komersial dan ragi. Konsentrasi *Dextrose* yang tinggi dan pH asam dari rumus memungkinkan selektivitas fungi. *Sabouraud Dextrose Agar* digunakan untuk menentukan kandungan mikroba dalam kosmetik, juga digunakan dalam diagnosis ragi dan jamur penyebab infeksi.

a. Jenis Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

1) Menurut konsentrasinya: media *Sabouraud Dextrose Agar* merupakan media berbentuk padat (*solid*).

2) Menurut fungsinya: media *Sabouraud Dextrose Agar* merupakan media selektif untuk pertumbuhan jamur.

3) Menurut bahan penyusunnya: media *Sabouraud Dextrose Agar* tersusun dari bahan sintesis.

4) Menurut wadahnya: media *Sabouraud Dextrose Agar* merupakan media yang disimpan dalam *plate* (cawan petri).

b. Fungsi Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

Adapun fungsi media secara umum yaitu:

- 1) Isolasi mikroorganisme menjadi kultur murni,
- 2) Memanipulasi komposisi media pertumbuhannya,
- 3) Menumbuhkan mikroorganisme,
- 4) Memperbanyak jumlah,
- 5) Menguji sifat-sifat fisiologisnya,
- 6) Menghitung jumlah mikroba,
- 7) Media *Sabouraud Dextrose Agar* banyak digunakan untuk media jamur, pada media ini pertumbuhan jamur akan optimal di suhu 25 - 30°C

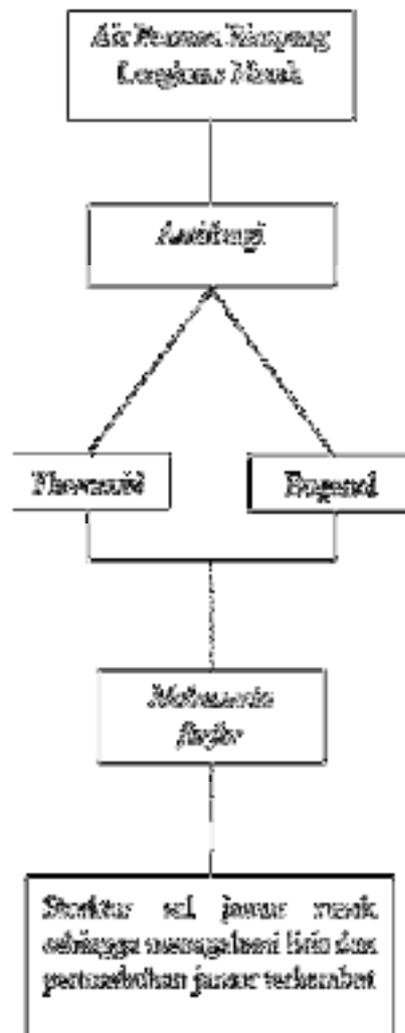
c. Komposisi Media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

- 1) *Mycological peptone* 10 g
- 2) *Glucose* 40 g
- 3) Agar 15 g

d. Fungsi dari komponen dalam *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA)

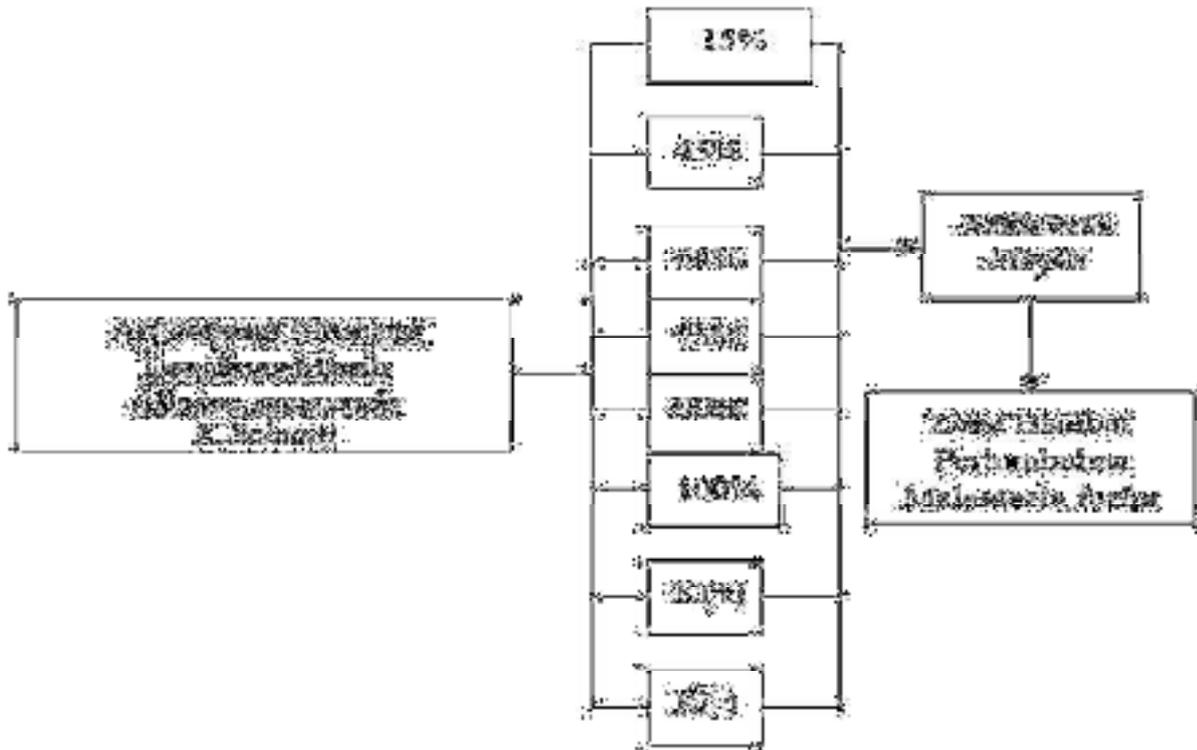
- 1) *Mycological peptone*: berfungsi sebagai penyedia nitrogen dan sumber vitamin yang diperlukan untuk pertumbuhan organisme dalam *Sabouraud Dextrose Agar*.
- 2) *Glucose*: berfungsi sebagai sumber energi.
- 3) Agar: berfungsi sebagai bahan pematat.

2.4. Kerangka Teori Penelitian



Bagan 2. 1 Kerangka Teori Penelitian

2.5. Kerangka Konsep Penelitian



Bagan 2. 2 Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3

METODOLOGI PENELITIAN

3.1. Desain Penelitian

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

3.2. Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1. Tempat Penelitian

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

3.2.2. Waktu Penelitian

Waktu penelitian dilakukan pada bulan September 2023 sampai dengan November 2023.

3.2.3. Sampel Jamur

Jamur yang digunakan dalam penelitian ini adalah jamur *Malassezia furfur* yang di kultur dalam media agar.

3.4. Sampel Uji

Sampel dalam penelitian ini adalah air perasan rimpang lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) yang dibuat dalam konsentrasi yang berbeda-beda yaitu 15%, 45%, 65%, 75%, 90% dan 100%.

3.5. Estimasi Besar Sampel

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

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

Keterangan:

n = jumlah pengulangan perkelompok setiap sampel

t = jumlah kelompok perlakuan

Dilakukan sebanyak 8 kali perlakuan air perasan rimpang lengkuas merah dengan konsentrasi 15%, 45%, 65%, 75%, 90% dan 100% dengan aquades sebagai kontrol negatif dan ketokonazol sebagai kontrol positif.

Perhitungan pengulangan menggunakan rumus Federer:

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

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

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

$$7n - 7 \geq 15$$

$$7n \geq 22$$

$$n \geq 3.14 = 4$$

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

3.6. Prosedur Kerja

3.6.1. Alat dan Bahan Penelitian

Alat yang digunakan adalah:

- a) ose steril
- b) cawan petri
- c) tabung reaksi
- d) rak tabung
- e) labu erlenmeyer
- f) autoklaf

- g) cawan porselin
- h) lampu Bunsen
- i) blender
- j) kapas
- k) batang pengaduk
- l) neraca analitik
- m) pinset
- n) saringan
- o) pipet ukur steril
- p) aluminium foil
- q) pisau/Cutter
- r) kamera
- s) jangka sorong dan alat tulis
- t) kertas label

Bahan yang digunakan adalah:

- a) media *Saboraud Dextrose Agar* (SDA)
- b) lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum)
- c) biakan murni jamur *Malassezia furfur*
- d) kertas Cakram (Paper Disk)
- e) antijamur ketokonazole
- f) aquades steril
- g) NaCl 0,9%.

3.6.2. Sterilisasi Media

Untuk alat-alat yang terbuat dari kaca atau logam yang tidak memiliki tingkat skala atau keakuratan tinggi disterilkan dalam oven pada suhu 180°C selama 24 jam. Seluruh alat gelas dalam penelitian ini akan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit dengan tekanan 1 atm.

3.6.3. Pembuatan Suspensi Jamur *Malassezia furfur*

Pembuatan suspensi jamur uji pembuatan suspensi jamur yaitu diambil jamur uji dengan menggunakan kawat ose steril kemudian disuspensikan dalam 5 mL NaCl 0,9% dalam tabung reaksi steril.

3.6.4. Pembuatan Antijamur (Kontrol Positif)

Ketoconazole 200 mg dibuat konsentrasi 2% dengan menimbang 0,5gram ketoconazole kemudian dilarutkan dengan menggunakan aquades steril sebanyak 2 mL sehingga diperoleh konsentrasi 2%.

3.6.5. Pembuatan Perasan Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K.Schum*)

- a. Siapkan alat dan bahan
- b. Timbang sebanyak 2000gram lengkuas merah, kemudian cuci dengan air bersih mengalir setelah itu dikupas lalu dianginkan biarkan sampai mengering.
- c. Potong lengkuas merah yang telah dicuci, dikupas dan kering menjadi bagian beberapa bagian untuk memudahkan proses blender.
- d. Selanjutnya potongan lengkuas merah di blender atau diparut menggunakan blender dan alat pemat yang sudah disterilkan terlebih dahulu.
- e. Setelah diblender dan diparut menjadi halus, lakukan penyaringan dengan dua tahap
- f. Saringan kain untuk penyaringan awal dan saringan teh untuk penyaringan akhir.

Pembuatan air perasan lengkuas merah pada berbagai konsentrasi dibuat dengan rumus konsentrasi larutan yaitu:

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan:

V1 = Volume air perasan rimpang lengkuas merah yang diencerkan(ml)

N1 = Konsentrasi air rimpang lengkuas merah yang tersedia (%)

V2 = Volume air perasan rimpang lengkuas merah (air perasan rimpang

lengkuas merah + aquades) yang diinginkan (ml)

N_2 = Konsentrasi air perasan rimpang lengkuas merah yang diinginkan (%)

Tabel 3. 1 Jumlah air perasan rimpang lengkuas yang diencerkan

$V_1 = V_2 \cdot N_2 / N_1$	N_1	V_2	N_2
1,5 ml	100%	10 ml	15%
4,5 ml	100%	10 ml	45%
6,5 ml	100%	10 ml	65%
7,5 ml	100%	10 ml	75%
9 ml	100%	10 ml	90%
10 ml	100%	10 ml	100%

3.6.6. Uji Efektivitas Antijamur Dari Air Perasan Rimpang Lengkuas (*Alpinia purpurata* K.Schum) Terhadap Pertumbuhan Jamur *Malassezia furfur* Penyebab Panu.

Uji daya hambat perasan lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) terhadap jamur uji *Malassezia furfur*:

- Siapkan cawan petri yang sudah disterilkan di atas meja.
- Diambil kultur jamur menggunakan ose steril, lalu dimasukkan kedalam tabung reaksi yang sudah berisi NaCl 0,9% kemudian dihomogenkan.
- Pipet suspensi jamur sebanyak 0,1 mL, lalu masukan ke dalam masing-masing media yang telah di sediakan diatas meja dengan cara disebar menggunakan alat Drygalski. Pengerjaan dilakukan didekat nyala lampu spiritus untuk mencegah kontaminasi.

- d. Setelah itu, masukan kertas cakram (*Paper disk*) ke dalam cawan petri yang telah berisi media SDA dan suspensi jamur. Kertas cakram (*Paper disk*) sebelumnya telah direndam dalam perasan lengkuas merah, lalu diletakkan diatas permukaan media SDA menggunakan pinset yang sebelumnya cawan petri sudah di beri label sesuai dengan masing-masing konsentrasinya.
- e. Selanjutnya masukan kontrol positif (+) antijamur (Ketokonazole) yang juga sudah direndam, lalu ditanam diatas permukaan media SDA.
- f. Bungkus cawan petri dengan menggunakan kertas, lalu diberi kode dan diinkubasi pada suhu ruang 28°C selama 2x24 jam.
- g. Lakukan pengamatan dengan melihat ada atau tidaknya zona hambat (wilayah jernih) yang terbentuk di sekitar kertas cakram (*Paper disk*).

3.7. Identifikasi Variabel

3.7.1. Variabel Bebas

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah air perasan rimpang lengkuas dengan konsentrasi 15%, 45%, 65%, 75%, 90% dan 100%.

3.7.2. Variabel Terikat

Variabel terikat dalam penelitian ini adalah diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Malassezia furfur*.

3.8. Definisi Operasional

Tabel 3. 2 Tabel Definisi Operasional

Variabel	Definisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil Ukur	Skala
Air Perasan Rimpang Lengkuas Merah (<i>Alpinia</i>)	Perasan lengkuas merah yang dibuat dalam konsentrasi	Gelas ukur, pipet ukur, neraca	V1. N1 = V2. N2	Konsentrasi air perasan rimpang lengkuas (%)	Rasio

<i>purpurata</i>	15%, 45%, analitik				
<i>k.schum)</i>	65%,75%, 90% dan 100%				
Diameter Zona Hambat	Zona bening yang terdapat disekitar cakram.	Jangka Sorong	Mengukur zona bening yang terdapat disekitar cakram	Zona hambat (mm)	Numerik
<i>Malassezia furfur</i>	Mikroorganisme <i>Malassezia furfur</i> yang dikultur dari Isolat murni yang didapat dari Thermoscintific bersertifikasi ATCC	Media Kultur	Didapati pertumbuhan jamur <i>Malassezia furfur</i>	Ya atau Tidak	Nominal

3.9. Analisis Data

Analisis hasil data penelitian terlebih dahulu diuji menggunakan uji normalitas. Uji normalitas dilakukan untuk mengetahui apakah data hasil penelitian berdistribusi normal atau tidak pada seluruh data. Pertama dilakukan uji normalitas *Saphiro-Wilk* dan didapatkan nilai $p < 0,05$ pada salah satu data, yaitu pada data diameter zona hambat 100% dimana nilai α adalah 0,01 maka dapat disimpulkan bahwa data hasil penelitian tidak berdistribusi normal dan tidak dapat dilanjutkan dengan uji *One-Way ANOVA*. Karena syarat uji *One-way ANOVA* tidak terpenuhi, maka dilakukan uji non parametrik *Kruskal Wallis*. Uji non parametrik *Kruskal Wallis* dilakukan untuk membandingkan kelompok variabel yang tidak terikat. Kemudian dilanjutkan dengan uji lanjut yaitu uji *Mann-Whitney U* untuk melihat apakah terdapat perbedaan yang signifikan dari tiap-tiap perlakuan yang satu dengan lainnya.