

LEMBAR PENGESAHAN
LAPORAN HASIL PENELITIAN

Judul: Uji Efektivitas *Virgin Coconut Oil* Sebagai Penghambat

Pertumbuhan Jamur *Candida albicans* secara *in vitro*

Nama: Irma Yohanna Manalu

NPM : 20000049

Dosen Pembimbing I



(Dr. dr. Christine V. Sibuea, M.Biomed)

Dosen Pembimbing II



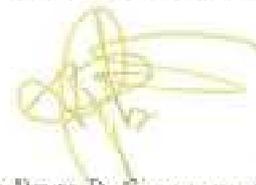
(Dr. Ervina J. Sitanggana, M. Biomed)

Dosen Penguji



(Prof. Dr. dr. Sarma Nursani
Lumban Raja, Sp. OG (K))

Ketua PSSH Sarjana Kedokteran



(Dr. Ade Pryta R. Simaremare, M. Biomed)

Dekan Fakultas Kedokteran
Universitas HKBP Nommessen



(Dr. dr. Leo J. Simanjuntak, Sp. OG)

BAB I

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi jamur memiliki tingkat infeksi yang tinggi di seluruh dunia. Tahun 2020, infeksi jamur diperkirakan mencapai angka 1,7 juta orang penderita.¹ Menurut Center for Disease Control and Prevention (CDC) tahun 2021, sebanyak 7.199 kematian disebabkan oleh infeksi jamur.² Berdasarkan riset National Ambulatory Medical Care Survey and the National Hospital Ambulatory Medical Care Survey di United State tahun 2018, penderita infeksi jamur mencapai 666.235 orang.³ Menurut penelitian Wahyuningsih et al., infeksi jamur di Indonesia memiliki 7,7 juta penderita per tahunnya, dengan rincian 729.000 penderita tinea kapitis, 40.050 penderita kandidiasis vulvovaginitis rekuren dan selebihnya penderita infeksi jamur yang berhubungan dengan penyakit HIV dan penyakit jamur invasif.⁴

Salah satu penyebab penyakit infeksi jamur adalah jamur *Candida albicans*. Jamur ini dapat berperan sebagai flora normal dengan hidup membentuk koloni di bagian tubuh manusia seperti rambut, kulit, mukosa mulut, saluran pencernaan, vagina dan penis.⁵ Jamur ini dapat berkembang tanpa mengganggu kinerja tubuh. Jamur ini memiliki peranan dalam membantu sistem imun untuk keseimbangan dengan flora normal lain. Walaupun flora normal dapat hidup, tubuh manusia akan tetap mengontrol pertumbuhan flora normal tetap dalam jumlah yang tubuh butuhkan dengan pertahanan asam lemak, kadar keasam-basaan, regenerasi epitel permukaan kulit maupun mukosa, persaingan dengan bakteri lain dan kadar transferin pengontrol ikatan bakteri dengan permukaan. Akan tetapi keadaan tersebut dapat berbalik apabila koloni jamur berkembang pesat yang dapat mengganggu keseimbangan flora normal. Apabila keadaan ini tidak dapat ditangani oleh sistem imun maka akan timbul masalah

kesehatan seperti terganggunya aktivitas harian dan estetika penampilan tubuh.⁶

Penyakit kandidiasis oral dan kandidiasis vulvovaginitis (KVV) merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Kandidiasis vulvovaginitis dijumpai pada wanita usia subur (WUS) dengan sekitar 70% wanita pernah menderita penyakit tersebut. Umumnya, KVV dapat terjadi pada wanita yang memiliki faktor risiko. Faktor risiko tersebut adalah penggunaan kontrasepsi seperti estrogen, kehamilan, obesitas, diabetes mellitus, penggunaan obat antibiotik spektrum luas dan penderita HIV. Penderita KVV sangat menderita dan merasa terganggu akibat tanda gejala yang ditimbulkan infeksi ini. Tanda gejala tersebut adalah rasa gatal hebat, iritasi, meradang dan kesulitan untuk berkemih.⁷ Kandidiasis oral dapat dijumpai pada pengguna kortikosteroid inhalasi, penggunaan antibiotik berlebih, imun rendah seperti bayi dan orang lanjut usia. Kandidiasis oral menimbulkan rasa tidak nyaman dalam mukosa mulut akibat adanya lesi putih. Lesi ini merupakan penanda kandidiasis oral dengan dasar eritem saat lesi diangkat. Kejadian kandidiasis oral pada bayi baru lahir memiliki hubungan dengan kelahiran pervaginam dari ibu yang menderita KVV.⁸

Dewasa ini, akses obat dalam masyarakat sudah sangat luas dan bebas. Akses pengobatan tanpa resep dokter kerap kali menjadi pilihan masyarakat dengan banyaknya toko obat dan *online shop* yang mudah dijangkau oleh masyarakat. Penelitian menemukan bahwa penggunaan obat antimikroba secara bebas dapat menimbulkan resistansi seperti penelitian oleh Madania et al., peneliti menemukan bahwa ada hubungan antara pendidikan terakhir, pekerjaan dengan pengetahuan, sikap dan tindakan penggunaan antibiotik masyarakat di Kelurahan Dulomo Utara Kota Gorontalo. Penelitian tersebut juga menemukan pekerjaan dan penghasilan berhubungan dengan penggunaan antibiotik karena semakin baik penghasilan maka kepercayaan berobat ke dokter lebih tinggi. Selain itu, peneliti juga melakukan pengamatan bahwa masyarakat kerap kali

menggunakan antibiotik oleh anjuran orang terdekat, jenis antibiotik, dosis dan durasi yang tidak sesuai.⁹

Resistansi obat tidak hanya terjadi pada obat antibiotika saja tetapi obat antijamur juga. Hal itu dibuktikan dalam penelitian Minarni et al., peneliti menemukan tidak terdapat daya hambat pada jamur *Epidermophyton floccosum* oleh griseofulvin, ketokonazol, itrakonazol dan klotrimazol dengan daya hambat 1 mm atau tidak ada.¹⁰ Penelitian Khan et al. menunjukkan resistansi obat flukonazol, nistatin dan klotrimazol pada isolat jamur *Candida albicans*. Flukonazol memiliki resistansi 53,3%, nistatin resisten sebanyak 55,5% dan klotrimazol sebanyak 60%.¹¹ Oleh sebab itu, penelitian akan bahan alamiah diperlukan sebagai salah satu alternatif agen penghambat pertumbuhan jamur yaitu *Virgin Coconut Oil*.

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan suatu minyak kelapa dengan fermentasi. VCO dapat dengan mudah dijangkau, didapatkan bahkan diproduksi oleh rumah tangga terutama penduduk yang tinggal di sekitar pesisir pantai dan tropis seperti Indonesia. VCO merupakan salah satu bahan alamiah yang banyak digunakan untuk memasak pengganti minyak goreng kelapa sawit karena kandungan antioksidan, sumber energi untuk diet, menutrisi kulit dan rambut yang umum digunakan sebagai kosmetik dan perawatan kulit. Selain manfaat umum, VCO memiliki kemampuan dalam anti-inflamasi dan anti-mikroba seperti antibakteri, antijamur dan antiviral.¹² VCO memiliki kandungan *medium-chain fatty acid* (MCFA), asam laurat dan asam kaprilat yang memiliki aktivitas antimikroba yang sangat bermanfaat dan menjadi bahan alamiah alternatif obat masa sekarang akibat ditemukan kondisi resistansi obat di masyarakat.¹³

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Kamga et al. menemukan bahwa VCO dengan konsentrasi 100% dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* sampai 59.85%. Penelitian ini menggunakan metode dilusi dengan kadar fungisidal minimum/

minimal fungicidal concentration.¹⁴ Penelitian Sari et al. menemukan adanya penurunan koloni *Streptococcus mutans* dan *Candida albicans* yang diberi perlakuan VCO busa berbasis air pada konsentrasi 80%. Penelitian ini menggunakan tes viabilitas seperti tes kristal violet dan *colony-forming unit* (CFU).¹⁵ Penelitian Fitriyani et al. melakukan penelitian efektivitas *Virgin Coconut Oil* dengan metode difusi menggunakan surfaktan (tween 80) sebagai pelarut. Peneliti menemukan VCO memiliki daya hambat 5 mm pada konsentrasi 50%. Konsentrasi 50% mempunyai nilai perbedaan yang bermakna dengan konsentrasi 25%. Penelitian ini menggunakan flukonazol sebagai kontrol positif.¹⁶ Oleh sebab itu, VCO memiliki daya hambat sebagai antijamur. VCO dapat diberikan secara topikal maupun pada infeksi kandidiasis oral dan kandidiasis vulvovaginitis.

Berdasarkan paparan tersebut, peneliti tertarik untuk melakukan penelitian untuk menguji efektivitas *Virgin Coconut Oil* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.1. Rumusan Masalah

Bagaimanakah efektivitas *Virgin Coconut Oil* yang terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans* secara in vitro?

1.2. Hipotesis

1.2.1 Hipotesis Alternatif (Ha)

Virgin Coconut Oil memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.3. Tujuan Penelitian

1.3.1 Tujuan Umum

Tujuan umum penelitian ini adalah untuk menilai efektivitas *Virgin Coconut Oil* sebagai penghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

1.4.2. Tujuan Khusus

1. Untuk menilai kemampuan *Virgin Coconut Oil* pada konsentrasi 25%, 50%, 70%, 90% dan 100% dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.
2. Untuk mengetahui konsentrasi *Virgin Coconut Oil* dengan daya hambat terbesar.
3. Untuk membandingkan daya hambat *Virgin Coconut Oil* dengan kontrol negatif.
4. Untuk membandingkan daya hambat *Virgin Coconut Oil* dengan kontrol positif.

1.4. Manfaat Penelitian

1.5.1. Bagi Peneliti

Menambah pengetahuan, wawasan, pandangan dan pengalaman peneliti mengenai efektivitas *Virgin Coconut Oil* sebagai penghambat jamur *Candida albicans*.

1.5.2. Bagi Masyarakat Ilmiah

Menambah wawasan kepada masyarakat tentang penggunaan manfaat *Virgin Coconut Oil* sebagai antijamur.

1.5.3. Bagi Instansi

Menambah referensi untuk Fakultas Kedokteran Universitas HKBP Nommensen Medan dalam pelayanan kesehatan masyarakat dan berguna sebagai dasar untuk penelitian yang lebih lanjut.

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Jamur *Candida albicans*

2.1.1. Taksonomi *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* dapat diklasifikasikan dengan taksonomi sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Fungi</i>
<i>Phylum</i>	: <i>Ascomycota</i>
<i>Subphylum</i>	: <i>Saccharomycotina</i>
<i>Class</i>	: <i>Saccharomycetes</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Saccharomycetales</i>
<i>Family</i>	: <i>Saccharomycetaceae</i>
<i>Genus</i>	: <i>Candida</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Candida albicans</i> ¹⁷

2.1.2. Morfologi *Candida albicans*

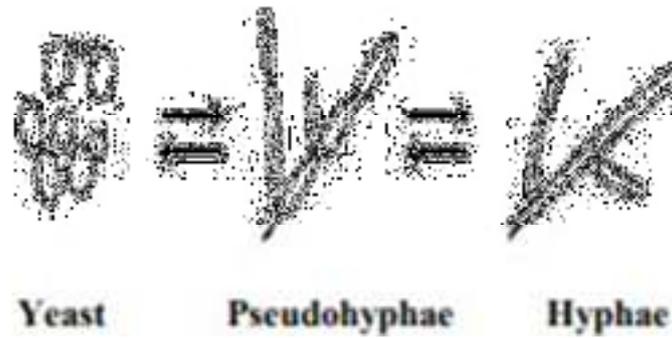
Semua spesies *Candida* memiliki bentuk yeast dan pseudohifa. Hal tersebut berlaku untuk *Candida albicans* tetapi jamur ini juga memiliki hifa seperti pada Gambar 2.1. Yeast atau kapang memiliki bentuk oval pada saat dikultur dengan ukuran 3-6 mikrometer. Bentuk pseudohifa yang akan terbentuk saat gagal untuk menempel pada suatu permukaan tetapi akan tetap mempertahankan kehidupan. Berbeda dengan spesies *Candida* lain, *Candida albicans* memiliki keahlian lain yaitu bentuk hifa. *Candida sp.* akan berkoloni dengan menghasilkan bentuk yang lembut berwarna kecoklatan dengan bau jamur yang khas. Kolonisasi tersebut dapat terjadi pada keadaan yang mendukung yaitu suhu ruangan yang berkisar 37 . Sedangkan bentuk pseudohifa akan berlokasi pada bagian bawah permukaan agar dan bentuk hifa muncul apabila dilakukan inkubasi selama 90 menit dengan suhu 37 .¹⁸



Gambar 2.1 *Candida albicans* dengan perbesaran 400x.¹⁸

2.1.3. Struktur Hifa, Pseudohifa dan Yeast *Candida albicans*

Candida memiliki 3 bentuk yaitu yeast, hifa dan pseudohifa yang akan tumbuh sesuai kondisi lingkungan untuk mempertahankan koloni. Bentuk-bentuk tersebut dapat berubah sesuai keadaan lingkungan sekitar seperti pada Gambar 2.2. Yeast memiliki kemampuan untuk membentuk biofilm. Yeast memiliki bentuk oval. *Candida albicans* memiliki mekanisme pertahanan yang unik dan potensi untuk berkoloni menjadi lebih tinggi. Kemampuan bertahan dengan membentuk biofilm pada lapisan teratas dari luar makhluk hidup maupun mati.¹⁹ Biofilm terbentuk saat mikroba kekurangan asupan untuk berkoloni dan bertumbuh. Sistem biofilm memiliki kemampuan yang diatur oleh ekspresi dan manipulasi gen dalam pembentukan tiap biofilm sehingga biofilm dapat menimbulkan resistansi obat.²⁰



Gambar 2.2 Bentuk Yeast, Pseudohifa dan Hifa⁵

2.1.4. Virulensi/Daya Tahan *Candida albicans*

Candida albicans memiliki pertahanan antisera A, B dan komponen dinding sel seperti mannans, glucan, polisakrida, glikoprotein dan enzim. Molekul tersebut memiliki peranan dalam mengelabui sistem imun dan menghambat respon dari Th1, Th17, Th2 untuk mengetahui infeksi *Candida*.¹⁸

2.1.5. Patofisiologi *Candida albicans*

Candida albicans memiliki dinding sel yang terbentuk atas polisakarida, protein dan glikoprotein yang dapat membantu adhesi dan menginvasi sel host. Penempelan atau adhesi difasilitasi oleh suatu glikogen permukaan jamur *agglutinin-like sequence* (ALS) yang berikatan dengan reseptor pada epitel host. Sistem pertahanan imun host seperti lektin berikatan dengan β -1,3-glucan dari *Candida albicans* akan memicu inflamasi. Inflamasi akan menghasilkan sitokin dan faktor nekrosis tumor-a yang akan mengaktifkan neutrofil dan monosit. Selain itu, fosfolipase (PLB1) juga dapat ditemukan pada yeast dan hifa. Fosfolipase akan membentuk biofilm yang sangat kuat dalam pertahanan dari benda asing, sistem imun host dan obat antijamur.¹⁸

2.1.6. Manifestasi Klinis *Candida albicans*

Manifestasi klinis *Candida albicans* tergantung dari penyakitnya. Penyakit yang dapat terjadi adalah sebagai berikut:⁵

a. *Oral Thrush*

Infeksi jamur *Candida* pada mukosa mulut dengan klinis lidah yang penuh akan membran keputihan seperti jamur.

b. Kandidiasis invasif

Infeksi ini menyerang secara sistemik dan serius bahkan sangat mematikan. Infeksi yang sudah memasuki aliran darah sehingga dapat menginfeksi organ tubuh dalam seperti otak, jantung, ginjal, mata, tulang dan sendi. Manifestasi klinis yang muncul adalah demam yang tidak membaik setelah pemberian antibiotik, menggigil, nyeri sendi, nyeri perut, keputihan pada wanita dan infeksi saluran kemih.

c. Kandidiasis kutaneus

Infeksi *candida* pada kulit yang menimbulkan rasa gatal dan ruam kemerahan yang dapat terjadi diseluruh tubuh. Selain itu, ruam dapat berwarna hitam maupun ungu, permukaan ruam kering maupun kering.

d. Vulvovaginitis

Infeksi pada mukosa vagina dengan gejala klinis iritasi, gatal dan keputihan. Faktor predisposisi yang menyebabkannya merupakan diabetes, kehamilan, konsumsi antibiotik yang mengganggu flora normal.¹⁸

2.1.7. Metode Pengujian Antijamur *Candida albicans*

Penilaian aktivitas antijamur merupakan suatu pengujian untuk dapat menilai keberhasilan suatu bahan yang ditempatkan bersamaan dengan jamur. Penilaian tersebut menggunakan uji yang dapat dilakukan dengan metode dilusi dan difusi.²¹

a. Metode Difusi

Metode difusi dilakukan dengan menempatkan kertas cakram pada media yang telah ditanamkan jamur. Kertas cakram berukuran 6 mm akan direndam dengan bahan aktif yang akan dilakukan pengujian terhadap jamur. Kemudian kultur akan diinkubasi selama 24 jam dalam temperatur 37 . Kemudian, proses pengamatan terhadap zona

putih dilakukan. Zona putih merupakan pertanda zona hambat dari aktivitas jamur terbentuk oleh sensitivitas bahan antijamur. Sebaliknya, apabila pertumbuhan jamur masih terjadi pada kertas cakram menandakan resistansi jamur terhadap bahan antijamur yang diujikan. Setelah dilakukan perhitungan zona hambat, interpretasi hasil dapat dilakukan dengan acuan Tabel 2.1.²¹

Tabel 2.1 Klasifikasi interpretasi daya hambat pertumbuhan mikroorganisme oleh Greenwood²²

Diameter Zona Hambat (mm)	Interpretasi Daya Hambat
>20	Kuat
16-20	Sedang
10-15	Lemah
<10	Tidak ada

b. Metode Dilusi

Metode dilusi dilakukan dengan mendapatkan nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM). Proses pembuatan dilakukan dengan seri pengenceran menggunakan tabung reaksi yang berisikan jamur yang akan diujikan dan bahan antifungi yang akan diinkubasi selama 18-24 jam dalam temperature 37 atau sesuaikan dengan jenis mikroba. Kemudian pengamatan akan kekeruhan isi tabung untuk menilai tabung dengan tampilan tampak mulai jernih menandakan tidak ada pertumbuhan jamur atau KHM. Selanjutnya, uji Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dilakukan dengan cara menumbuhkan jamur yang berasal dari tabung jernih pada media kultur. Kemudian, media kultur diamati dan dilakukan pengukuran jamur yang dapat tumbuh dari uji KHM. Semakin baik KBM akan memiliki nilai *Optical Density* (OD) yang kecil atau optimum bila mendekati 0.^{21,23}

2.2 *Virgin Coconut Oil*

Virgin Coconut Oil atau sering dikenal dengan minyak kelapa merupakan salah satu olahan dari tanaman buah kelapa. Buah kelapa memang sangat erat dan banyak manfaatnya di negara-negara tropis. Buah kelapa memiliki daging yang diolah dengan difermentasi menjadi minyak. Minyak kelapa merupakan bahan yang populer di masyarakat oleh karena penggunaannya. Minyak kelapa memiliki kadar asam lemak dan tahan akan oksidasi yang sangat cocok untuk memasak.²⁴

2.2.1. Taksonomi *Coconut*

Virgin Coconut Oil berasal dari olahan tanaman buah kelapa atau *coconut*. Kelapa termasuk ke dalam taksonomi sebagai berikut:

<i>Kingdom</i>	: <i>Plantae</i>
<i>Subkingdom</i>	: <i>Tracheobionta</i>
<i>Super divisio</i>	: <i>Spermatophyta</i>
<i>Division</i>	: <i>Magnoliophyta</i>
<i>Class</i>	: <i>Liliopsida</i>
<i>Subclass</i>	: <i>Arecidae</i>
<i>Ordo</i>	: <i>Arecales</i>
<i>Familia</i>	: <i>Areceae Bercht. & J. Presi</i>
<i>Genus</i>	: <i>Cocos L.</i>
<i>Spesies</i>	: <i>Cocos nucifera Linneaus</i> ²⁵

2.2.2. Kandungan Kimia *Virgin Coconut Oil*

VCO memiliki kandungan asam lemak yang beragam yang terdiri atas asam lemak jenuh seperti dalam tabel 2.2.

Tabel 2.2 Kandungan pada VCO²⁶

No.	Komposisi Asam Lemak (%)	Menurut Standar Indonesia No.7381 (2008)
1.	C6 (Asam Kaproat)	0-0,7
2.	C8 (Asam Kaprilat)	4,6-10,0
3.	C10 (Asam Kaprat)	5,0-8,0
4.	C12 (Asam Laurat)	45,1-53,2
5.	C14 (Asam Miristat)	16,8-21,0
6.	C16 (Asam Palmitat)	7,5-10,2
7.	C18:1 (Asam oleat)	5,0-10,0
8.	C18:2 (Asam linoleat)	1,0-2,5

2.2.3. Manfaat *Virgin Coconut Oil*

VCO memiliki banyak manfaat untuk masyarakat. Masyarakat banyak menggunakan VCO dalam dunia perawatan kulit dan konsumsi dalam kehidupan rumah tangga.²⁶ Konsumsi lemak yang terkandung dalam VCO dapat bermanfaat selayaknya lemak yang dibutuhkan tubuh sebagai sumber energi, bahan baku untuk pembentukan membran sel.²⁷ Konsumsi VCO tidak harus secara langsung dikonsumsi tetapi VCO dapat dikombinasikan dengan produk pangan lain seperti es krim, biskuit, dan penggunaan minyak goreng.²⁷ Banyak penelitian mengenai manfaat VCO seperti agen antioksidan, antiinflamasi, antikanker, antihiperlipidemia, antibakterial, antiviral dan antijamur.

Antikanker ditemukan pada VCO yaitu kandungan asam laurat yang bekerja mengurangi kadar *glutathione* (GSH) dalam sel yang bekerja sebagai pelindung sel kanker dari apoptosis.

Antihiperlipidemia ditemukan setelah pemberian VCO akan mengakibatkan peningkatan kadar HDL dan menurunnya kadar LDL.²⁶

Antioksidan dalam VCO berhubungan langsung dengan berbagai jalur antioksidasi di dalam tubuh manusia. Tubuh manusia akan selalu

mengalami pembaharuan dan penggantian sel-sel. Pembaharuan sel dapat terjadi apabila suatu sel telah rusak atau berganti. Kerusakan sel dapat berupa rusaknya komponen lipid, asam nukleat dan protein yang dapat menyebabkan kerusakan DNA. Kerusakan tersebut memiliki peranan yang penting dalam penyakit jantung, kanker dan penyakit saraf. Sehingga pencegahan kerusakan DNA dan akumulasi toksin dapat dihindari dengan antioksidan. Oleh sebab itu, kandungan yang dimiliki oleh VCO seperti *phenolic* yang memiliki sifat antioksidan yang dapat menetralkan toxin dan mencegah kerusakan DNA sel.²⁸

Antiinflamasi dan perlindungan pada kulit dapat ditemukan pada VCO. Mekanisme antiinflamasi pada VCO dengan menghambat peran monosit maupun makrofag dalam sistem pertahanan imun *innate*. Selain itu, VCO secara aktif dapat menekan lipopolisakarida (LPS) sehingga merangsang penekanan produksi sitokin pro-inflamasi secara protein maupun level ekspresi gen.²⁹

Antibakterial pada VCO diperankan oleh kandungan monogliserida, *Free Fatty Acid* seperti monolaurin, asam kaprilat, asam kaprat, asam mistrat. Kandungan monolaurin secara aktif menghambat transkripsi protein dan anti-hemolisin pada bakteri seperti *Staphylococcus aureus*. Bakteri gram negatif memiliki dinding sel dengan lapisan lipopolisakarida tebal sehingga monolaurin akan mudah berikatan. Bakteri gram positif memiliki lapisan lipopolisakarida yang lebih tipis dapat dengan mudah berikatan. Ikatan monolaurin pada dinding sel akan mengganggu keseimbangan menyebabkan dinding sel akan rusak dan lisis.²⁸

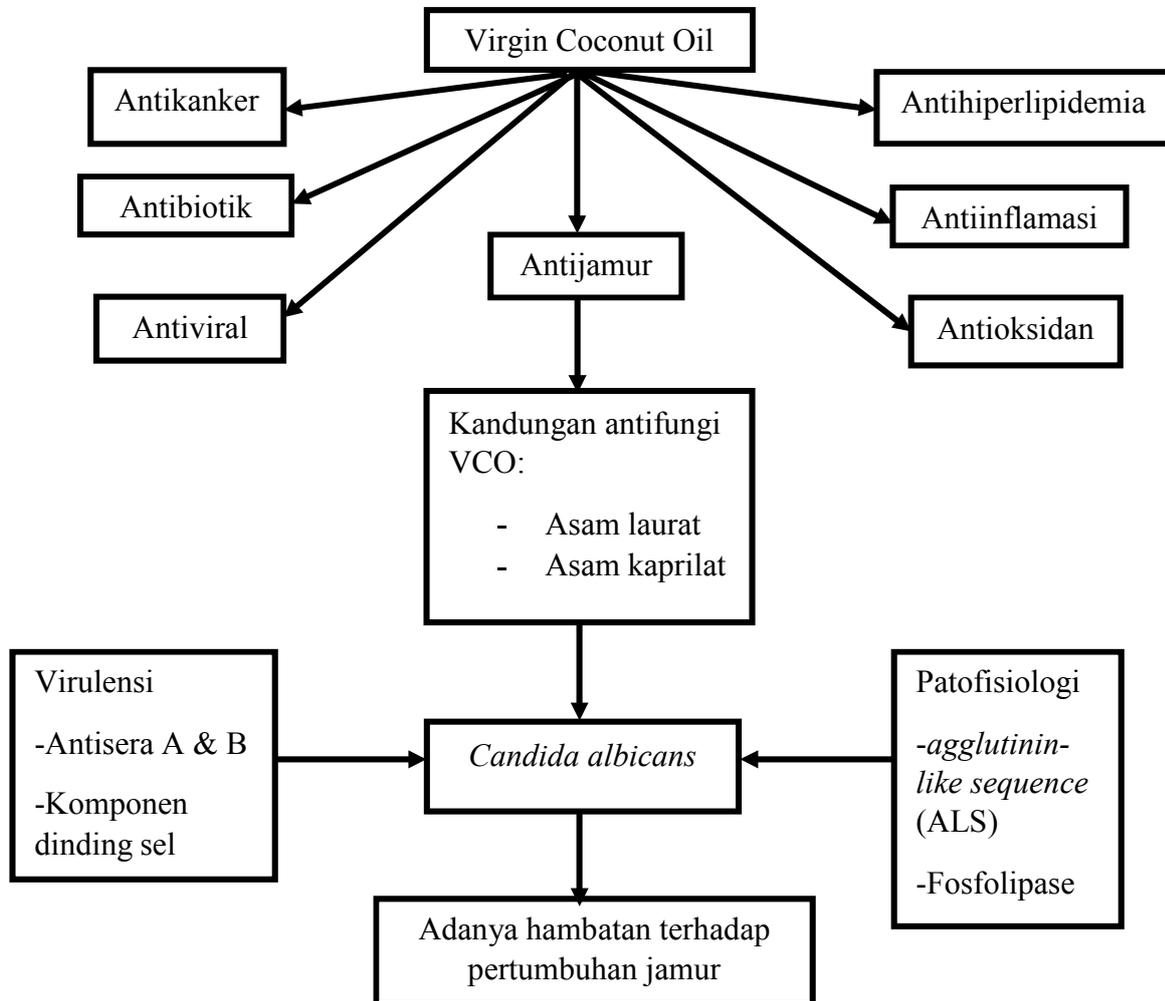
Efek antiviral mirip dengan efek antimikroba sebelumnya. Antiviral dari VCO berasal dari kandungan *medium-chain fatty acid* (MCFA) yang apabila dikonsumsi akan diemulsifikasi dan langsung disimpan di jaringan lemak tanpa melalui aliran limfa sistemik. MCFA akan secara aktif mengganggu sifat protektif lipid dari membran sel yang melindungi virus sehingga akan dengan mudah mendekati DNA mikroba untuk membunuhnya tanpa melukai sel host yang diinvasi oleh mikroba.²⁸

2.2.4. Efek Antijamur *Virgin Coconut Oil*

Senyawa asam laurat dan asam kaprilat berperan sebagai senyawa aktif dalam mekanisme melawan aktifitas fungal. Mekanisme dalam menghancurkan atau melawan dengan cara merusak permeabilitas membrane sel jamur. VCO memiliki kandungan *medium-chain fatty acid* (MCFA) membuat VCO bersifat amphipilik sehingga memiliki kesamaan dengan antijamur lainnya. MCFA VCO dapat dengan mudah memasuki matriks di dalam biofilm yang umumnya pengobatan perlu penambahan dari beta-1,3 glukonase. Sehingga VCO dapat secara langsung mengganggu proses pertahanan biofilm pada jamur *Candida albicans*.¹³

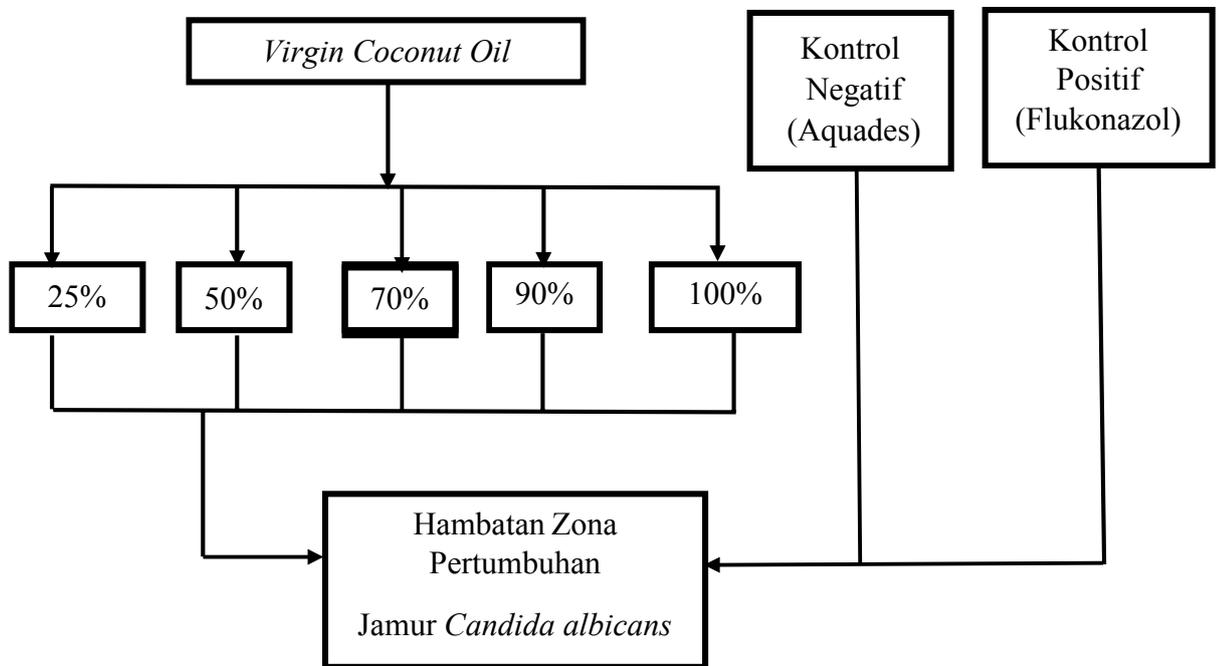
Kandungan monogliserida seperti *monolaurin*, *monomiridine*, *monocaprin* membunuh jamur dengan menyerang dinding sel jamur. Dinding sel jamur memiliki sifat *amphiphilic*. Dinding sel jamur memiliki ergosterol. Bila ergosterol berinteraksi dengan monogliserida akan mengakibatkan dinding sel akan lisis kemudian jamur akan mati. Selain itu, VCO memiliki 2-hydroxil yang terbentuk dari ikatan hidrogen. Apabila ikatan ini memiliki ikatan dengan dinding sel jamur seperti *glucan* dan *chitins* akan membuat kehancuran dan lisis pada jamur.²⁸

2.3 Kerangka Teori



Bagan 2.1 Kerangka Teori

2.4 Kerangka Konsep Penelitian



Bagan 2.2 Kerangka Konsep Penelitian

BAB 3

METODOLOGI

3.4. Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental murni laboratorium atau *true experiment* secara *in vitro* dengan rancangan penelitian *post test only control group design*. Metode yang digunakan dalam penelitian ini adalah difusi cakram dengan penanaman suspensi jamur pada medium *Sabouraud Dextrose Agar*.

3.5. Tempat dan Waktu Penelitian

3.5.1. Tempat Penelitian

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

3.5.2. Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan pada bulan Agustus sampai Desember 2023.

3.6. Sampel Jamur

Jamur yang digunakan dalam penelitian ini merupakan jamur *Candida albicans* yang didapatkan dari kultur isolat murni *Candida albicans* di Indilab, Samarinda.

3.7. Sampel Uji

Sampel dalam penelitian ini merupakan *Virgin Coconut Oil* yang didapatkan dari PT. Ikan Dorang dengan BPOM 207913063139. Sampel akan diperlakukan dengan membuat konsentrasi 25%, 50%, 70%, 90% dan 100%.

3.8. Estimasi Besar Sampel

Estimasi besar sampel yang dibutuhkan dalam penelitian ini terdapat 7 (tujuh) perlakuan sampel yang terdiri dari *Virgin Coconut Oil*

dengan konsentrasi 25%, 50%, 70%, 90% dan 100%, flukonazol sebagai kontrol positif dan aquades steril sebagai kontrol negatif. Besar sampel ditentukan dengan rumus Federer sebagai berikut:

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

Keterangan :

t = Jumlah sampel (Kontrol positif, kontrol negatif, 5 konsentrasi VCO)

n = Jumlah sampel tiap kelompok

Sehingga akan didapatkan hasil sebagai berikut:

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

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

$$(n-1)(6) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 21/6$$

$$n \geq 3,5$$

Maka akan dilakukan pengulangan sebanyak jumlah sampel tiap kelompok yaitu sebanyak 4 kali untuk mendapatkan hasil yang valid.

3.9. Prosedur Kerja

3.9.1. Alat dan Bahan Penelitian

Penelitian ini membutuhkan alat sebagai berikut:

- a) Tabung reaksi
- b) Cawan petri
- c) Jangka sorong dan alat tulis
- d) Kamera
- e) Mikroskop dan kaca preparat

- f) Pinset
- g) Lampu bunsen
- h) Ose steril
- i) Inkubator
- j) Labu erlenmeyer
- k) Gelas ukur
- l) Neraca analitik
- m) Labu
- n) Pipet steril
- o) Cakram
- p) Vortex

Bahan yang dibutuhkan dalam penelitian ini sebagai berikut:

- a. *Virgin Coconut Oil*
- b. Isolat murni *Candida albicans*
- c. Media *Sabouraud Dextrose Agar*
- d. Tween 80
- e. Aquades
- f. NaCL 0.9 %

3.9.2. Sterilisasi Media

Alat-alat yang akan digunakan dalam penelitian dibersihkan dengan air bersih mengalir dan ditunggu kering. Lalu dibungkus dengan kertas kering atau aluminium foil lalu disterilkan dengan autoklaf selama 15 menit diatur pada suhu 121°C.

3.9.3. Pembuatan Suspensi Jamur *Candida Albicans*

Media jamur untuk kultur dilakukan pada *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA). Pengambilan jamur *Candida albicans* menggunakan ose secara steril lalu disuspensikan ke dalam larutan NaCl 0,9% dengan larutan standar McFarland 0,5 dengan cara menambahkan NaCl 0,9% pada

suspensi jamur mencapai kekeruhan yang sama yaitu 10^8 CFU/mL⁶ sesuai standar kepadatan yang teruji.

3.9.4. Penanaman Jamur *Candida albicans*

Jamur *Candida albicans* dilakukan penanaman dengan inokulasi 1 ose kultur jamur tersebut kemudian dimasukkan ke dalam cawan petri media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA).

3.9.5. Pembuatan Sediaan *Virgin Coconut Oil*

Virgin coconut oil akan diperlakukan dengan konsentrasi 25%, 50%, 70%, 90% dan 100%. Setiap pembuatan konsentrasi akan dilakukan emulsifikasi karena sifat lemak dari *Virgin Coconut Oil*. Pengemulsifikasi ini menggunakan surfaktan (tween 80). Surfaktan berguna sebagai emulgator minyak seperti VCO. Penggunaan surfaktan (tween 80) akan menjadikan VCO minyak yang larut air.¹⁶ Untuk setiap konsentrasi akan dilakukan pengenceran dengan campuran sebagai berikut:

$$V1.N1 = V2.N2$$

Keterangan :

V1 = Volume VCO yang diencerkan (ml)

N1 = Konsentrasi VCO yang tersedia (%)

V2 = Volume VCO (VCO + tween 80) yang diinginkan (ml)

N2 = Konsentrasi VCO yang diinginkan (%)

Tabel 3.1 Jumlah VCO yang diencerkan

V1 = V1.V2/N1	N1	V2	N2
2,5 ml	100%	10 ml	25%
5,0 ml	100%	10 ml	50%
7,0 ml	100%	10 ml	70%
9,0 ml	100%	10 ml	90%
10 ml	100%	10 ml	100%

Virgin Coconut Oil dengan konsentrasi 25% didapatkan dengan pengenceran menggunakan 2,5 ml VCO dengan 7,3 ml tween 80. VCO konsentrasi 50% didapatkan dengan pengenceran menggunakan VCO 5,0 ml dengan 5,0 ml tween 80. VCO konsentrasi 70% didapatkan dengan pengenceran menggunakan VCO 7,0 ml dengan 3,0 ml tween 80. VCO konsentrasi 90% didapatkan dengan pengenceran menggunakan VCO 9,0 ml dengan 1,0 ml tween 80. VCO konsentrasi 100% didapatkan dengan 10 ml VCO tanpa pengenceran dengan tween 80. Setelah dilakukan pengenceran, setiap tabung diberikan label sesuai konsentrasi VCO.

3.9.6. Uji Efektivitas *Virgin Coconut Oil* sebagai Penghambat Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*

Uji efektivitas *Virgin Coconut Oil* sebagai penghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dilakukan dengan metode difusi cakram. Metode ini akan dilakukan dengan merendam cakram kosong ke dalam setiap perlakuan berbagai konsentrasi VCO selama 30-60 menit. Suspensi *Candida albicans* yang sudah ditanam dalam media SAD pastikan kering pada bagian permukaan. Kemudian cakram yang sebelumnya sudah dipaparkan dengan VCO ditempelkan pada masing masing media SAD yang sudah ditanam *Candida albicans* lalu masukkan kedalam inkubator bersuhu 37°C selama 48 jam. Masing-masing perlakuan sampel VCO diberikan 4 (empat) kali pengulangan pada waktu

yang sama. Kemudian penilaian efektivitas dilakukan menggunakan jangka sorong pada panjang diameter zona bening disekitar cakram dan lakukan klasifikasi menurut *Greenwood*.

3.10. Identifikasi Variabel

3.10.1. Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini merupakan *Virgin Coconut Oil* yang diperlakukan dengan konsentrasi 25%, 50%, 70%, 90% dan 100%.

3.10.2. Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini merupakan diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

3.10.3. Kontrol

Variabel kontrol pada penelitian ini adalah antijamur flukonazol sebagai kontrol positif dan aquades sebagai kontrol negatif.

3.11. Definisi Operasional

Tabel 3.2 Definisi operasional

Variabel	Defenisi	Alat Ukur	Cara Ukur	Hasil	Skala
<i>Virgin Coconut Oil</i>	<i>Virgin coconut Oil</i> yang berasal dari produksi fermentasi kelapa.	Gelas ukur, pipet steril, neraca analitik	Pembuatan dengan rasio VCO	Konsentrasi VCO (%) dengan kadar 25%, 50%, 70%, 90% dan 100%.	Rasio
Diameter zonaambat	Zona bening yang disekitar cakram yang menandakan	Jangka Sorong	Mengukur diameter zona bening sebagai zona hambat	Zona hambat (mm)	Numerik

	hambatan pertumbuhan				
Jamur <i>Candida albicans</i>	Mikrooorganisme <i>Candida albicans</i> yang berasal dari kultur isolat murni laboratorium Mikrobiologi USU	Media Kultur	Terdapat pertumbuhan jamur <i>Candida albicans</i>	Ya atau Tidak	Nominal

3.12. Analisis Data

Analisis data penelitian ini dilakukan dengan analisis univariat dan bivariat. Pengujian data yang diperoleh dari penelitian akan dilakukan uji hipotesis komparatif untuk menilai perbedaan zona hambat jamur dalam pemberian berbagai konsentrasi *Virgin Coconut Oil*. Analisis bivariat menggunakan uji ANOVA pada perangkat lunak komputer dengan mendapatkan nilai signifikan bila didapati hasil $p > 0,05$. Syarat penggunaan uji ANOVA harus terpenuhi yaitu data berdistribusi normal atau parametrik dengan data yang homogen.

Analisis data menggunakan uji normalitas Shapiro-Wilk dengan nilai signifikan $p > 0,05$ pada semua data merupakan data yang berdistribusi normal. Analisis data dapat dilanjutkan dengan uji ANOVA untuk mendapatkan nilai perbedaan yang bermakna dua kelompok atau lebih terhadap pengaruh efektivitas *Virgin Coconut Oil* terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Apabila syarat uji ANOVA tidak terpenuhi, uji komparatif non parametrik Kruskal Wallis dapat dilakukan.

Kemudian, uji analisis LSD (*Least Significant Different*) atau uji Mann Whitney dilakukan untuk mendapatkan perbedaan bermakna dari setiap perlakuan pada jamur *Candida albicans*.

