KARYA AKHIR

UJI EFEKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK JAHE (*ZINGIBER OFFICINALE*) DAN *VIRGIN COCONUT OIL* (VCO) TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans* SECARA *IN VITRO* DI MAKASSAR

OLEH :

SULPIKAR HABIBIE

PEMBIMBING :

Prof. Dr. dr. Eka Savitri, Sp.T.H.T.B.K.L, Subsp.N.O.(K)

Dr. dr. Syahrijuita, Sp.T.H.T.B.K.L, M.Kes, Subsp.K.(K)

Dr. dr. Andi Alfian Zainuddin, M.KM

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS-1 (SP-1)

ILMU KESEHATAN TELINGA HIDUNG TENGGOROK

BEDAH KEPALA LEHER

FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2024

EFEKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK JAHE (ZINGIBER OFFICINALE) DAN VIRGIN COCONUT OIL (VCO) TERHADAP PERTUMBUHAN CANDIDA ALBICANS SECARA IN VITRO DI MAKASSAR

TESIS
Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Spesialis-1
(Sp-1)

Program Studi
Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok
Bedah Kepala Leher

Disusun dan diajukan oleh

SULPIKAR HABIBIE

Kepada

PROGRAM PENDIDIKAN DOKTER SPESIALIS – 1 (Sp – 1)ILMU KESEHATAN TELINGA HIDUNG TENGGOROK BEDAH KEPALA LEHER FAKULTAS KEDOKTERAN UNIVERSITAS HASANUDDIN MAKASSAR
2024

LEMBAR PENGESAHAN KARYA AKHIR

EFEKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK JAHE *(ZINGIBER OFFICINALE)* *DAN VIRGIN COCONUT OIL (VCO)* TERHADAP PERTUMBUHAN CANDIDA ALBICANS SECARA IN VITRO DI MAKASSAR

Disusun dan diajukan oleh

SULPIKAR HABIBIE

Nomor Pokok C035191001

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka Penyelesaian Studi Program Magister Program Studi Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin pada tanggal 30 Oktober 2024

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui

Pembimbing Utama	Pembimbing Pendamping
Prof. Dr. dr. Eka Savitri, Sp.T.H.T.B,K.L,Subsp.N.O.(K)	Dr. dr. Syahrijuita, M.Kes, Sp.T.H.T.B.K.L, Subsp.K.(K)

Ketua Program Studi	Dekan Fakultas Kedokteran UNHAS
Dr. dr. Muh. Fadjar Perkasa, Sp.T.H.T.B,K.L,Subsp.Rino.(K)	Prof. Dr. dr. Haerani Rasyid, M.Kes, Sp.PD-GH, Sp.GK, FINASIM.

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Sulpikar Habibie

Nomor Mahasiswa : C035191001

Program Studi : Ilmu Kesehatan T.H.T.B.K.L

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis dengan judul "**EFEKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK JAHE (ZINGIBER OFFICINALE) DAN VIRGIN COCONUT OIL (VCO) TERHADAP PERTUMBUHAN CANDIDA ALBICANS SECARA IN VITRO DI MAKASSAR**" yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 11 Desember 2024

Yang menyatakan

Sulpikar Habibie

PRAKATA

Puji syukur penulis panjatkan ke Tuhan Yang Maha Esa atas berkat dan karunia-Nya sehingga tesis ini dapat diselesaikan. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan dalam rangkaian penyelesaian Program Pendidikan Dokter Spesialis (PPDS) di bagian Ilmu Kesehatan Telinga Hidung Tenggorok Bedah Kepala Leher Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa tesis ini tidak akan terselesaikan tanpa bantuan dari berbagai pihak, baik berupa bantuan moril maupun materil. Untuk itu penulis menyampaikan ucapan terima kasih yang tulus dan sedalam-dalamnya kepada pembimbing Prof.Dr.dr. Abdul Qadar Punagi, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.Rino.(K),FICS, Dr. dr. Riskiana Djamin , Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.K.(K), dan Dr. dr. Arifin Seweng, MPH yang telah membimbing, memberi dukungan dan arahan kepada penulis sejak penyusunan proposal, pelaksanaan penelitian hingga selesainya tesis ini.

Terima kasih yang tak terhingga juga penulis sampaikan kepada seluruh staf pengajar Departemen Ilmu Kesehatan T.H.T.B.K.L:
Prof.Dr.dr. Abdul Qadar Punagi, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.Rino.(K),FICS,
Prof.Dr.dr. Sutji Pratiwi Rahardjo, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.L.F.(K),
Prof. Dr. dr. Eka Savitri, Sp. T.H.T.B.K.L., Subsp.N.O(K),
Dr.dr. Riskiana Djamin, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.K.(K),
Dr.dr. Muh. Fadjar Perkasa, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.Rino.(K),
Dr.dr.Masyita Gaffar, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.Oto(K)
dr. Aminuddin Azis, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.A.I.(K),M.Kes,
Dr.dr. Nani I. Djufri, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.Onko.(K),FICS,
Dr.dr. Nova A.L.Pieter, Sp.T.H.T.B.K.L, Subsp.Omko(K), FICS,
dr. Andi Baso Sulaiman, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.L.F.(K),
dr. Mahdi Umar Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.L.F.(K),
dr. Rafidawaty Alwi, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.B.E(K),

dr. Trining Dyah, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.N.O(K), M.Kes,
Dr.dr. Syahrijuita, M.Kes, Sp.T.H.T.B.K.L., Subsp.K(K),
dr. Amira Trini Raihanah, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.A.I.(K),
dr. Sri Wartati, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.Oto.(K),
dr. Yarni Alimah, Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.K.(K),
Dr.dr. Azmi Mir'ah Zakiah, M.Kes,Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.Rino.(K),
dr. Khaeruddin HA, M.Kes,Sp.T.H.T.B.K.L,Subsp.L.F.(K),
dr. Masyita Dewi Ruray, Sp.T.H.T.B.K.L,FICS, dan
dr. Hilmiyah Syam, M.Kes,Sp.T.H.T.B.K.L
atas segala bimbingan dan dukungan yang diberikan selama menjalani pendidikan sampai pada penelitian dan penulisan tesis ini.

Pada kesempatan ini pula penulis menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada:

1. Pimpinan Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin dan Manajer Program Pendidikan Dokter Spesialis yang telah memberi kesempatan kepada saya untuk mengikuti pendidikan.
2. Kepala Bagian dan Staf Pengajar Bagian Anatomi, Radiologi, Gastroenterohepatologi, Pulmonologi, dan Anestesiologi yang telah membimbing dan mendidik saya selama mengikuti Pendidikan terintegrasi.
3. Kepada seluruh rekan PPDS di Departemen Ilmu KesehatanT.H.T.B.K.L Fakultas Kedokteran Universitas Hasanuddin, khususnya teman angkatan saya, dr.Sulfikar habibie, dr. Michelia Iustiana Devi pallupi, dr. Yunia Chairunnisa Abdullah, dan dr. Vithari Anna Sarambu, kerjasama dan dukungan moril selama menjalani Pendidikan hingga saya dapat menyelesaikan tesis ini.
4. Direktur RSUP Dr. Wahidin Sudirohusodo Makassar, RSP Universitas Hasanuddin, RSUD Labuang Baji Makassar, RS Pelamonia Makassar, RSUD Haji Makassar, RS Ibnu Sina Makassar, RSI Faisal Makassar, RSUD Mokopido Toli-Toli.
5. Seluruh karyawan dan perawat Unit Rawat Jalan T.H.T.B.K.L perawat ruang rawat inap T.H.T.B.K.L, karyawan dan staf non-medisT.H.T.B.K.L

khususnya kepada Hayati Pide, ST, Nurlaela, S.Hut, M.Hut dan Vindi JuniarG, S.Sos atas segala bantuan dan kerjasama yang telah diberikan kepada penulis dalam melaksanakan tugas sehari-hari selama masa pendidikan.

6. Kepada keluarga saya, Istri tercinta dr. Humairah, anak saya Hanifa Humairah Efsan dan keluarga besar saya, terutama orang tua saya, dalam memberikan support yang luar biasa sehingga saya dapat selalu bersemangat menjalani kegiatan Pendidikan.

7. Kepada semua pihak yang tidak sempat saya sebutkan satu persatu dan telah membantu saya selama menjalani pendidikan hingga selesainya tesisini.

Saya menyadari sepenuhnya atas segala keterbatasan dan kekurangan dalam penulisan tesis ini, olehnya saran dan kritik yang menyempurnakan tesis ini penulis terima dengan segala kerendahan hati. Semoga Tuhan senantiasa memberikan rahmat kepada kita semua, Aamiin.

Makassar, 17 Januari 2024

Muhammad Efsan Ridhoni

Fungal Profile and In Vitro The Efficacy of Antifungal Ginger Extract (Zingiber officinale) and Virgin Coconut Oil (VCO) from Otomycosis in Makassar

Sulpikar Habibie, Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia.

Eka Savitri, Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia.

Syahrijuita, Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Wahidin Sudiruhosodo Hospital, Makassar, Indonesia

Corresponding author: Sulpikar Habibie, Department of Otorhinolaryngology-Head and Neck Surgery, Faculty of Medicine, Hasanuddin University, Makassar, Indonesia. Perintis Kemerdekaan Street, Km. 10, Tamalanrea Indah, Tamalanrea District, Makassar City, South Sulawesi, +6282343458881, sulbibi11@gmail.com

Abstract

Background: Otomycosis, a common mycotic infection, has seen increased incidence in Indonesia, attributed to tropical climate, limited awareness of fungal infections, and inadequate personal hygiene practices. Candida albicans and Aspergillus niger are the predominant fungal species involved. Given the need for alternative treatments, plants like Zingiber officinale (ginger), recognized for their antifungal properties, hold potential as traditional remedies. This study examines the efficacy of ginger extract and Virgin Coconut Oil (VCO) against fungi from otomycosis cases in Makassar. **Methods**: This true experimental study employed a post-test-only control group design and was conducted at the Microbiology Laboratory, Great Hall of the Makassar Health Laboratory, from January to February 2024. Statistical analysis was performed using SPSS 25.0, with significance levels set at $p < 0.05$ and $p < 0.01$. Data normality was verified using the Shapiro-Wilk test, yielding a $p > 0.05$, indicating normal distribution. **Results**: Fluconazole 2% demonstrated the greatest efficacy in reducing Candida albicans colony diameter, significantly outperforming ginger extract 1% and 2% as well as VCO 1% ($p = 0.000$). However, there was no significant difference in efficacy when compared to VCO 2% and combinations of ginger extract and VCO ($p > 0.05$). **Conclusion**: The combination of ginger extract and VCO shows potential in inhibiting Candida albicans growth, as evidenced by reductions in colony count, thickness, and diameter in vitro, suggesting an alternative treatment approach for otomycosis in Makassar.

Keywords. Antifungal Agents, Fluconazole, Ginger Extract, Zingiber officinale, Candida albicans, Otomycosis, Aspergillus niger, Coconut Oil, Control Groups, Tropical Climate.

Abstrak

Latar Belakang: Otomomikosis, infeksi mikotik yang umum, telah mengalami peningkatan insiden di Indonesia, dikaitkan dengan iklim tropis, kesadaran yang terbatas tentang infeksi jamur, dan praktik kebersihan pribadi yang tidak memadai. Candida albicans dan Aspergillus niger adalah spesies jamur dominan yang terlibat. Mengingat kebutuhan akan pengobatan alternatif, tanaman seperti Zingiber officinale (jahe), yang dikenal karena sifat antijamurnya, memiliki potensi sebagai pengobatan tradisional. Penelitian ini mengkaji khasiat ekstrak jahe dan Virgin Coconut Oil (VCO) terhadap jamur dari kasus otomycosis di Makassar

Metode: Studi eksperimental sejati ini menggunakan desain kelompok kontrol pasca-tes saja dan dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi, Aula Besar Laboratorium Kesehatan Makassar, dari Januari hingga Februari 2024. Analisis statistik dilakukan dengan menggunakan SPSS 25.0, dengan tingkat signifikansi ditetapkan pada $p < 0,05$ dan $p < 0,01$. Normalitas data diverifikasi menggunakan uji Shapiro-Wilk, menghasilkan $p > 0,05$, menunjukkan distribusi normal.

Hasil: Fluconazole 2% menunjukkan kemanjuran terbesar dalam mengurangi diameter koloni Candida albicans, secara signifikan mengungguli ekstrak jahe 1% dan 2% serta VCO 1% ($p = 0,000$). Namun, tidak ada perbedaan efikasi yang signifikan jika dibandingkan dengan VCO 2% dan kombinasi ekstrak jahe dan VCO ($p > 0,05$). Kesimpulan: Kombinasi ekstrak jahe dan VCO menunjukkan potensi dalam menghambat pertumbuhan Candida albicans, yang dibuktikan dengan pengurangan jumlah koloni, ketebalan, dan diameter in vitro, menunjukkan pendekatan pengobatan alternatif untuk otomikosis di Makassar.

Kata kunci. Agen Antijamur, Fluconazole, Ekstrak Jahe, Zingiber officinale, Candida albicans, Otomycosis, Aspergillus niger, Minyak Kelapa, Kelompok Kontrol, Iklim Tropis

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL ..... **i**
DAFTAR ISI ..... **ii**
DAFTAR GAMBAR ..... **iv**
DAFTAR TABEL ..... **v**
DAFTAR SINGKATAN ..... **vi**
BAB I PENDAHULUAN **6**
1.1. Latar Belakang 6
1.2. Rumusan Masalah 9
1.3. Tujuan Penelitian 9
1.4. Manfaat Penelitian 9
1.5. Hipotesis Penelitian 10
BAB II TINJAUAN PUSTAKA **10**
2.1. Anatomi Dan Fisiologi Telinga Luar 11
2.2. *Candida Albicans* 13
2.3. Otomikosis 15
2.4. *Fluconazole* 21
2.5. Apoptosis 23
2.6. Uraian Bahan Alam 27
2.7. Uji Aktivitas Antimikroba 37
2.8. Kerangka Teori 39
2.9. Kerangka Konsep 40
BAB III METODE PENELITIAN **40**
3.1. Desain Penelitian 41
3.2. Sampel Penelitian dan Replikasi 41
3.3. Tempat dan Waktu Penelitian 42
3.4. Alat dan Bahan Penelitian 42
3.5. Variabel Penelitian 43
3.6. Definisi Operasional 43
3.7. Prosedur Penelitian 45
3.8. Alur Penelitian 50

3.9. Analisis data 51
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 53
4.1. Hasil Penelitian 53
4.2. Hasil Uji Daya Hambat Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*), *Virgin Coconut Oil* dan Kombinasi Keduanya 56
4.3. Analisis Data 63
4.4. Pembahasan 74
BAB V KESIMPULAN 83
5.1. Kesimpulan 83
5.2. Saran 83
DAFTAR PUSTAKA 84
LAMPIRAN 89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2. 1 Anatomi Telinga. Telinga bagian luar terdiri dari aurikel atau pinna, kanalakustik eksternal, dan membrane timpani. (Dhingra, 2018) . 11
Gambar 2. 2 Morfologi Dinding Sel *Candida Albicans*..... 15
Gambar 2. 3 Morfologi Candida Albicans 15
Gambar 2. 4 Pemeriksaan otoskop pada otomikosis (Manjunath, 2020) 18
Gambar 2. 5 Struktur Kimia *Fluconazole* (Casalinuovo *et al*., 2004)..... 22
Gambar 2. 6 Membran Sel (Cooper, 2000) 26
Gambar 4. 1 Hasil uji fitokimia flavonoid ekstrak etanol *Zingiber officinale* dan *Virgin Coconut Oil*..... 54
Gambar 4. 2 Hasil biakan koloni *Candida albicans* pada medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) 55
Gambar 4. 3 Hasil pewarnaan gram dari *Candida albicans* dengan pembesaran 400x 55
Gambar 4. 4 Hasil *germ tube test d*ari *Candida albicans* dengan pembesaran 400x 56
Gambar 4. 5 Pertumbuhan *Candida albicans* pada medium *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA) setelah pemberian berbagai perlakuan..... 58

DAFTAR TABEL

Tabel 2. 1 Hasil Analisis Asam Lemak dalam *Virgin Coconut Oil*..... 32
Tabel 4. 1 Jenis jamur pada keseluruhan apusan yang diisolasi (n=50 sampel) 53
Tabel 4. 2 Hasil Perhitungan Koloni *Candida albicans* dengan menggunakan *Colony counter* setelah pemberian Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*), *Virgin Coconut Oil* dan Kombinasi 59
Tabel 4. 2. 1 Hasil Perhitungan *Mean Gray Value* dengan aplikasi Adobe Photoshop CS6..... 61
Tabel 4. 2. 2 Hasil Pengukuran Diameter Koloni *Candida albicans* dengan menggunakan Jangka Sorong setelah pemberian Ekstrak Jahe (*Zingiber officinale*), *Virgin Coconut Oil* dan Kombinasi..... 62
Tabel 4.3.1.1 Hasil Uji Normalitas 64
Tabel 4.3.1.2 Hasil Uji Homogenitas 64
Tabel 4.3.1.3 Hasil Uji *One Way ANOVA*..... 65
Tabel 4.3.1.4 Hasil Uji *Post Hoc Tukey*..... 65
Tabel 4.3.1.5 Hasil Uji Korelasi Pearson..... 66
Tabel 4.3.1.6 Hasil Uji Regresi 67
Tabel 4.3.2.1 Hasil Uji Normalitas 67
Tabel 4.3.2.2 Hasil Uji Homogenitas 68
Tabel 4.3.2.3 Hasil Uji *One Way ANOVA*..... 68
Tabel 4.3.2.4 Hasil Uji Homogenous Subsets..... 69
Tabel 4.3.2.5 Hasil Uji Korelasi Pearson..... 70
Tabel 4.3.2.6 Hasil Uji Regresi 71
Tabel 4.3.3.1 Hasil Uji Normalitas 71
Tabel 4.3.3.2 Hasil Uji Homogenitas 71
Tabel 4.3.3.3 Hasil Uji *One Way ANOVA*..... 72
Tabel 4.3.3.4 Hasil Uji Homogenous Subsets..... 72
Tabel 4.3.3.5 Hasil Uji Korelasi *Pearson*..... 73
Tabel 4.3.3.6 Hasil Uji Regresi 74

DAFTAR SINGKATAN

APCC	*Asian Pacific Coconut Community*
ATP	*Adenosan Trifosfat*
CFU	*Colony Forming Unit's*
CHS	*Chitin Synthetase*
DAPI	*4',6-diamidino-2-phenylindole*
DNA	*Deoxyribonucleic Acid*
ELISA	*Enzyme-linked immunosorbent assay*
FDA	*Food and Drug Association*
GC-MS	*Gas Chromatography-Mass Spektrometry*
GlcNAc	*N -Acetylglucosamine*
Ha	Hektar
HIV	*Human Immunodeficiency Virus*
KAE	Kanalis Akustikus Eksternus
KBM	Konsentrasi Bunuh Minimal
KHM	Kadar Hambat Minimal
KK	Koefisien Korelasi
LSD	*Least Significant Difference*
MCFA	*Medium Chain Saturated Fatty Acid*
MCT	*Medium Chain Trygliseride*
MS	*Metil Strearat*
OD	*Optical Density*
OD MP	*Optical Density* Medium Pelarut
OD MPJ	*Optical Density* Medium Pelarut Jamur
OD MS	*Optical Density* Medium Sampel
OD MSJ	*Optical Density* Medium Sampel Jamur
OE	Otitis Eksterna
OMSK	Otitis Media Supuratif Kronis
PARP	*Poly ADP Ribosa Polymerase*
PCD	*Programmed Cell Death*
pH	*Potential of Hydrogen*
PI	*Propidium Iodide*
PS	*Phosphatidylserine*
RBD	*Refined, Bleached, Deodorized*

ROS	*Reactive Oxygen Species*
SDA	*Sabouraud Dextrose Agar*
SPSS	*Statistical Package of the Social Sciences*
TG	Trigliserida
UDP-GlcNAc	*Uridine difosfat N -Acetylglucosamine*
UV	Ultraviolet
VCO	*Virgin Coconut Oil*

BAB I
PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Otomikosis merupakan suatu infeksi pada kanalis auditorius eksterna yang disebabkan oleh jamur atau fungal (Sudrajad et al.,2018). Otomikosis terdistribusi di seluruh dunia dengan prevalensi 4 banding 1000 populasi, dengan prevalensi terendah sebesar 9% pada pasien dengan otitis eksterna dan prevalensi tertinggi pada pasien dengan gejala otitis atau inflamasi sebesar 30,4% (Sangare et al.,2021). Spesies yang dapat menyebabkan terjadinya otomikosis dapat berbagai macam seperti jamur *Candida albicans*, *Aspergillus sp*, dan *Penicillium sp*. (Suryani et al.,2020). Jenis jamur yang paling umum ditemukan pada kasus otomikosis adalah jamur *Candida albicans* dan jamur *Aspergillus niger* (Sangare et al.,2021)

Liang telinga dihubungkan dengan udara luar oleh orifisium yang sempit, sehingga dapat berfungsi sebagai tempat biakan yang sangat baik untuk pertembuhan bakteri dan jamur. Pada kelembaban yang relatif di atas 80%, lapisan tanduk epitel dapat mengabsorpsi air dari udara dalam jumlah yang banyak. Bertambahnya isi cairan keratin di dalam pilosebesus menyebabkan pembengkakan dan obstruksi orifisium yang mengakibatkan hilangnya atau berkurangnya pembentukan serumen. Pembentukan serumen yang terganggu akan mengakibatkan infeksi jamur pada telinga bagian luar yang disebut otomikosis, serumen mengandung protein, asam amino, ion-ion mineral, lisozim, immunoglobulin dan asam lemak yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Sedjawidada et al., 2013).

Jamur *Candida albicans* merupakan jamur komensal dalam tubuh yang dapat berubah menjadi patogen pada penderita yang mempunyai faktor resiko (Mulyati et al.,2019). Oleh karena itu, peneliti memilih jamur *Candida albicans* sebagai objek penelitian karena dinilai dari urgensi infeksi yang dapat disebabkan sebagai flora normal dalam tubuh manusia. Otomikosis menjadi suatu tantangan bagi dunia medis dan pasien karena memerlukan pengobatan jangka panjang dan kekambuhan yang tinggi (Sulaiman et al.,2015). Hal tersebut menyebabkan pentingnya suatu gambaran prevalensi disuatu tempat. Prevalensi merupakan suatu penyakit yang diderita oleh sejumlah orang dalam suatu populasi pada satu waktu tertentu dibagi dengan jumlah seluruh populasi

pada waktu yang sama (Harlan,2019).

Meskipun otomikosis tidak mengancam jiwa, namun dapat mengakibatkan adanya gejala berat seperti otore, otalgia yang hebat, tinnitus, gatal-gatal dan secara signifikan mengurangi kualitas dan produktivitas hidup apabila tidak segera diobati. Otomikosis juga merupakan suatu tantangan yang serius bagi pasien dan juga dokter karena membutuhkan pengobatan jangka panjang, tindak lanjut dan kendala tingkat kekambuhan yang tinggi. Setelah infeksi mikotik menyebabkan membran timpani perforasi, sistem konduksi suara di telinga tengah terganggu dan kemudian menyebabkan terjadinya gangguan pendengaran. (Li, 2019; Gharaghani, 2015; Koltsidopoulos, 2019)

Kasus otomikosis tersebar diseluruh belahan dunia. Sekitar 5-25%total kasus otitis eksterna merupakan kasus otomikosis (Humaira, 2012). Prevalensi otomikosis terkait dengan wilayah geografis dengan angka yang lebih tinggi di daerah beriklim tropis dan subtropis (Barati, 2011).

Diperkirakan sebanyak 25% dari kasus infeksi telinga disebabkanoleh jamur sedangkan di Inggris, diagnosis otitis eksterna yang disebabkan oleh jamur ini sering ditegakkan pada saat berakhirnya musim panas didapatkan jamur positif pada 91 kasus (6,54%). (Humaira, 2012; Itor, 2020)

Data prevalensi otomikosis yang didapatkan dari Poliklinik Otologi THT-KL Rumah Sakit Hasan Sadikin Bandung selama periode bulan Januari 2012 sampai dengan bulan Desember 2012 tercatat 7,45% dari seluruh total pasien. Sedangkan angka kejadian otomikosis di PoliklinikTHT RS Dustira Cimahi Periode Desember 2017 - Januari 2018 yaitu sebanyak 24 orang dari 929 orang pasien yang menderita penyakit telinga (2,58%) (Tambora, 2018).

Dari data penelitian sebelumnya pada tahun 2009 didapatkan bahwa kejadian koloni jamur pada penderita infeksi telinga di poliklinik THT (Telinga Hidung Tenggorok) Rumah Sakit Pendidikan Universitas Hasanuddin, dari total sampel sejumlah 103 didapatkan adanya koloni jamur pada media kultur dengan jenis jamur *Aspergillus niger* 26,6%, *Aspergillus fumigatus* 37,5% dan *Candida albicans* 26,9% (Sedjawidada et al.,2013).

Indonesia merupakan negara yang kaya akan keanekaragaman hayati yang dapat digunakan sebagai bahan untuk pengobatan tradisional.Salah satu tanaman yang berdasarkan *ethnomedicine* telah terbukti berkhasiat sebagai antijamur adalah Jahe (*Zingiber officinale*). Tanaman Jahe (*Zingiber officinale*)

sendiri telah masuk dalam daftar *Food and Drug Association* (FDA) dan secara umum penggunaannya diakui aman. Jahe (*Zingiber officinale*) kaya akan kandungan aktif, seperti senyawa fenolik dan terpen yang telah terbukti berkhasiat sebagai antijamur. (Supreetha, 2011; Ji, 2017; Schadich, 2016; Prasad, 2015; Yeh, 2014)

Selain Jahe (*Zingiber officinale*), *Virgin Coconut Oil* (VCO) juga merupakan salah satu bahan alami yang telah terbukti khasiatnya dalam mencegah pertumbuhan mikroorganisme khususnya jamur. *Virgin Coconut Oil* (VCO) atau yang dikenal sebagai minyak kelapa di Indonesia dan Malaysia, merupakan salah satu minyak nabati diperoleh dari ekstraksi inti kelapa pada tahap matang baik menggunakan mekanik atau pemrosesantermal (Narayanaankutty, 2018).

Dari hasil analisis kimia, *Virgin Coconut Oil* mengandung 92% asam lemak jenuh, dimana 50% terdiri dari asam laurat (Naseem et al.,2017). *Virgin Coconut Oil* memiliki indeks saponifikasi yang tinggi karena kandungan asam lauratnya yang paling tinggi dibandingkan minyak lainnya (Lavine et al.,2018; Shanbhag, 2017). Pada beberapa penelitian menggunakan *medium chain saturated fatty acid* (MCFA) bahwa *Zingiber officinale* mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri, jamur (fungi), kapang (*yeast*), dan virus dari kandungan monolaurin dan monogliserida dari asam laurat (Yauri dkk.,2021).

Virgin Coconut Oil berdasarkan *Asian Pacific Coconut Community* (APCC) merupakan minyak yang berasal dari biji kelapa segar atau matang yang diberi perlakuan secara mekanik atau alami dengan atau tanpa dilakukan proses pemanasan tanpa mengubah sifat minyak (Fitria dkk,2022). Komponen utama dari *Virgin Coconut Oil* (VCO) sekitar 92% adalah asam lemak jenuh, diantaranya asam laurat (48,74%), asam mirisat (16,31%), asam kaprilat (10,91%), asam kaprat (8,10%) dan asam kaproat (1,25%) (Mela dkk, 2021). Senyawa monolaurin dari asam laurat tersebut menyebabkan *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki efek antimikroba dengan cara merusak komponen lipid dari membran sel mikroorganisme (Kusuma dkk, 2020).

Berdasarkan uraian diatas, maka dilakukan penelitian tentang uji efektivitas antijamur ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* yang merupakan salah satu jenis jamur penyebab terjadinya otomikosis di Makassar serta diharapkan dapat menjadi bahan pertimbangan sebagai alternatif potensi

anti otomikosis dan terapeutik ke depannya.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang di atas maka rumusan masalah dari penelitian ini adalah "Bagaimana uji efektivitas antijamur ekstrak jahe (*Zingiber officinale*), *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan Umum :

Penelitian ini bertujuan untuk melihat efektivitas antijamur ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.

Tujuan Khusus :

1. Menguji efektivitas antijamur ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
2. Menguji efektivitas antijamur *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
3. Menguji efektivitas antijamur kombinasi ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
4. Membandingkan efektivitas antijamur kombinasi ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pemberian ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) atau *Virgin Coconut Oil* (VCO) saja dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.

1.4. Manfaat Penelitian

Manfaat Teoritis

1. Memberikan informasi efektivitas antijamur ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
2. Mengembangkan ilmu pengetahuan mengenai pemanfaatan tanaman herbal sebagai fitofarmakologi dalam pengobatan infeksi jamur *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.

Manfaat Praktis

1. Memberikan informasi bagi masyarakat bahwa jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) dapat digunakan sebagai solusi alternatif untuk pengobatan otomikosis yang disebabkan oleh *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
2. Meningkatkan nilai guna jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang sebelumnya jarang dimanfaatkan menjadi solusi pengobatan alternatif terapi antijamur *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.

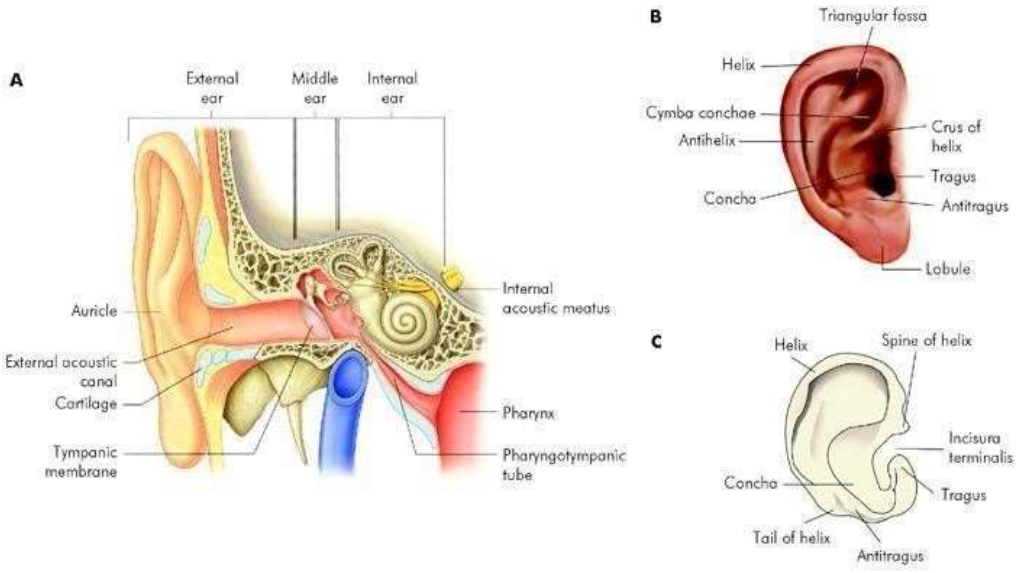
1.5. Hipotesis Penelitian

1. Ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) memiliki efektivitas antijamur dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
2. *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki efektivitas antijamur dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
3. Pemberian kombinasi ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki efektivitas yang lebih baik dibandingkan pemberian ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) atau *Virgin Coconut Oil* (VCO) saja dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro* di Makassar.
4. Pemberian kombinasi ekstrak jahe (*Zingiber officinale*) dan *Virgin Coconut Oil* (VCO) memiliki efektivitas yang setara dengan *Fluconazole* sebagai antijamur secara *in vitro* di Makassar.

BAB II
TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Anatomi Dan Fisiologi Telinga Luar

Anatomi telinga dibagi menjadi tiga wilayah utama: telinga luar, yang mengumpulkan gelombang suara dan mengalirkannya ke dalam; telinga tengah, yang menyampaikan getaran suara ke jendela oval; dan telinga bagian dalam, yang menampung reseptor untuk pendengaran dan keseimbangan.Telinga dipersarafi oleh saraf kranial kedelapan atau nervus auditorius. (Dhingra, 2018)



Gambar 2. 1 Anatomi Telinga. Telinga bagian luar terdiri dari aurikel atau pinna, kanal akustik eksternal, dan membrane timpani. (Dhingra, 2018)

2.1.1. Aurikel atau Pinna

Seluruh pinna kecuali lobulusnya dan bagian luar saluran akustik eksternal terdiri dari satu bagian tulang rawan elastis kuning yang dilapisi dengan kulit. Bagian ujungnya melekat erat pada perikondrium di permukaan lateral sementara sedikit longgar di permukaan medial (tengkorak). (Dhingra, 2018).

Tidak ada tulang rawan antara tragus dan crus helix, dan area ini disebut *incisura terminalis*. Pinna juga merupakan sumber beberapa bahan cangkok untuk ahli bedah. Tulang rawan dari tragus, perikondrium dari tragus atau konka dan lemak dari lobulus sering digunakan untuk operasi rekonstruksi telinga tengah.

Tulang rawan konka juga telah digunakan untuk memperbaiki *nasal bridge* yang tertekan sementara cangkok komposit tulang rawan kulit dari pinna kadang-kadang digunakan untuk memperbaiki cacat pada hidung. (Dhingra, 2018).

2.1.2. Kanalis Akustikus Eksternus

Kanal akustik eksternal memanjang dari bagian bawah konka ke membran timpani dan berukuran sekitar 24 mm di sepanjang dinding posteriornya. Kanal ini tidak berbentuk lurus: bagian luarnya diarahkan ke atas, ke belakang, ke depan dan ke tengah. Oleh karena itu, untuk melihat membran timpani, pinna harus ditarik keatas,kebelakang dan kesamping sehingga kedua bagian tersebut sejajar. (Dhingra, 2018).

Menurut Dhingra yang ditulis dalam bukunya berjudul *Diesease of Ear, Nose and Throat; Head and Neck Surgey* kanal akustik terdiri dari dua bagian, yaitu:

2.1.3. Membran Timpani

Bagian ini membentuk sekat antara saluran akustik eksternal dan telinga tengah. Sekat ini terletak miring dan mengakibatkan bagian posterosuperiornya lebih lateral daripada bagian anteroinferiornya. Tingginya 9-10 mm, lebar 8-9 mm dan tebal 0,1 mm. Membran timpani dapat dibagi menjadi dua bagian : (Dhingra, 2018)

1. **Pars Tensa**

   Bagian ini membentuk sebagian besar membran timpani. Pinggirannya menebal untuk membentuk cincin *fibrocartilaginous* yang disebut *annulus tympanicus*, yang cocok dengan sulkus timpani. Bagian tengah pars tensa melengung ke dalam setinggi ujung maleus dan disebut umbo.

2. **Pars Flaccida (Membran Shrapnell)**

   Bagian ini terletak di atas proses lateral malleus antara takik Rivinus dan lipatan mallea anterior dan posterior (sebelumnya disebut lipatan malleolar). Ini tidak terlalu kencang dan mungkin tampak agak merah muda. Membran timpani terdiri dari tiga lapisan:

   1. Lapisan luar epitel yang bersambung dengan lapisan kulit meatus.
   2. Lapisan mukosa bagian dalam, yang bersambung dengan mukosa telinga

tengah.

3. Lapisan fibrosa tengah, yang membungkus gagang maleus dan memiliki tiga jenis serat; radial, sirkuler, dan parabola. Lapisan berserat pada pars flaccida tipis dan tidak tersusun menjadi berbagai serabut seperti pada pars tensa.
4. Lapisan fibrosa tengah, yang membungkus gagang maleus dan memiliki tiga jenis serat; radial, sirkuler, dan parabola. Lapisan berserat pada pars flaccida tipis dan tidak tersusun menjadi berbagai serabut seperti pada pars tensa.

2.2. Candida Albicans

2.2.1. Deskripsi *Candida Albicans*

Jamur *Candida albicans* telah dikenal dan dipelajari sejak abad ke-18 yang menyebabkan penyakit karena higiene yang buruk. Penyakit ini dapat mengenai semua umur terutama bayi dan orang tua. Infeksi yang disebabkan *Candida albicans* dapat berupa akut, subakut atau kronis pada seluruh tubuh manusia. *Candida albicans* adalah *monomorphic yeast* dan *yeast like organism* yang tumbuh baik pada suhu 25-30^{o}C dan 35-37^{o}C (Mutiawati, 2016).

Candida albicans adalah spesies polimorfik dan patogen oportunistik yang paling umum, terutama pada orang dengan sistem kekebalan yang terganggu (misalnya pasien kanker, transplantasi, atau HIV). Kandidiasis oral terjadi sebagai akibat dari pertumbuhan berlebih sel-sel mikroorganisme residen. Sel-sel *Candida albicans* dapat menempel dan menginfeksi jaringan manusia dan melekat pada prostesis, mengarah pada pembentukan biofilm, yang selanjutnya memfasilitasi adhesi, infeksi, dan resistensi terhadap antijamur. Produksi berbagai hidrolase ekstraseluler telah terlibat dalam patogenisitas *Candida albicans* (Oliva *et al.,* 2013)

Spesies *Candida* adalah organisme yang menyerupai ragi berukuran 2 hingga 6 µm yang berkembang biak dengan cara *budding* (tunas). Spesies *Candida* menyebabkan spektrum penyakit yang luas mulai dari tingkat keparahan mulai dari infeksi selaput lendir yang terlokalisasi hingga penyakit yang disebarluaskan yang mengancam jiwa. Penentu utama keparahan infeksi adalah respon imun pada inang. Infeksi lokal sering dikaitkan dengan pertumbuhan berlebih *Candida albicans* sebagai akibat dari perubahan flora normal.

Candida albicans adalah jamur tipe ragi yang umumnya menyebabkan infeksi kulit. Sementara beberapa spesies *Candida* dapat menjadi patogen, yang paling umum adalah *Candida albicans*. Spesies *Candida* adalah jamur tipe ragi

gram positif uniseluler yang bereproduksi dengan cara tunas. Bentuknya dimorfik, memiliki potensi untuk hidup dalam dua bentuk: sebagai blastospora oval (atau *blastoconidia*), atau sebagai *pseudohyphae.* Tunas terjadi dari blastospora (Dowd, 2014).

2.2.2 Morfologi *Candida Albicans*

Candida albicans yaitu organisme yang memiliki dua wujud dan bentuk secara simultan atau *dimorphic organism*. Pertama adalah *yeast- like state* (non-invasif dan sugar fermenting organism). Kedua adalah *fungal form* memproduksi *root like structure* atau struktur seperti akar yang sangat panjang dengan rhizoids dan dapat memasuki mukosa (invasif). Dinding sel Kandida dan juga *Candida albicans* bersifat dinamis dengan struktur berlapis, terdiri dari beberapa jenis karbohidrat berbeda (80 — 90%), unsur pokok yang lain adalah protein (6 — 25%), dan lemak (1 – 7%).*Yeast cells* dan *germ tubes* memiliki komposisi dinding sel yang serupa, meskipun jumlah α-glucans, *chitin*, dan *mannan* relative bervariasi karena faktor morfologinya. Jumlah *glucans* jauh lebih banyak dibanding mannan pada *Candida albicans* yang secara imunologis memiliki keaktifan yang rendah.

Jamur *Candid*a tumbuh dengan cepat pada suhu 25-37^{o}C pada media perbenihan sederhana sebagai sel oval dengan pembentukan tunas untuk memperbanyak diri, dan spora jamur disebut blastospora atau sel *yeast* / sel khamir. Morfologi mikroskopis *Candida albicans* pada gambar 2.2 dan gambar 2.3 menunjukkan pseudohifa dengan *cluster* di sekitar blastokonidia bulat bersepta panjang berukuran 3-7x3-14 µm. Jamur membentuk hifa semu (pseudohifa) yang sebenarnya adalah rangkaian blastospora yang bercabang, juga dapat membentuk hifa sejati. Pseudohifadapat dilihat dengan media perbenihan khusus. Candida albicans dapat dikenali dengan kemampuan untuk membentuk tabung benih (*germ tube)* dalam serum atau dengan terbentuknya spora besar berdinding tebal yang dinamakan *chlamydospore.* Formasi *chlamydospore* baru terlihat tumbuh pada suhu 30-37^{o}C, yang memberi reaksi positif pada pemeriksaan *germ tube*. Identifikasi akhir semua spesies jamur memerlukan uji biokimiawi. (Mutiawati, 2016).

Gambar 2. 2 Morfologi Dinding Sel *Candida Albicans*

1. Struktur dinding *Candida albicans. Mannan (polymers of mannose)* berpasangan dengan protein membentuk glikoprotein (mannoprotein); α-glucans yang bercabang menjadi polimer glukosa yang mengandung α-1,3 dan α-1,6 yang saling berkaitan; dan chitin, yaitu homopolimer N-acetyl-D-glucosamine (Glc-NAc) yang mengandung ikatan α-1,4. (2) Bentuk mikroskopis *Candida albicans* (Mutiawati, 2016).

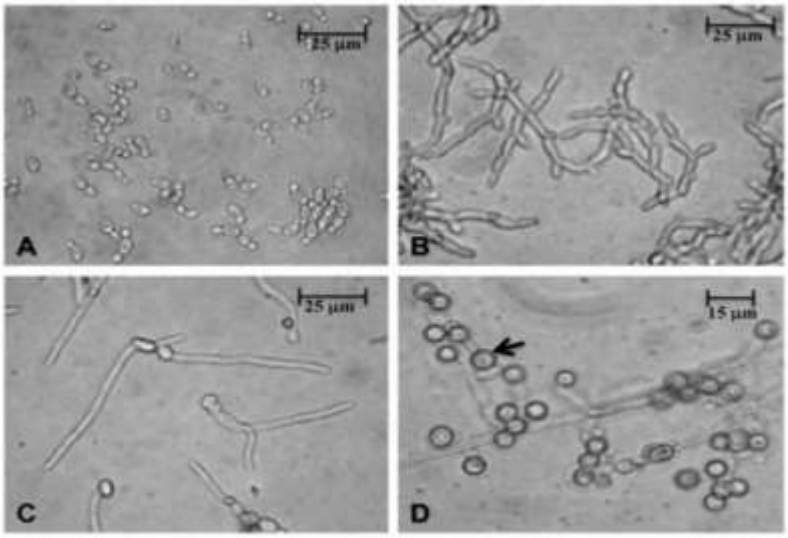


FIGURE 2 Photomicrographs showing the different growth morphologies of *C. albicans* yeast cells (A), pseudohyphae (B), hyphae (C), and chlamydospores (D; one example is indicated by an arrow).

Gambar 2. 3 Morfologi Candida Albicans

2. Secara mikroskopik dapat terlihat perbedaan morfologi pertumbuhan *Candida albicans* pada sel ragi. (A) pseudohifa ; (B) hifa ; (C) klamidospora (Calderone dan Clancy, 2012).

2.3. Otomikosis

2.3.1 Definisi

Otomikosis adalah infeksi jamur pada saluran pendengaran eksternal dan komplikasinya terkadang melibatkan telinga tengah. Jamur menyebabkan 10% dari semua kasus otitis eksterna. Ini terjadi karena lipid / asam asam pelindung telinga hilang. Dalam beberapa tahun terakhir, infeksi jamur oppurtunistik telah bertambah besar pentingnya dalam pengobatan manusia, mungkin karena meningkatnya jumlah pasien yang mengalami gangguan sistem imun. Namun, jamur tersebut juga dapat menghasilkan infeksi pada inang imunokompeten. Pada pasien *immunocompromised*, pengobatan otomikosis harus kuat untuk mencegah komplikasi seperti gangguan pendengaran dan infeksi tulang temporal. Andrall dan Gaverret adalah orang pertama yang menggambarkan infeksi jamur pada telinga; meskipun spektrum jamur luas terlibat, *Aspergillus* dan *Candida* adalah spesies yang paling umum ditemui. (Satish, 2013).

2.3.2 Etiologi dan Faktor Resiko

Beberapa jamur dapat menyebabkan reaksi radang liang telinga. Dua jenis jamur yang yang sering ditemukan adalah *Pityrosporum* dan *Aspergillus niger, Aspergillus flavus* (Humaira,2012).

Spesies yang paling sering adalah *Aspergillus flavus* (42,4%), *Aspergillus niger* (35,9%), *Aspergillus fumigatus* (12,5%), *Candida albicans* (7,1%), *Aspergillus terreus* (1,6%), dan *Paecilomyces variotii* (0,5%). (Mahmoudabadi, 2010).

Otomikosis dapat dijumpai diberbagai wilayah di dunia, umumnya prevalensi otomikosis terkait dengan wilayah demografis dengan tingkat kelembaban yang tinggi di daerah tropis dan subtropis. Negara tropis dan subtropis mempunyai derajat kelembaban yang tinggi sekitar 70-80% dengan suhu udara sekitar 15-30^{o}C. (Barati, 2011)

Faktor resiko penyakit ini disebabkan oleh perubahan kelembaban, suhu yang tinggi, maserasi kulit liang telinga yag terpapar lama oleh kelembaban, trauma lokal serta masuknya bakteri sebagai keadaan yang sering berkaitan dengan penyakit ini. Menurunya sistem imun (*immunocompromised*), penggunaan steroid, penyakit dermatologi, ketiadaan serumen, penggunaan alat bantu dengar dan pengguaan antibiotik spektrum luas juga merupakan faktor resiko timbulnya otomikosis.

Sedangkan pada penelitian yang dilakukan oleh Satish (2013), 60% dari pasien memberikan riwayat manipulasi/trauma pada Kanalis Akustikus Eksternus

(KAE) dengan tongkat, bulu, pemetik logam, pin, *cotton bud* dll, 48% dari pasien memiliki riwayat penggunaan obat tetes telinga antibiotik atau penggunaan minyak nonsteril ke telinga. Juga, 30% dari pasien memiliki penyakit sistemik terkait, 27% terkait OMSK (Otitis Media Supuratif Kronis) dan OE (Otitis Eksterna), 8% di antaranya memiliki rongga mastoid dan 15% tidak memiliki faktor predisposisi.

Pada dasarnya, telinga bisa membersihkan dirinya sendiri dengan membuang sel-sel kulit mati dari gendang telinga melalui saluran telinga. Mekanisme ini bisa terganggu karena kebiasaan membersihkan saluran telinga dengan *cotton bud*. Serumen dan sel-sel kulit mati terdorong ke garah gendang telinga sehingga kotoran menumpuk disana dan akan menyebabkan penimbuan air yang masuk ke dalam saluran telinga ketika mandi atau berenang. Kulit yang basah dan lembab ini dapat memudahkan tumbuhnya jamur (Humaira, 2012).

Kulit yang normal mengandung lapisan lemak yang tipis pada permukaannya yang mempunyai kerja antibakteri dan fungistatik.Trauma oleh benda asing pada saluran telinga dapat menyebabkan lapisan lemak dari tulang rawan liang telinga terbuang. Pada umunya, lapisan ini berganti dengan sendiri, namun apabila dicuci berkali-kali maka lapisan lemak tersebut akan menghilang dan organisme patogen yang tertanam dapat berkembang (Dhingra, 2012).

Olahraga air misalnya berenang dan berselancar sering dihubungkan dengan otomikosis oleh arena paparan ulang dengan air sehingga kanal menjadi lembab dan dapat mempermudah pertumbuhan jamur (Humaira, 2012).

2.3.3 Manifestasi Klinis

Otomikosis hadir dengan gejala nonspesifik seperti pruritis, kemampuan mendengar menurun, diikuti dengan otalgia, otore dan tinnitus. Penampakan lokal dalam otomikosis adalah penumpukan fibrosa yang tebal dari puing-puing kulit yang mati terlihat seperti kapas atau kertas basah, area kecil berbatas tegas dari jaringan granulasi didalam saluran pendengaran eksternal atau disekitar membrane timpani diserti keluarnya cairan encer (Manjunath, 2020).

Rasa penuh pada telinga merupakan keluhan umum pada tahap awal dan sering mengawali terjadinya rasa nyeri. Rasa sakit pada telinga bisa bervariasi mulai dari hanya berupa perasaan tidak enak pada telinga, perasaan penuh dalam telinga, perasaan seperti terbakar hingga berdenyut diikuti nyeri yang hebat (Humaira, 2012).

Gambar 2. 4 Pemeriksaan otoskop pada otomikosis (Manjunath, 2020)

Menurut Bansal pada tahun 2013, gejala pada penderita otomikosis adalah:

1. Gatal-gatal hebat, rasa tidak nyaman, atau sakit telinga.
2. Discharge dengan bau apek dan penyumbatan telinga.
3. Kulit yang sodden (lembap), merah, dan edematosa.
4. Sedangkan menurut penelitan Itor, *et al* dari 250 pasien didapatkan 100 orang (40%) mengalami gatal-gatal, 50 orang (20%) mengalami otalgia, 30 orang (12%) mengalami otorrhea, 1 orang (6.8%) mengalami tinnitus, 20 orang (8%) mengalami inflamasi, dan 33 orang (13.2%) mengalami kesulitan mendengar.

2.3.4 Patofisiologi

Otomikosis terhubung dengan histologi dan fisiologi saluran pendengaran eksternal. Kanal silinder dengan panjang 2,5 cm dan lebar 7-9 mm ini dilapisi dengan epitel skuamosa berkeratin bertingkat yang berlanjut di sepanjang sisi luar membran timpani. Pada reses timpani interior, medial ke isthmus cenderung menumpuk sisa-sisakeratin dan serumen dan daerah itu sulit dibersihkan (Edward dan Irfandy, 2012).

Serumen memiliki sifat antimikotik dan bakteriostatik serta merupakan pengusir serangga. Serumen terdiri dari lipid (46 hingga 73%), protein, asam amino bebas dan ion mineral, ia juga mengandung lisozim, imunoglobulin, dan asam lemak tak jenuh ganda. Asam lemakrantai panjang yang ada di kulit tidak rusak mungkin menghambat pertumbuhan bakteri. Karena komposisinya yang bersifat hidrofobik, serumen mampu menahan air, membuat permukaan saluran menjadi kedap air dan menghindari maserasi dan kerusakan epitel (Edward dan Irfandy, 2012). Serumen berfungsi sebagai pelindung dan menjaga pHdi dalam

liang telinga agar tetap asam yang menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Wipperman, 2014). Respon inflamasi pada otitis eksterna diyakini disebabkan oleh gangguan pada pH normal dan faktor pelindung di dalam saluran pendengaran (Hajioff, 2015).

Mekanisme alami pembersihan telinga berupa migrasi ephitelial dari umbo membrane timpani kearah lateral mengeluarkan serumen dari dalam telinga. Selain itu, gerakan mengunyah juga dapat membantu proses pengeluaran serumen tersebut (Olausun, 2014). Penggunaan *cotton bud* dapat mengganggu mekanisme *self claning* dan dapat mendorong sel-sel kulit mati beserta serumen kearah gendang telinga sehingga kotoran menumpuk disana. Masalah ini juga diperberat oleh adanya susunan anatomis berupa lekukan pada liang telinga (Oghalai, 2013).

Kadar keasaman pada serumen berkisar antara 4-5 yang berfungsi menekan pertumbuhan bakteri dan jamur (Marlinda *et al*, 2016). Perubahan kadar keasaman KAE yang bisa disebabkan kadar kelembaban yang tinggi, sering membersihkan telinga atau berenang dapat memungkinkan risiko terjadinya otomikosis (Sudarajad *et al*, 2018).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Satish, Vishwantha dan Manjuladevi 60% dari pasien memberikan riwayat trauma pada KAE dengan tongkat/batang, bulu, alat pembersih telinga logam, peniti, *cotton bud*, dll. 48% pasien memiliki riwayat penggunaan obat tetes telinga antibiotik, steroid antibiotik telinga tetes, atau menggunakan minyak nonsteril ke telinga. Juga, 30% dari pasien kami memiliki penyakit sistemik terkait, 27% terkait Otitis Media Supuratif Kronik, 8% diantaranyamemiliki rongga mastoid dan 15% tidak memiliki faktor predisposisi.

Mikroorganisme normal yang ditemukan disaluran pendengaran eksternal seperti *Staphylococcus epidermidis*, *Corrynebacterium sp, Bacillus sp, Gram-positive cocci (Staphylococcus aureus, Sterptococcus sp, non-pathogenic micrococci), Gram-negative bacilli* (*Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Haemophilella influenza,* dll) dan jamur miselia dari *Genus Aspergillus* dan *Candida sp.* Mikroorganisme komensal ini bukanlah patogen kecuali masih ada keseimbangan antara bakteri dan jamur (Edward dan Irfandy, 2012).

2.3.5 Penatalaksanaan

Perawatan terdiri dari *ear toilet* menyeluruh untuk menghilangkan semua

kotoran dan puing-puing epitel yang konduktif untuk pertumbuhan jamur.

Antijamur khusus dapat diterapkan. Nistatin (100.000 unit/mL profililen glikol) efektif melawan *Candida*. Agen antijamur spektrum luas lainnya termasuk klotrimazol dan povidon Iodin. Asam salisilat dua persen dalam alkohol juga efektif. Ini adalah agen keratokitik yang menghilangkan lapisan superfisial epidermis dan bersama dengan topi, miselium jamur tumbuh ke dalamnya. Perawatan antijamur harus dilanjutkan selama seminggu bahkan setelah penyembuhan nyata untuk menghindari kekambuhan. Telinga harus tetap kering. Infeksi bakteri sering dikaitkan dengan sediaan antibiotik / steroid membantu mengurangi peradangan dan edema dan dengan demikian persiapan awal yang lebih baik dari agen antijamur (Dhingra, 2018).

Sediaan antijamur dapat dibedakan menjadi jenis non spesifik dan spesifik. Antijamur non spesifik termasuk larutan asam dan dehidrasi seperti:

1. Asam borat merupakan asam sedang dan sering digunakan sebagai antiseptik dan insektisida. Asam borat dapat digunakan untuk mengobati jamur dan infeksi jamur penyebabCandida albicans.
2. Gentian violet dibuat sebagai larutan konsentrat rendah (mis. 1%) dalam air. Telah digunakan untuk mengobati otomikosis karena merupakan pewarna anilin dengan aktivitas antiseptik, antiinflamasi, antibakteri dan antijamur. Ini masih digunakan di beberapa negara dan disetujui FDA. Studi melaporkan kemanjuran hingga 80%.
3. Cat Castellani (aseton, alkohol, fenol, fuchsin, resocinol).
4. Cresylate (merthiolate, M-cresyl acetate, propylene glycol, asam borat dan alkohol) .
5. Merchurochrome, antiseptik topikal yang terkenal, antijamur.

Dengan *merthiolate* (*thimerosal*), *merchurochrome* tidak lagi disetujui oleh FDA karena mengandung merkuri. Tisner (1995) melaporkan kemanjuran 93,4% dalam menggunakan *thimerosal* untuk otomikosis. *Merchurochrome* telah digunakan secara khusus untuk kasus di lingkungan lembab dengan efektivitas antara 95,8% dan 100%.

Terapi antijamur spesifik terdiri dari:

1. Nistatin adalah antibiotik makrolida poliena yang menghambat sintesis sterol dalam membran sitoplasma. Banyak jamur dan ragi yang sensitif terhadap nistatin termasuk spesies *Candida*. Keuntungan utama dari nistatin adalah tidak terserap di kulit utuh. Nistatin tidak tersedia sebagai larutan *ottic* untuk

pengobatan otomikosis. Nistatin bisa diresepkan sebagai krim, salep atau bedak. Dengan tingkat efektivitas hingga 50-80%.

2. *Azoles* adalah agen sintetik yang menurunkan konsentrasi ergosterol dan sterolesensial dalam membran sitoplasma normal.
3. *Clotrimazole* paling banyak digunakan sebagai *azole* topikal. Tampaknya menjadi salah satu agen yang paling efektif untuk manajemen otomikosis dengan tingkat efektif 95-100%. *Clotrimazole* memiliki efek bakteri dan ini adalah keuntungan ketika dokter mengobati infeksi jamur dan bakteri campuran. *Clotrimazole* tidak memiliki efek ototoksik dan tersedia dalam bentuk bubuk, losion, dan larutan.
4. *Ketoconazole* dan *Fluconazole* memiliki aktivitas spektrum yang luas. Khasiat *Ketoconazole* dilaporkan 95-100% terhadap spesies *Aspergillus* dan *Candida albicans*. Dapat ditemukan dalam bentuk krim 2%. *Fluconazole* topikal telah dilaporkan efektif pada 90% kasus.
5. Krim *miconazole* 2% juga telah ditunjukkan pada tingkat kemanjuran hingga 90%.
6. *Bifonazole* adalah agen antijamur dan umum digunakan ditahun 80-an. Potensi larutan 1% mirip dengan *Clotrimazole* dan *Miconazole*. *Bifonazole* dan turunannya menghambat pertumbuhan jamur hingga 100% .
7. *Itraconazole* juga memiliki efek *in vitro* dan *in vivo* terhadap spesies *Aspergillus*.

.

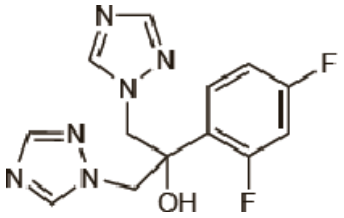
2.4. Fluconazole

2.2.2. Deskripsi *Fluconazole*

Fluconazole adalah *triazole* yang disetujui oleh FDA pada tahun 1990 untuk terapi infeksi *Candida*. *Fluconazole* juga memiliki aktivitas melawan mikosis endemik, tetapi tidak ada aktivitas melawan jamur oportunistik. *Fluconazole* tersedia dalam formulasi oral dan IV (Wattier dan Steinbach, 2018).

Gambar 2.5 menunjukkan struktur kimia *Fluconazole* yang dikenal sebagai α- (2,4-di-urofenil) -α- (1H-triazol-1-metil) -1H-1,2,4-triazole-1- etanol, seperti ditunjukkan pada *Fluconazole* adalah golongan *triazole*, dan bentuknya seperti bubuk kristal, putih atau hampir putih. *Fluconazole* sedikit larut dalam air, larut dalam alkohol dan aseton, mudah larut dalam metanol, dan sangat sedikit larut dalam toluena. Bentuk molekulnya adalah C13 H12 F2 N (C = 50,98%, H = 3,95%, F = 12,41%, N = 27,44%, O = 5,22%), dan berat molekulnya adalah

306,27 g / mol. Titik lebur *Fluconazole* adalah 223-224°C. Ini adalah basa lemah dan konstanta ionisasi (pKa) diukur dalam 1,1 MNaOH adalah 1,76 ± 0,10, dengan protonasi nitrogen yang dominan. Ini harus disimpan dalam botol tertutup rapat dan suhu penyimpanan harus dijaga di bawah 30°C. *Fluconazole* dikembangkan di *Pfizer Central Research*, Sandwich, Kent, Inggris, dan publikasi pertama tentang agen baru ini dibuat oleh Kenneth Richardson pada tahun 1985.



Gambar 2. 5 Struktur Kimia *Fluconazole* (Casalinuovo *et al*., 2004)

Pengembangan *Fluconazole* adalah hasil dari program penelitian untuk desain agen anti jamur spektrum luas, aktif melalui oral dan intravena, untuk pengobatan superfial dan sistemik. Bahan awal adalah turunan *Imidazole*, yang umumnya ditoleransi dengan baik dan juga karena mereka menawarkan keuntungan dari mode aksi selektif dan penghambatan enzim penting dalam membran ergosterol.

Fluconazole menunjukkan stabilitas yang baik dalam larutan air; beberapa studi menunjukkan persiapan tanpa persiapan atau suntikan obatyang isinya tetap stabil selama lebih dari 15 hari. Stabilitas formulasi yang dapat diinjeksi selama 1 hingga 2 tahun bila disimpan dalam botol kaca atau plastik pada suhu 5 hingga 30°C (Corrêa dan Salgado, 2011).

2.2.3. Cara Kerja *Fluconazole* pada *Candida Albicans*

Fluconazole biasanya digunakan sebagai obat anti jamur. Lee dan Lee, (2019) menjelaskan mekanisme fungisidal *Fluconazole* yaitu *Fluconazole* menyebabkan kerusakan oksidatif dan secara signifikan meningkatkan ROS pada mitokondria. Selama terjadi stress oksidatif, pengobatan dengan *Fluconazole* konsentrasi tinggi mengakibatkan kerusakan mitokondria. Kerusakan ini menyebabkan lepasnya sitokrom c dari mitokondria ke dalam sitosol. Pada akhirnya, aktivasi *caspase* yang disebabkan oleh pelepasan sitokrom c menyebabkan apoptosis. Sehingga dapat disimpulkan bahwa aktivitas *Fluconazole* sebagai fungisidal *dose-independent* menginduksi respon apoptosis.

2.2.4. Mekanisme Resisten *Candida spp.* Terhadap *Azole*

Resistensi *Azole* diantara *Candida* spp. melibatkan beberapa mekanisme, termasuk upregulasi transporter obat, *over*-ekspresi atau perubahan target obat, dan perubahan seluler yang disebabkan oleh efek non target karena respon stress. Mekanisme ini dapat terjadi baik sendiri atau bersamaan dalam satu isolat, dan dapat menghasilkan efek aditif atau menyebabkan resistansi silang di antara obat azole. Induksi pompa efluks, yang menurunkan konsentrasi obat di dalam sel, adalah mekanisme resistensi obat yang paling umum. Biofilm secara efektif mengurangi konsentrasi obat dengan menangkapnya dalam polimer matriks yang kaya glukan. Biofilm yang matur menunjukkan arsitektur kompleks dengan tipe sel heterogen yang tergabung dalam matriks ekstraseluler. Gangguan proses ini oleh modulasi genetik atau kimia sintase β-1,3-*glucan* mengurangi penyerapan obat dalam matriks, membuat biofilm rentan terhadap agen anti jamur. Secara keseluruhan, pembentukan biofilm adalah mekanisme universal yang mempengaruhi *Azole* dan kelas obat anti jamur sistemik lainnya (Perlin *et al.*, 2017).

Mekanisme pertama yang terkait dengan penurunan kerentanan atau resistensi *Candida* terhadap antijamur *Azole* adalah induksi pompa efluks yang mengarah pada penurunan konsentrasi obat pada target enzim di dalam sel jamur. Mekanisme umum resistensi pada spesies *Candida* adalah perolehan mutasi titik pada gen yang mengkode enzim target (ERG11), menghasilkan target yang diubah dengan pengurangan afinitas atau ketidakmampuan untuk mengikat *Azole*. Mekanisme ini dapat diperparah jika ada ekspresi berlebih atau *up*-regulasi dari enzim target yang diubah (Pfaller, 2012).

2.5. Apoptosis

2.2.5. Definisi Apoptosis

Istilah apoptosis dikenalkan pertama kali oleh Kerr, Wyllie dan Currie (1972) untuk menggambarkan kematian sel terprogram atau yang lebih dikenal dengan *Programmed Cell Death* (PCD). Kata apoptosis berasal dari bahasa Yunani yang memiliki arti gugurnya kelopak bunga atau daun dari sebuah pohon (Hongmei, 2012). Jadi apoptosis merupakan mekanisme kematian sel terprogram yang terjadi secara aktif, metabolik serta dikode secara genetik.

Kematian sel dibagi menjadi dua jenis yaitu apoptosis dan nekrosis.

Apoptosis terjadi secara fisiologis dimana sel melakukan program kematian sendiri secara otomatis karena teraktifasinya jalur apoptosis baik jalur intrinsik maupun ekstrinsik. Perubahan yang terjadi selama apoptosis adalah perubahan morfologi dan biokimia. Penanda apoptosis pada penampakan morfologi sel ditemukan adanya penurunan volume seluler (*pyknosis*), perubahan bentuk sel menjadi bulat, *blebbing* membran plasma, kondensasi kromatin, fragmentasi nukleus, apoptosis bentuk tubuh dan perubahan kecil pada organel sitoplasma. Sedangkan penanda biokimia apoptosis meliputi aktivasi protease sistein, eksternalisasi Phosphatidylserine, fragmentasi DNA dan adanya peningkatan oksidan reaktif (Engelbrecht and Durand, 2012).

Proses awal dari apoptosis dimulai dari adanya ekspresi *Phosphatidylserine* (PS) yang dikeluarkan dari lapisan dalam ke lapisan luar membran sel, sedangkan akhir dari proses apoptosis adalah terbentuknya *apoptosis body* pada sel yang telah mati dan secara otomatis dapat dikenali oleh makrofag tanpa adanya pelepasan komponen pro inflamatori. Gambaran lain dari proses apoptosis adalah teraktivasinya *caspase*. *Caspase* merupakan protease sistein yang merupakan enzim dan berfungsi sebagai pemecah nukleus serta dinding sel. Komponen apoptosis lainnya yaitu anggota pro apoptosis dan anti apoptosis. Famili Bcl-2 merupakan pro apoptosis dan saat ini memiliki 18 anggota famili yang telah teridentifikasi. Pembagian grup dibagi menjadi dua berdasarkan strukturnya yaitu grup pertama diwakili oleh Bcl-2 dan Bcl-xL yang berfungsi sebagai protein anti apoptosis. Anggota grup kedua yang merupakan protein pro-apoptosis diwakili oleh sub famili Bax dan Bcl-2 associated killer (Bak), serta subfamili a novel BH3 domain-only death agonist (Bid) dan the Bcl-2 associated death molecule (Bad) (O'Brien dan Kirby, 2008).

Apoptosis ditandai oleh seperangkat penanda morfologis yang berbeda. Sel- sel jamur menunjukkan tanda-tanda apoptosis khas seperti eksternalisasi *fosfatidilserin*, fragmentasi DNA serta fragmentasi dan kondensasi kromatin. Selanjutnya terjadi pelepasan *sitokrom* c dari mitokondria, mengurangi potensi membran mitokondria dan pembentukan badan apoptosis. Semua tanda tersebut menandai kematian sel jamur yang terprogram. Madeo et al (1997) pertama kali menemukan jalur apoptosis mirip dengan yang ada pada organisme multisel yaitu pada jamur *Saccharomyces cerevisiae*. Sejak itu beberapa rangsangan endogen dan eksogen telah terbukti bertanggung jawab untuk induksi apoptosis pada jamur ini. Beberapa rangsangan ini termasuk mutasi atau penghapusan gen spesifik dan

rangsangan eksogen seperti asam asetat dan hidrogen peroksida. Penelitian juga menunjukkan adanya jalur apoptosis pada patogen *Candida albicans*. Dalam jamur ini, peptida antimikroba seperti *melittin*, *psacotheasin*, *pleurocidin*, *papiliocin* dan *arenicin-1* ditemukan bersifat antijamur melalui induksi apoptosis.

2.2.6. Membran Sel

Membran sel adalah lapisan pelindung sel yang terdiri dari lapisan ganda fosfolipid dan berbagai protein. Membran menjaga sitoplasma dari lingkungan sekitar. Integritas dan fluiditas membran sel menjadi penting untuk kelangsungan hidup dan pertumbuhan sel jamur. Satu alasan penting adalah bahwa banyak enzim, saluran, dan pengangkut obat terletak pada membran sel. Membran sel adalah lokasi di mana banyak proses metabolisme terjadi dan memberikan penghalang terhadap tekanan lingkungan (Liu *et al.*, 2017).

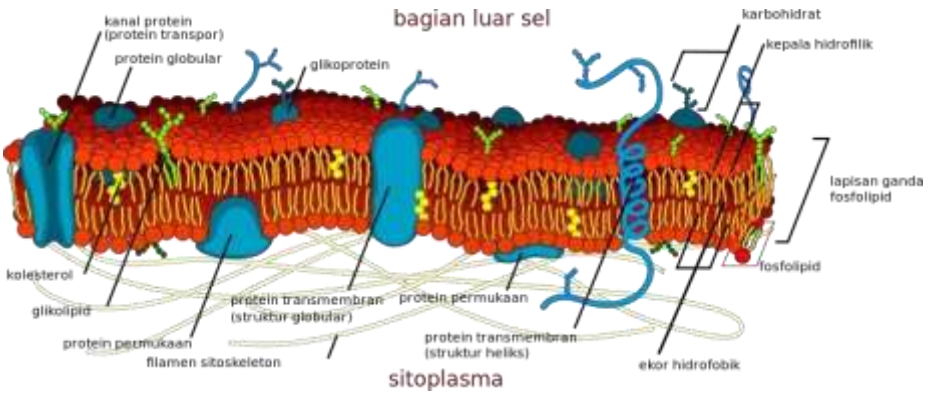
Kerusakan pada membrane sel dapat mengakibatkan kerapuhan osmotik sel jamur, membran terganggu, penghabisan konten sitoplasma dan menekan pertumbuhan jamur (Sultan dan Ali, 2011). Dinding sel spesies *Candida* mengandung glikoprotein dan karbohidrat, di antaranya sebagian besar glukan, manosa dan kitin (Wong, Samaranayake dan Seneviratne, 2014). Berikut ini elemen-elemen pembentuk membran sel meliputi :

1. Chitin; Sebagai salah satu komponen utama dinding sel jamur, kitin adalah homopolimer linier panjang β-1,4-linked N-acetylglucosamine (GlcNAc) dan disintesis oleh penggabungan unit GlcNAc dari prekursor uridine 5'-diphospho-N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc) dalam suatu reaksi yang dikatalisis oleh Chitin Synthetase (CHS) (de Cremer et al., 2015). Meskipun persentase kecil di dinding sel, kitin berperan penting dalam mempertahankan kekuatan mekanis dari dinding sel jamur, sehingga menjaga integritas dinding sel jamur. Kerusakan pada dinding sel dapat diperbaiki dengan peningkatan jumlah kitin di dinding sel karena peningkatan sintesis dan/atau penurunan degradasi kitin, yang dapat meningkatkan toleransi terhadap obat antijamur (Rosa et al., 2016).
2. Glucan; Polimer karbohidrat ini, bersama-sama dengan kitin merupakan komponen struktural yang memegang integritas dan kekuatan fisik dinding sel. Produksi dan perakitan glukan dalam *Candida albicans* membutuhkan serangkaian enzim dan jaringan pengatur yang spesifik dengan jamur,

dengan demikian membuat beberapa target yang menarik untuk terapi antijamur (O'Donnel et al., 2015).

2.2.7. Permeabilitas Membran

Permeabilitas membran merupakan kemampuan yang dimiliki oleh membran pada sel untuk meloloskan sejumlah partikel agar dapat menembus atau melaluinya. Permeabilitas membran tergantung pada muatan listrik danpolaritas dari sebuah molekul. Berikut ini tiga jenis sifat membran berdasarkan kemampuannya: 1) impermeabel yaitu keadaan dimana semua zat yang ada diluar sel tidak dapat masuk kedalam sel karena adanya penolakan oleh membran sel; (2) semipermeabel yaitu keadaan dimana hanya beberapa zat tertentu yang hanya bisa masuk kedalam sel karena zat tersebut dibutuhkan oleh sel itu sendiri dan (3) permeabel yaitu keadaan dimana semua jenis zat dapat masuk kedalam sel karena membran sel mengalami kerusakan sehingga sel tidak dapat bertahan hidup (Campbell, Reece dan Mitchell (2002).



Gambar 2. 6 Membran Sel (Cooper, 2000)

Membran sel berperan dalam sintesis Adenosan Trifosfat (ATP), pensinyalan sel dan proses adhesi sel. Membran sel bersifat dinamik dan molekulnya dapat bergerak di sepanjang bidang membran. Molekul lipid membran tersusun dalam dua lapis dengan tebal sekitar 5 nm yang menjadi penghalang bagi kebanyakan molekul yang bersifat hidrofilik. Molekul-molekul protein yang menembus lapisan ganda lipid tersebut berperan dalam semua fungsi lain membran, misalnya mengangkut molekul tertentu melewati membran. Ada pula protein yang menjadi pengait struktural ke sel lain atau menjadi reseptor yang

mendeteksi dan menyalurkan sinyal kimiawi dalam lingkungan sel. Diperkirakan bahwa sekitar 30% protein yang dapat disintesis sel hewan merupakan protein membran (Albert et al., 2002).

2.2.8. Kondensasi DNA

DNA (*Deoxyribonucleic Acid*) adalah nama kimia untuk molekul yang membawa instruksi genetik pada semua makhluk hidup. Molekul DNA terdiri dari dua untaian yang berkelok-kelok yang dikenal sebagai *double helix*. Setiap untai terdiri dari *deoksiribosa* dan gugus fosfat. Pada setiap *deoksiribosa* terdapat satu dari empat basa - adenin (A), sitosin (C), guanin (G), dan timin (T). Kedua helai disatukan oleh ikatan antara basa; ikatan adenin dengan timin, dan ikatan sitosin dengan guanin. Urutan basa di sepanjang strand berfungsi sebagai instruksi untuk merakit molekul protein dan RNA.

Kondensasi DNA merupakan salah satu penanda morfologis terjadinya apoptosis. Kondensasi DNA adalah kondisi dimana terjadi pemampatan atau pemadatan materi DNA sebagai akibat interaksi antara sel dengan senyawa aktif atau karena *Reactive Oxygen Species* (ROS). Kondensasi terjadi akibat terlepasnya phosphatidylserine (PS) yang menyebabkan hilangnya integritas membran sel (Nasirudeen et al., 2004).

Kondensasi DNA bisa diamati melalui pewarnaan inti sel menggunakan DAPI staining, dimana inti sel yang mengalami kondensasi akan berwarna biru dan berbentuk bulat pada bagian tengah yang menandakan inti sel mengalami pemadatan. Kondensasi dimulai melalui pemadatan pada bagian cincin atau perifer dari nukleus, membentuk massa berbatas jelas dengan bentuk dan ukuran. Tahap kedua ketika muncul retakan dan celah pada nukleus, kemudian inti dapat pecah membentuk fragmen-fragmen dari inti sel tersebut (Tone et al., 2007).

2.6. Uraian Bahan Alam

2.2.9. Jahe (*Zingiber officinale*)

Kedudukan tanaman jahe dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut (USDA, 2021) :

Kingdom	: *Plantae*
Divisi	: *Spermatophyta*
Subdivisi	: *Angiospermae*

Kelas	: *Monocotyledonae*
Ordo	: *Zingiberales*
Famili	: *Zingiberaceae*
Subfamili	: *Zingiberoidae*
Genus	: *Zingiber*
Spesies	: *Zingiber officinale*

Komposisi jahe adalah 84,09% air, 13,38% bahan organik dan 1,53% bahan anorganik. Jahe segar mengandung 80,9% kelembaban, 2,3% protein, 0,9% lemak, 1,2% mineral, 2,4% serat, dan 12,3% karbohidrat. Mineral yang ada pada jahe adalah zat besi, kalsium dan fosfat. Jahe juga mengandung vitamin seperti tiamin, ribaflovin, niasin dan vitamin C. Komposisinya bervariasi menurut jenis, varietas, kondisi agronomis, metode pengawetan, pengeringan dan kondisi penyimpanan (Moatesano, 2019).

Jahe merupakan komoditas pertanian yang memiliki peluang dan prospek yang cukup baik untuk dikembangkan di Indonesia. Jahe tidak hanya digunakan sebagai bahan rempah dan obat, tetapi juga sebagai bahan makanan, minuman dan juga kosmetika. Bahan aktif pada jahe terutama minyak atsiri, gingerol, shogal dan zingeron dapat dimanfaatkan sebagai obat herbal terstandar maupun fitofarmaka (BTTP, 2012).

Peluang pengembangan jahe di Indonesia masih cukup cerah, hal ini dapat dilihat dari permintaan pasar dalam negeri untuk keperluan berbagai industri belum bisa dipenuhi sehingga Indonesia masih mendatangkan jahe dari China. Permintaan pasar akan ekspor jahe cukup tinggi di Indonesia seperti untuk negara Belanda membutuhkan 40 ton setiap bulannya (BPTP, 2012).

Pembudidayaan jahe hampir dilakukan di seluruh wilayah Indonesia. Berdasarkan data Dirjenbun (2010-2019) pada tahun 2013, produktivitas jahe tertinggi di Indonesia berada di wilayah Sumatera dengan produktivitas mencapai 27.4 ton. Di Sumatera Utara, tanaman jahe hampir dibudidayakan di seluruh kabupaten dan kota. Sentra penanaman jahe terbesar pada tahun 2012 berdasarkan data Dinas Pertanian Provinsi Sumatera Utara terdapat di Kabupaten Simalungun yaitu dengan luas areal penanaman 135 Ha dengan produksi mencapai 3.909 ton per tahun dengan produktivitas rata-rata sekitar 29 ton/ha (BPTP, 2012).

Komponen bioaktif utama dari rimpang jahe (*Zingiber officinale*) adalah gingerol, shogaol, dan saponin. Gingerol merupakan unsur fenol utama yang

terdapat pada jahe yang masih segar, dimana shogaol merupakan unsur utama pada jahe yang telah dikeringkan. Proporsi dari kandungan kimia pada jahe putih berbeda-beda, tergantung pada negara asal, prosesor komersial, dan kondisi jahe yang segar, dikeringkan, maupun yang telah diproses (Bode et Dong, 2011).

1. Gingerol

Gingerol merupakan komponen fenol pada jahe yang memberikan karakteristik panas, tajam, dan sensasi menyengat ketika dikonsumsi (Fathona, 2011). Gingerol memiliki warna kuning pucat, dan banyak terdapat pada jahe segar. Gingerol memiliki rumus molekul $C_{17}H_{26}O_4$, dan merupakan senyawa yang labil terhadap panas dan tidak larut dalam air. Gingerol memiliki titik didih 30-32^oC, dan apabila gingerol mengalami kenaikan suhu diatas 60^oC baik selama penyimpanan dan pemrosesan, gingerol akan terdekomposisi menjadi shogaol (Hargono *et al*., 2013).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan sebelumnya, gingerol, yang merupakan senyawa fenol yang didapat dari ekstrak etanol dari jahe (*Zingiber officinale*), dapat mencegah konversi lanosterol menjadi ergosterol melalui penghambatan pada sitokrom P450 di reticulum endoplasma (Rodrigues, 2018). Hal ini mengakibatkan gangguan pada integritas membran sel *Candida albicans* sehingga dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans* (Vikrant *et al*., 2015)

2. Shogaol

Shogaol merupakan hasil pemecahan gingerol akibat pemanasan, sehingga shogaol banyak didapatkan pada jahe yang sudah kering. Shogaol memiliki rasa panas, tajam, dan sensasi menyengat yang lebih lemah dibandingkan dengan gingerol. Shogaol memiliki rumus senyawa $C_{17}H_{24}O_3$ dan juga merupakan senyawa turunan fenol. Shogaol diketahui dapat menghambat biosintesis prostaglandin dan leukotriene dengan menghambat kerja enzim prostaglandin sintase atau 5- lipoksigenase (Fathona, 2011).

3. Saponin

Saponin merupakan senyawa glikosida yang banyak terdapat pada berbagai macam tumbuhan. Satu molekul saponin terdiri dari sebuah aglikon, atau yang biasa disebut dengan sapogenin, dan satu atau dua rantai glukosa.

Berdasarkan struktur aglikonnya, saponin dapat diklasifikasikan menjadi dua tipe, yaitu triterpenoid dan steroid (Liu *et al*., 2004).

Adanya bagian gula yang hidrofilik dan genin hidrofobik pada molekul saponin, saponin memiliki sifat ampifilik. Dengan sifat ampifiliknya, saponin dapat membentuk busa dan menghemolisis eritrosit dengan membentuk ikatan kompleks dengan kolesterol pada membrane sel yang berakibat pada pembentukan pori dan meningkatkan permeabilitas sel (Podolak *et al*., 2010).

Selain dapat melisiskan eritrosit, ternyata saponin diketahui memiliki banyak aktivitas farmakologikal seperti ekspektoran, anti inflamasi, vasoprotektif, hipokolesterolemik, imunomodulator, antijamur, anti parasit, dan masih banyak lagi (Podolak *et al*., 2010).

Sebagai antifungi, saponin dapat bereaksi dengan ergosterol pada membran sel fungi. Reaksi ini kemudian akan mengakibatkan munculnya pori pada membran, meningkatkan permeabilitas membran, dan akhirnya berakibat pada rusaknya integritas dari membran sel fungi tersebut (Mert, 2005).

2.2.10. *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Kedudukan kelapa dalam taksonomi tumbuhan adalah sebagai berikut (USDA,2021) :

Kingdom	: *Plantae*
Divisi	: *Spermathopyta*
Kelas	: *Monocotyledoneae*
Ordo	: *Arecales*
Famili	: *Arecaceae*
Genus	: *Cocos*
Spesies	: *Cocos Nucifera Linn*

Kelapa (*Cocos nucifera* L.) merupakan salah satu tanaman yang sangat berguna dalam kehidupan ekonomi masyarakat karena semua bagian dari pohon kelapa dapat dimanfaatkan untuk memenuhi kebutuhan manusia. Salah satu bagiankelapa yang mempunyai banyak manfaat adalah daging buah kelapa yang di ambil santannya untuk dijadikan minyak kelapa murni (Sardi, 2017).

Virgin Coconut Oil atau yang dikenal sebagai minyak kelapa di Indonesia dan Malaysia merupakan salah satu minyak nabati diperoleh dari ekstraksi inti

kelapa pada tahap matang baik menggunakan mekanik atau pemrosesan termal. Oleh karena kandungan asam lemak jenuh dan lemak yang tinggi, minyak kelapa tahan terhadap modifikasi oksidatif yang membuatnya dapat awet dan terhindar dari paparan jamur (Narayaanankutty, 2018).

Virgin Coconut Oil diperoleh dengan mengekstraksi inti kelapa segar menggunakan cara alami dan tidak menjalani perawatan kimia apa pun seperti pemurnian, pemutihan, dan penghilang bau yaitu untuk menghasilkan minyak yang dimurnikan-dikelantang-deodorisasi (RBD). Dengan kata lain, *Virgin Coconut Oil* yang dihasilkan melalui cara basah, yaitu melalui santan. Standar Nasional Filipina bersama dengan Biro Standar Produk Pertanian dan Perikanan dan Srivastava dkk mendefinisikan *Virgin Coconut Oil* sebagai minyak yang diperoleh dari inti kelapa yang segar dan matang secara mekanis atau secara alami dengan atau tanpa menggunakan panas, tetapisecara khusus tanpa bahan kimia RBD yang tidak menyebabkan perubahan kandungan alami minyak. Karena *Virgin Coconut Oil* dihasilkan berbeda dari minyak kelapa RBD, minyak yang diperoleh sedikit berbeda dari segi dari karakteristik sensoriknya.

Virgin Coconut Oil hampir tidak berwarna, dengan aroma asam yang sedikit terdeteksi, rasa manis dan asin, dan aroma dan rasa kacang yang jelas. Disisi lain, RBD minyak kelapa berwarna kuning, sedikit asin, dan tidak memiliki aroma yang mencolok dan rasa. (Srivastava, 2018).

Virgin Coconut Oil dianggap sebagai lemak jenuh karena kandungan asam lemak jenuhnya lebih dari 90%. Dari studi epidemiologi, konsumsi dalam jumlah tinggi kolesterol dan lemak jenuh berkontribusi terhadap kolesterol darah tinggi, sebagaiakibatnya persepsi tentang minyak kelapa itu buruk. Dalam beberapa tahunterakhir, bagaimanapun pra-klinis dan uji klinis telah dilakukan pada kelapa yang berasal dari minyak dan hasil yang dilaporkan menunjukkan bahwa *Virgin Coconut Oil* menunjukkan hasil positif bagi kesehatan manusia yang mungkin melawan argumen tersebut. Asam lemak utama yang menyusun TG dianggap sebagai rantai sedang trigliserida (MCT) yang lebih mudah terhidrolisis dan lebih mudah diserap daripada rantai TG oleh beberapa lipase di saluran pencernaan manusia. *Virgin Coconut Oil* kayaakan asam laurik, oleh karena itu hidrolisis MCT menghasilkan mono lauril gliserol seperti monolaurin yang dianggap sebagai senyawa aktif secara farmakologis. (Mc Carty, 2016)

Kemampuan *Virgin Coconut Oil* sebagai antijamur merupakan efek dari asam lemak yang terkandung di dalamnya. Asam lemak dapat digunakan sebagai

pengganti senyawa kimia, karena kemampuan asam lemak yang menghambat jamur tanpa berefek pada organisme inang (Liu et al., 2008).

Asam lemak dalam *Virgin Coconut Oil* dapat langsung bekerja pada membran jamur (Avis, 2007). Kandungan asam lemak dalam *Virgin Coconut Oil* yang berpotensi sebagai anti kandidiasis dianalisis menggunakan. Gas Chromatography-Mass Spektrometry (GC-MS). Asam lemak memiliki titik didih yang relative tinggi. Sebelum analisis dilakukan, asam lemak diderivatisasi menjadi ester untuk menurunkan titik didihnya. Kromatogram yang dihasilkan dari analisis gas kromatografi dan fragmentasi dari spektrometri massa.

Berdasarkan kromatogram yang menunjukkan adanya 8 puncak, dimana masing-masing mewakili satu jenis asam lemak. Senyawa dengan titik didih lebih rendah akan keluar terlebih dahulu dari kolom, sehingga waktu retensinya lebih cepat dibanding dengan senyawa dengan titik didih yang lebih tinggi.

Puncak pertama muncul pada waktu retensi 3,425 dengan nilai m/z 130 dan base peak 40 yang merupakan fragmentasi dari metil kaproat. Puncak kedua muncul pada waktu retensi 6,933 dan 20,242. Puncak kelima identik dengan fragmentasi dari metil palmitat yang memiliki m/z 242 dengan base peak 74. Puncak keenam memiliki nilai m/z 270 dengan base peak 74 yang merupakan fragmentasi dari metil palmitat. Puncak ketujuh memiliki nilai m/z 296 dengan base peak 55 merupakan fragmentasi dari metil oleat. Puncak kedelapan memiliki nilai m/z 298 dengan base peak 74 merupakan fragmentasi dari metil stearat. Berdasarkan pola fragmentasi MS dari masing-masing puncak diketahui bahwa komposisi asam lemak dalam *Virgin Coconut Oil* yang dapat menghambat *Candida albicans* adalah seperti tertera pada tabel 1.

Tabel 2. 1 Hasil Analisis Asam Lemak dalam *Virgin Coconut Oil*

Puncak	Persentase	Asam lemak
1	0,187	Asam kaproat
2	1,12	Asam oktanoat
3	0,54	Asam sikloprpan pentanoat
4	32,73	Asam laurat
5	28,55	Asam miristat
6	17,16	Asam palmitat
7	14,09	Asam oleat
8	5,68	Asam stearat

Hasil analisis menunjukkan bahwa terdapat beberapa komponen utama yang terdapat dalam *Virgin Coconut Oil* tersebut yaitu asam laurat sebesar 32,73% dan asam miristat sebesar 28,55%. Asam lemak yang terdapat dalam *Virgin Coconut Oil* tersebut merupakan asam lemak jenuh dan tak jenuh. Senyawa yang termasuk dalam asam lemak jenuh yaitu, asam kaproat, asam kaprilat, asam miristat, asam palmitat dan asam laurat, sedangkan asam lemak tak jenuh yaitu asam siklopropan pentanoat, asam oleat, dan asam stearate. Asam lemak jenuh dan tidak jenuh memiliki potensi sebagai anti jamur. (Sado-Kamdem et al., 2009).

Gugus hidrofobik pada asam lemak memiliki peranan dalam bioaktivitas. Peningkatan hidrofobisitas dengan rantai panjang dapat menurunkan kelarutan dalam air dan gugus hidrofobik dapat menghambat interaksi asam lemak dengan membran posfolipid (Pohl et al., 2011).

Target aksi asam lemak adalah membran sel. Asam lemak akan mengganggu rantai transpor elektron, dan fosforilasi oksidatif. Selain menganggu produksi energi seluler, aksi asam lemak dihasilkan dari penghambatan aktivitas enzim, kegagalan pengambilan nutrien, pembentukan peroksidasi, dan degradasi autooksidasi produk atau lisis langsung sel bakteri. (Desbois and Smith, 2010).

Antijamur menjadikan membran jamur sebagai target utama untuk menghambat pertumbuhan jamur, hal ini karena membran berfungsi untuk menjaga fungsi sel jamur (Avis, 2007).

Mekanisme anti jamur asam lemak yaitu dengan cara interaksi langsung dengan membrane sel jamur. Asam lemak akan masuk ke dalam lapisan lemak (lipid bilayer) pada membran sel dan secara fisik mengganggu membran, sehingga terjadi peningkatan fluiditas membran. Peningkatan fuliditas membran menyebabkan membran sel tidak teratur sehingga terjadi perubahan konformasi protein membran, pengeluaran komponen intraseluler, kelainan sitoplasma, dan disintregasi sel (Avis and Bélanger, 2001).

Kandungan membran sel jamur berfungsi sebagai buffer untuk menginduksi peningkatan fluiditas membran, sehingga membran dengan kandungan sterol yang rendah sensitif terhadap peningkatan fluiditas membran (Dufourc, 2008). Asam kaproat (10:0) efektif dalam menghambat *Candida albicans*. Asam kaproat menyebabkan kerusakan dan penyusutan sitoplasma, akibat terganggunya membran sel jamur. Sedangkan asam laurat (12:0) aktif pada konsentrasi rendah dalam waktu inkubasi yang lebih lama (Bergsson et al., 2001).

Asam kaproat dapat menghambat pembentukan hifa, juga dapat mengurangi pembentukan biofilm dan penempelan *Candida albicans* (Murzyn et al.,2010). Asam miristat memiliki kemampuan menghambat *Candida albicans* (Altieri et al.,2009).

Asam miristat memiliki kemampuan menghambat *Candida albicans* dengan merusak biofilm jamur (Huang et al., 2011).

Hasil analisis menunjukkan beberapa asam lemak yang ada di *Virgin Coconut Oil* yang digunakan pada penelitian ini merupakan asam lemak tidak jenuh yaitu, asam siklopropana pentanoat, asam oleat, dan asam oktadekanoat. Asam lemak tidak jenuh memiliki aktivitas antimikroba yang lebih baik dari asam lemak jenuh. Hal ini karena asam lemak tidak jenuh mengandung ikatan C=C yang dapat membantu asam lemak memasuki membran (Avis and Bélanger, 2001).

Asam lemak tidak jenuh dapat meningkatkan stres oksidatif pada membran sel jamur (Thibane et al., 2010). Asam palmitate (C:16) merupakan asam lemak yang juga bersifat antijamur (Altieri et al., 2009). *Candida albicans* memiliki banyak enzim yang terlibat dalam pembentukan dinding sel, salah satunya adalah (1,3)-β-D-glucan sintase (Chaffin, 2008). Enzim ini merupakan target obat dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Senyawa derivate asam palmitooleat (C16:1) telah terbukti menghambat enzim (1,3)-β-D-glucan sintase, sehingga hambatan pembentukan (1,3)-β-D-glucans (Souza et al., 2015).

Asam palmitooleat memiliki kemampuan menghambat penempelan *Candida albicans* pada kulit (Wille and Kydonieus, 2003).

Asam linoleate (18:2) mampu menghambat pertumbuhan jamur dan efektif sebagai antijamur (Agoramoorthy et al.,2007). Asam linoleate dan derivatnya, memiliki kemampuan merusak struktur dari dinding sel jamur, karena menghambat enzim glucan sintase (Debono et al., 1995).

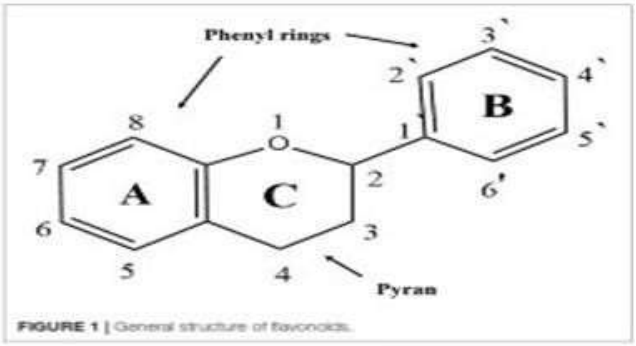
Asam stearadonat (18:4) memiliki efek penghambatan terhadap aktivitas mitokondria dan pembentukan biofilm *Candida albicans* (Thibane et al.,2010). Asam arakhidonat (20:4) merupakan asam lemak tidak jenuh yang dapat meningkatkan suseptibilitas biofilm yang dibentuk oleh spesies *Candida,* sehingga pembentukan biofilm dari jamur tersebut dapat dihambat (Ells et al., 2009).

Hasil dari penanaman *Candida albicans* terlebih dahulu kemudian ditambah asam lemak menunjukkan hanya asam lemak dapat menghambat

Candida albicans. Pada penderita kandidiasis awal infeksi. Hal ini menunjukkan dengan pemberian minyak kelapa murni pada awal infeksi yang dapat menghambat penyakit menjadi lebih parah (Novilla et al.,2016). Asam lemak dalam *Virgin Coconut Oil* mampu meningkatkan imunitas pada penderita kandidiasis (Winarsi et al., 2009).

2.2.11. Flavonoid

Flavonoid adalah pigmen alami yang ada dalam sayuran. Senyawa ini melindungi organisme terhadap kerusakan yang dihasilkan oleh agen oksidan seperti radiasi UV, polusi, dan zat kimia yang ada dalam makanan. Struktur kimia flavonoid seperti pada gambar 2.9, ditandai oleh adanya sejumlah variabel gugus hidroksil fenolik (polifenol). Flavonoid memiliki berat molekul rendah (500–4.000 Da) dan terbagi menjadi kerangka difenilpiran (C6-C3-C6) yang tersusun atas dua cincin fenil yang dihubungkan melalui cincin C dari piramida (Martínez-Castillo *et al.*, 2018).



Gambar 2.6.3 Struktur Umum Flavonoid (Martinez-Castillo *et al.,* 2018)

Sampai saat ini lebih dari 4000 variasi flavonoid telah diidentifikasi. Flavonoid kimiawi didasarkan pada kerangka lima belas karbon. Flavonoid dibagi menjadi berbagai kelas seperti *flavones* (misalnya, *flavon*, *apigenin*, dan *luteolin*), flavonol (misalnya, *quercetin*, *kaempferol*, *myricetin*, dan *fisetin*), *flavanon* (misalnya, *flavanon*, *hesperetin*, dan *naringenin*), dan yang lain (Kumar *et al.*, 2013).

Banyak senyawa bioaktif yang dapat ditemukan pada daun dan akar kenikir, terutama adalah flavonoid, asam fenolat, vitamin, mineral dan *fenilpropanoid* yang bertanggung jawab untuk banyak aktivitas farmakologis yang dikaitkan dengan daun atau ekstrak kenikir (*Cosmos caudatus)* segar. Aktivitas

anti-diabetes, anti-hipertensi, antimikroba, anti- osteoporosis dan anti-inflamasi terbukti dalam studi klinis secara *in vitro* dan *in vivo* (Moshawih *et al.*, 2017).

Beberapa penelitian telah menunjukkan aktivitas flavonoid pada beberapa spesies *Candida*. Penelitian yang dilakukan oleh Alves *et al.,* (2016), menyatakan bahwa flavonoid berperan dengan menghambat sintesis dinding sel pada jamur.

Aktivitas antijamur telah dilaporkan dalam flavonoid seperti *neohesperidin*, *hesperidin*, *naringin* dan beberapa turunan yang diisolasi dari tanaman jeruk. Ini dimodifikasi secara enzimatik dan sedang dipelajari pada empat jamur yang biasanya mencemari makanan. Jamur yang terkontaminasi ini adalah *Fusarium semitectum*, *Aspergillus parasiticus*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus*. Demikian pula pertumbuhan *miselia* dari *Penicillium expansum* dihambat oleh flavonoid '*hesperetin*'. Pertumbuhan *Fusarium semitectum*, *Aspergillus parasiticus*, *Aspergillus flavus* juga dapat dihambat oleh flavonoid lain yang disebut *'prunin decanoate*'.

Berbagai penelitian telah menunjukkan aktivitas antijamur pada flavonoid, antara lain *Aspergillus flavus*, karena pertumbuhannya dipengaruhi oleh flavon yang diekstraksi dari *Artemisia giraldii*. Demikian pula, *Eysenhardita texana* memiliki beberapa flavanon terprenilasi yang bekerja melawan *Candida albicans*. Aktivitas anti jamur juga telah dilaporkan dalam flavonoid ektraksi dari buah jeruk setelah diproses dalam industri dan kulit bergamot, yang digunakan untuk menghentikan aktivitas *Saccharomyces cervisiae*. Salah satu flavanol yang biasanya ada dalam propolis, suatu bahan kimia yang dihasilkan oleh lebah, disarankan untuk digunakan sebagai antijamur. Anggur kaya akan sumber flavonoid dan pomaces mereka digunakan untuk menghentikan pertumbuhan *Zygosaccharomyces bailii* dan Zygosaccharomyces rouxii dan ekstrak pomace anggur Chili dilaporkan memiliki aktivitas anti jamur terhadap *Botrytus cinerea*. Pertumbuhan agen penyebab umum penyakit *Candida albicans* pada manusia, dapat dihentikan dengan ekstrak dari anggur Brasil yang mengandung flavonoid. Sebuah penelitian yang dilakukan dalam hal ini menunjukkan bahwa flavonoid meningkatkan aksi anti jamur *Fluconazole* (obat anti jamur) ketika keduanya digunakan sebagai terapi bersama. Cara tindakan yang dipelajari untuk aktivitas antijamur adalah induksi apoptosis, akumulasi ROS, fragmentasi DNA, kerusakan mitokondria (Hayat *et al.*, 2017).

Penelitian yang dilakukan Musa *et al.*,(2011), menemukan bahwa kenikir mengandung senyawa aktif flavonoid. Aktivitas biologisnya terkait erat dengan

struktur molekul, yaitu gugus hidroksil atau cincin fenolik. Senyawa fenolik memiliki kemampuan untuk menghubungkan dengan protein dan membran bakteri untuk membentuk kompleks. Mekanisme anti bakteri flavonoid termasuk menghambat sintesis asam nukleat, mengganggu fungsi membran sitoplasma, dan menghambat metabolisme energi dan mempengaruhi sintesis peptidoglikan di sekitar bakteri sel. *Quercetin*, satu jenis flavonoid, terbukti menghambat bakteri Gram-positif dan Gram-negatif melalui inaktivasi protein ekstraseluler. Telah ditunjukkan bahwa mekanisme antibakteri *quercetin* mungkin tergantung pada gangguan membran dan inaktivasi protein ekstraseluler dengan membentuk kompleks ireversibel (Ramadhan *et al.*, 2018).

Penelitian bioaktivitas dari flavonoid telah mengidentifikasi banyak jalur bahwa fitokimia ini dapat mencegah atau memperlambat perkembangan penyakit degeneratif. Flavonoid telah terbukti memodulasi fungsi mitokondria, mempengaruhi potensial membran mitokondria, sehingga berpengaruh pada rantai transpor elektron dan produksi ATP, dan akhirnya menghambat atau menginduksi apoptosis (de Oliveira *et al.*, 2016).

2.7. Uji Aktivitas Antimikroba

Untuk mengukur kerentanan suatu mikroba terhadap obat antimikroba, perlu dilakukan uji aktivitas antimikroba. Uji aktivitas antimikroba dapat dilakukan dengan dua metode, yaitu dengan metode dilusi dan difusi (Brooks *et al*., 2013).

2.2.12. Metode Dilusi Tabung

Pada metode dilusi tabung, zat antimikroba dengan berbagai jumlah (secara gradasi) digabungkan dengan media cair (air kaldu). Kemudian mikroba yang akan digunakan diinokulasikan pada media yang telah bercampur dengan zat antimikroba dan kemudian diamati perkembangan dari mikroba setelah beberapa hari. Pada akhir pengamatan, tingkat kekeruhan campuran air kaldu menunjukkan konsentrasi mikroba yang terdapat pada air kaldu, sehingga dapat didapatkan jumlah minimum zat antimikroba yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan mikroba, yang disebut dengan Kadar Hambat Minimum (KHM). Kemudian dari tabung dengan penampakan yang jernih, diambil 1 ose campuran dan diinokulasikan pada media padat. Kemudian mikroba di media padat diinkubasikan selama 18-24 jam dan dihitung jumlah koloni yang ada. Konsentrasi dimana tidak terdapat koloni mikroba merupakan jumlah minimum zat antimikroba

yang dibutuhkan untuk membunuh mikroba, yang disebut dengan Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Noorhamdani *et al*., 2017).

2.2.13. Metode Dilusi Agar

Pada metode dilusi agar, zat antimikroba dengan berbagai jumlah (secara gradasi) digabungkan dengan media padat dan diaduk agar terdilusi secara merata dalam media. Kemudian mikroba yang akan digunakan diteteskan pada media yang telah bercampur dengan zat antimikroba dan kemudian diamati perkembangan dari mikroba setelah beberapa hari. Dari metode ini, dapat didapatkan KHM melalui konsentrasi minimal yang tidak terdapat pertumbuhan koloni mikroba pada media (Noorhamdani *et al*., 2017).

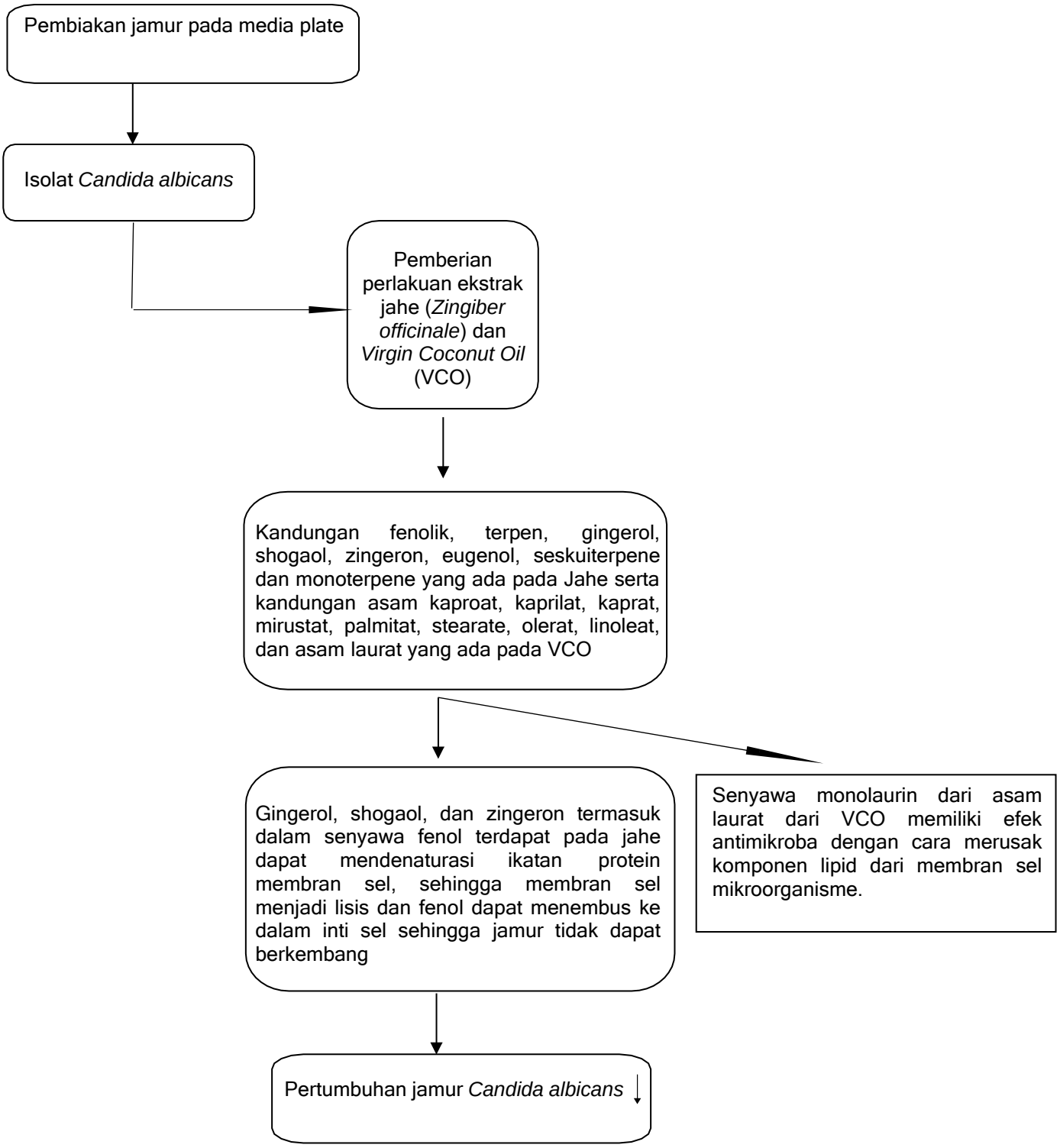
2.2.14. Metode Difusi Cakram

Pada metode difusi cakram, cakram kertas saring yang berisikan zat antimikroba yang telah diukur sebelumnya, diletakkan pada permukaan sebuah media solid yang telah diinokulasikan mikroba yang akan dites. Setelah diinkubasi, hasil tes berupa pengukuran diameter zona bersih di sekitar cakram. Semakin luas zona bersih di sekitar cakram, maka semakin kuat pula kekuatan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Metode ini cocok digunakan untuk melihat resistensi dan sensitivitas mikroba terhadap berbagai macam antimikroba. (Noorhamdani *et al*., 2017).

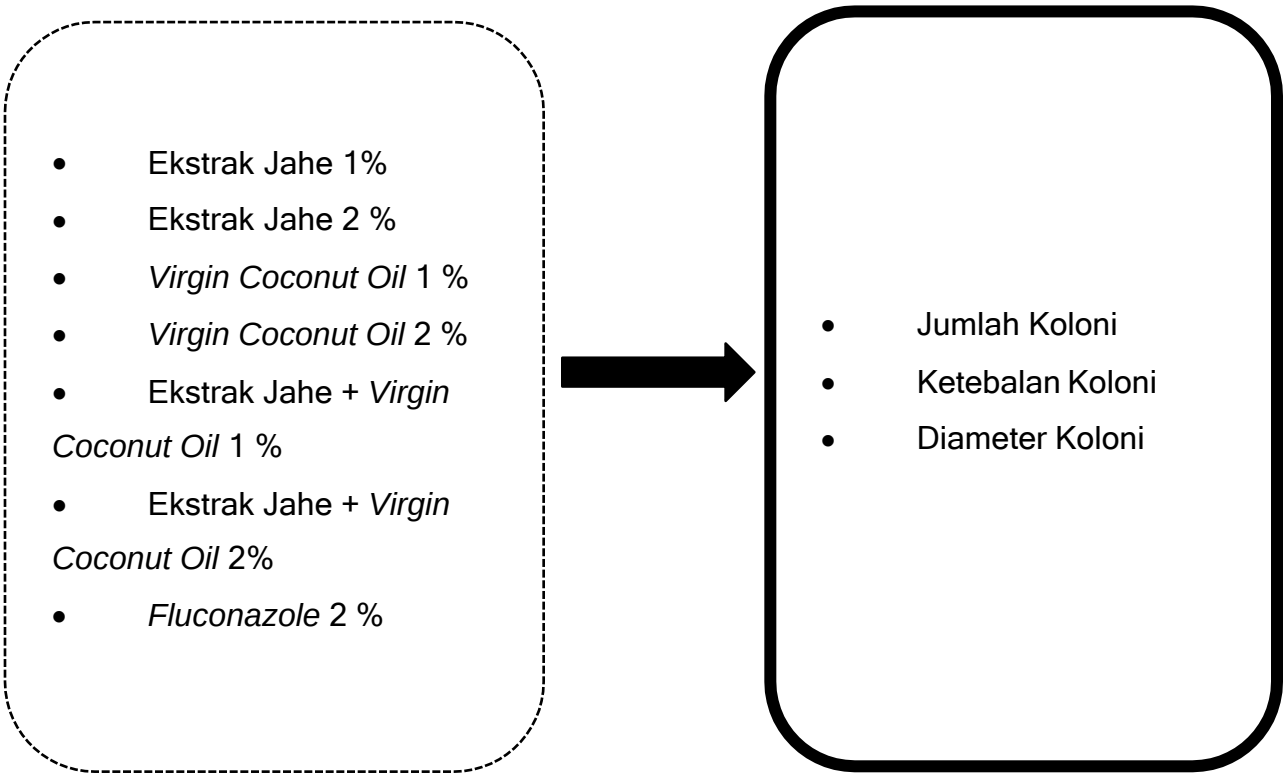
2.2.15. Metode Difusi Sumuran

Prinsip dasar pada metode ini mirip dengan metode difusi cakram, hanya saja penggunaan cakram digantikan dengan membuat sumuran pada media padat yang kemudian diisi dengan antimikroba dengan berbagai konsentrasi. Setelah diinkubasi, hasil akhir akan didapatkan zona bersih di sekitar sumuran yang dibuat, dimana semakin luas zona bersih di sekitar sumuran yang dibuat, maka semakin kuat pula kekuatan antimikroba dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Metode ini cocok digunakan untuk melihat keefektifan satu zat antimikroba dengan berbagai konsentrasi. (Noorhamdani *et al*., 2017).

2.8. Kerangka Teori



2.9. Kerangka Konsep



Keterangan:

: Variabel terikat/ dependen

: Variabel bebas/ independen

: Menunjukkan proses