

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

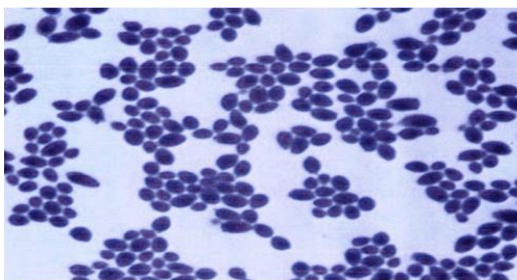
A. *Candida albicans*

1. Klasifikasi

Candida albicans merupakan jamur komensal oportunistik yang secara alami hidup pada saluran pencernaan, rongga mulut, rectum dan vagina. Jamur ini ditemukan sebagai bagian dari flora normal pada sekitar 70% populasi manusia dan biasanya tidak menimbulkan gejala ketika sistem imun tubuh berfungsi normal (Talapko *et al.* 2021). *Candida albicans* termasuk fungi dimorfik karena kemampuannya untuk tumbuh dalam dua bentuk yang berbeda yaitu sebagai sel tunas yang akan berkembang menjadi *blastospora* dan menghasilkan kecambah yang akan membentuk hifa semu.

Klasifikasi dari jamur *Candida albicans* sebagai berikut (Macias Paz *et al.* 2023):

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



Gambar 1 Morfologi *Candida albicans*

(Sumber : Acharya Tankeshwar, 2025)

2. Morfologi *Candida albicans*

Candida albicans memiliki bentuk morfologi yaitu *blastospora*, *pseudohifa* dan *hifa*. *Blastospora* merupakan sel ragi tunggal yang berkembang biak secara aseksual melalui tunas. Sementara itu, *pseudohifa* merupakan rantai sel ragi yang saling terhubung dan memanjang seperti serabut. *Hifa* menyerupai tabung panjang yang bercabang tanpa penyempitan pada sambungannya. Perubahan dari *blastospora* menjadi *hifa* disebut *filamentasi* (Talapko *et al.* 2021).

Pada media *Sabouraud Dextrose Agar* (SDA), *Candida albicans* dapat tumbuh optimal setelah diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu sekitar 25-37°C. Koloninya tampak bulat, menonjol, halus, licin, berwarna putih kekuningan, dan memiliki bau khas ragi. Untuk memastikan identitas jamur ini, dilakukan uji germ tube dengan menumbuhkan sel dalam serum pada suhu 37°C selama 90 menit, di mana akan tampak tonjolan memanjang (germ tube) dari *blastospora* yang menandakan pembentukan *hifa* sejati (Macias Paz *et al.* 2023).

Dinding sel *Candida albicans* berperan penting dalam hal virulensi. Dinding sel, tersusun atas glukukan, kitin, dan protein, yang berfungsi melindungi sel dari tekanan lingkungan seperti perubahan suhu, dan stres osmotik, serta membantu melawan sistem kekebalan tubuh inang (Talapko *et al.* 2021). Dinding sel juga memiliki protein adhesi, yang memungkinkan jamur ini menempel pada permukaan

sel inang. Sementara itu, membran sel berperan dalam komunikasi antara sel jamur dan lingkungannya, dengan komponen pentingnya adalah ergosterol, sejenis sterol yang menjaga kestabilan sel dan memberikan ketahanan terhadap stres fisik (Macias Paz *et al.* 2023).

3. Faktor virulensi *Candida albicans*

Candida albicans memiliki berbagai faktor virulensi yang memungkinkan perubahan dari mikroorganisme komensal menjadi patogen oportunistik penyebab kandidiasis. Faktor-faktor ini berperan dalam adhesi, invasi jaringan, menghindari respons imun tubuh, serta bertahan hidup di lingkungan inang yang tidak menguntungkan. Salah satu faktor utamanya adalah kemampuan morfologi ganda, yaitu peralihan dari bentuk ragi (*blastospora*) yang bersifat non-invasif menjadi bentuk *hifa* atau *pseudohifa* yang bersifat invasif, yang dapat menembus jaringan epitel inang dan menyebabkan kerusakan (Talapko *et al.* 2021). Dalam proses ini, *Candida albicans* juga menghasilkan toksin *candidalysin*, yang berfungsi merusak membran sel epitel serta memicu respon inflamasi yang memperparah infeksi (Masfufatun dkk. 2024).

Selain itu, protein adhesinya memungkinkan jamur untuk melekat pada sel epitel, permukaan mukosa, dan permukaan medis. Setelah menempel, jamur menghasilkan enzim hidrolitik yang memecah jaringan inang untuk memfasilitasi penetrasi dan menghindari sistem imun (Macias Paz *et al.* 2023). *Candida albicans* juga membentuk biofilm yang melindungi koloni dari obat antijamur dan respons imun, sekaligus meningkatkan adhesinya ke permukaan (Masfufatun dkk. 2024).

4. Infeksi kandidiasis oleh *Candida albicans*

Kandidiasis merupakan infeksi oportunistik yang disebabkan oleh *Candida albicans* maupun spesies lain dalam genus *Candida*, yang dapat menimbulkan infeksi sistemik akut maupun kronis, termasuk kandidiasis oral, kandidiasis kutaneus dan kandidiasis vagina (Denning et al. 2018). Salah satu kasus yang paling sering ditemui adalah kandidiasis vulvovaginalis. Kandidiasis vulvovaginalis sendiri didefinisikan sebagai infeksi pada vulva dan vagina akibat pertumbuhan berlebih jamur genus *Candida*, terutama *Candida albicans*, dan menjadi penyebab utama keputihan pada wanita usia reproduksi, baik yang bersifat akut maupun berulang (Masfufatun dkk. 2024).

Faktor-faktor risiko yang memicu infeksi ini meliputi penggunaan antibiotik, perubahan hormonal akibat kehamilan atau kontrasepsi, pembersihan vagina berlebih, serta kondisi yang menurunkan imunitas tubuh (Denning et al. 2018). Terapi standar untuk infeksi tunggal biasanya menggunakan antijamur golongan azol, baik dalam bentuk topikal intravaginal seperti klotrimazol dan mikonazol, maupun oral seperti fluconazol dosis tunggal.

Resistensi *Candida albicans* terhadap antijamur azol, terutama flukonazol, merupakan tantangan serius dalam pengendalian kandidiasis vulvovaginal. Munculnya strain *Candida albicans* yang resisten dan peningkatan spesies non-*albicans* yang kurang sensitif terhadap terapi konvensional menunjukkan perlunya pengobatan alternatif baru (Denning et al. 2018). Kondisi ini mendorong pengembangan agen antijamur berbasis alami, seperti ekstrak tumbuhan dan senyawa bioaktif alami, yang berpotensi menjadi terapi komplementer, salah satunya berasal dari akar tanaman encok (*Plumbago zeylanica* L.).

B. Tanaman Encok (*Plumbago zeylanica* L.)

1. Klasifikasi tanaman

Tanaman Encok (*Plumbago zeylanica* L.) dapat diklasifikasikan sebagai berikut (Shukla *et al.* 2023) :

Domain	: Eukaryota
Kingdom	: Plantae
Phylum	: Tracheophyta
Divison	: Magnoliophyta
Class	: Magnoliopsida
Order	: Plumbaginales
Family	: Plumbaginaceae
Genus	: Plumbago
Species	: <i>Plumbago zeylanica</i> L.



Gambar 2 Tanaman encok (*Plumbago zeylanica* L.)

(Sumber : Dokumen Pribadi, 2026)

Plumbago zeylanica L. adalah tanaman obat asli Asia Selatan yang banyak digunakan dalam pengobatan tradisional, terutama di India. Tanaman ini tersebar luas di daerah tropis dan subtropis, tumbuh di berbagai habitat seperti hutan gugur,

sabana, dan semak belukar pada ketinggian hingga 2.000 meter (Jain *et al.* 2014). Di Asia Tenggara, termasuk Indonesia, tanaman ini juga umum ditemukan dan dikenal dengan berbagai nama lokal, salah satunya adalah “Ki Encok”, yang merujuk pada penggunaan tradisionalnya sebagai obat asam urat dan “Ceraka Putih” yang menunjukkan bunganya yang berwarna putih. Di Bali, tanaman ini disebut “bama”, dan akarnya sering digunakan oleh masyarakat Nusa Penida sebagai antijamur. Tanaman ini umumnya tumbuh subur di area terbuka seperti padang rumput, tepi hutan, ladang, tepi saluran udara, dan kebun rumah sebagai pagar hidup (Karta dan Burhannuddin, 2017).

2. Morfologi *Plumbago zeylanica* L.

Plumbago zeylanica L. merupakan tanaman herbal tahunan berupa perdu merambat dengan tinggi 0,5-2 meter. Batangnya agak berkayu, licin, dan bercabang banyak, berwarna hijau hingga cokelat. Daunnya tunggal, tersusun berseling, lonjong dengan ujung runcing, dan berbulu halus (Jain *et al.* 2014). Bunganya kecil, berwarna putih hingga putih keunguan. Kelopaknya berwarna hijau dan berbulu, sedangkan mahkota bunganya berupa tabung ramping dengan kelenjar lengket di bagian luar. Bunganya memiliki lima benang sari berwarna ungu dan satu putik (Shukla *et al.* 2023).

Akar tanaman ini merupakan akar tunggang yang tebal, silindris, rapuh, berwarna merah kehitaman atau cokelat kemerahan saat kering, serta berwarna kuning muda ketika segar, dengan panjang mencapai lebih dari 30 cm dan diameter sekitar 6 mm (Jain *et al.* 2014). Akar *Plumbago zeylanica* L. memiliki struktur morfologi khas yang berfungsi sebagai penopang, penyerap unsur hara, dan tempat akumulasi berbagai metabolit sekunder (Shukla *et al.* 2023).

3. Kandungan senyawa aktif tanaman encok (*Plumbago zeylanica L.*)

Senyawa aktif yang terkandung didalam akar tanaman encok (*Plumbago zeylanica L.*) diantaranya, termasuk flavonoid, alkaloid, tanin, saponin, minyak atsiri, terpenoid, dan naftokuinon yakni plumbagin (Shukla *et al.* 2023).

a. Flavonoid

Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari golongan polifenol yang banyak terdapat pada akar, daun, bunga, dan buah tanaman. Senyawa ini memiliki struktur dasar C6-C3-C6 dengan dua cincin fenil dan satu cincin heterosiklik teroksigenasi (Komala, Yulianita, dan Siwi, 2019). Flavonoid bersifat polar karena memiliki gugus hidroksil (-OH) yang membentuk ikatan hidrogen, sehingga larut dalam pelarut polar. Selain memberikan warna pada bagian tanaman, flavonoid juga memiliki berbagai aktivitas biologis, antara lain antimikroba, antijamur, antivirus, antikanker, antioksidan, antibakteri, dan antihipertensi (Christoper, Natalia, and Rahmayanti, 2017).

Flavonoid adalah senyawa utama yang berperan dalam aktivitas antijamur dalam *Plumbago zeylanica L.* dengan cara merusak membran sel jamur melalui gugus hidroksil yang menghambat transportasi nutrisi dan menimbulkan efek toksik. Senyawa ini juga mengganggu transport elektron di mitokondria, menurunkan produksi ATP, serta menghambat pembentukan ergosol sehingga menyebabkan kerusakan membrane dan kebocoran sel (Komala, Yulianita, dan Siwi, 2019). Selain itu, flavonoid dapat menghambat pertumbuhan hifa dan spora serta memiliki sifat antioksidan yang melindungi sel inang tanpa mengurangi efektivitasnya.

b. Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang umumnya bersifat basa dan mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam struktur cincin heterosikliknya. Senyawa ini banyak ditemukan pada tumbuhan, khususnya pada kelompok Angiospermae (Nikmah, Arifin, dan Ismunanti, 2020). Struktur alkaloid umumnya berbentuk polisiklik dengan gugus nitrogen berupa amino, serta dapat mengandung gugus oksigen seperti fenol, metoksi. Alkaloid sedikit larut dalam air tetapi mudah larut dalam pelarut organik non-polar.

Senyawa ini memiliki aktivitas biologis dan farmakologis yang penting, seperti antimikroba, antimalaria, antidiabetik, dan antidiare. Mekanisme aktivitas senyawa alkaloid dalam tanaman tersebut yakni mengganggu replikasi DNA dan berikatan dengan ergosterol membrane yang menyebabkan kebocoran isi sel dan kerusakan membran secara permanen (Komala, Yulianita, dan Siwi, 2019).

c. Tanin

Tanin adalah senyawa organik berupa campuran polifenol kompleks yang tersusun dari unsur karbon (C), hydrogen (H), dan oksigen (O), serta umumnya memiliki ukuran molekul besar. Tanin memiliki berat molekul tinggi, cenderung mudah teroksidasi menjadi polimer, dan tidak memiliki titik leleh. Dalam bidang kesehatan, tanin berperan sebagai antidiare, antioksidan, antibakteri, dan astringen, serta menunjukkan aktivitas bakterostatik dan fungistatik. Tanin memiliki aktivitas antijamur dengan cara menghambat sintesis kitin, mengendapkan protein, serta merusak membrane sel (Nikmah, Arifin, dan Ismunanti, 2020).

d. Saponin

Saponin adalah senyawa fitokimia yang dikenal karena kemampuannya membentuk busa ketika dikocok dalam air dan tersusun atas aglikon polisiklik yang terikat dengan satu atau lebih gugus gula. Sebagai glikosida dari sapogenin, saponin larut dengan baik dalam air dan alkohol, tetapi tidak larut dalam eter. Struktur molekul saponin yang terdiri dari atom karbon (C) dan hidrogen (H) memberikan aktivitas biologis, terutama sebagai antibakteri dan antifungal, sehingga sering dimanfaatkan dalam pembuatan sabun serta aplikasi medis. Saponin bekerja dengan merusak kestabilan membran melalui interaksi dengan lipid yang menyebabkan keluarnya isi sel dan lisis sel (Christoper, Natalia, and Rahmayanti, 2017).

e. Terpenoid

Terpenoid merupakan kelompok senyawa alami terbesar yang tersusun dari unit isoprene (C_5H_8). Senyawa terpenoid banyak ditemukan pada berbagai jenis tumbuhan dan berperan dalam metabolisme sekunder, antara lain sebagai senyawa pelindung serta penarik serangga penyerbuk. Selain itu, terpenoid memiliki keunggulan farmakokinetik berupa kemampuan penetrasi membran sel yang baik serta tingkat toksisitas yang relatif rendah terhadap sel normal. Beberapa jenis terpenoid menunjukkan aktivitas biologis yang luas, seperti antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antijamur dan antikanker. Dalam mekanisme sebagai antijamur, terpenoid berinteraksi dengan protein dan lipid pada membran sel jamur sehingga mengganggu permeabilitas membran dan keseimbangan internal sel (Nikmah, Arifin, dan Ismunanti, 2020).

f. Minyak atsiri

Minyak atsiri (essential oil) adalah senyawa terpenoid yang berperan memberikan aroma khas pada tumbuhan. Minyak ini merupakan hasil metabolisme tanaman yang disintesis dalam sel melalui reaksi berbagai senyawa kimia dengan air. Minyak atsiri mudah menguap pada suhu kamar, memiliki aroma sesuai tanaman penghasilnya, larut dalam pelarut organik, namun tidak larut dalam air. Minyak atsiri menargetkan dinding dan membrane sel dengan merusak protein dan lipid. Selain itu, minyak atsiri juga menghambat biosintesis kitin dan β -glukan yang melemahkan dinding sel, serta menekan aktivitas enzim mitokondria, dan meningkatkan stress oksidatif melalui pembentukan ROS. Secara keseluruhan, kombinasi kerusakan struktural, gangguan metabolik, dan stres oksidatif tersebut menjadikan minyak atsiri sebagai agen antijamur alami yang efektif terhadap *Candida albicans* (Risnawati, Nurliana, and Kurniawati, 2017).

g. Naftokuinon

Naftokuinon merupakan senyawa aromatik bercincin siklik dengan kerangka naftalena yang tersubstitusi pada posisi (1,4- atau 1,2-naftokuinon), dan umumnya berwarna kuning hingga coklat. Salah satu turunan naftokuinon yang banyak dikaji adalah plumbagin (5-hydroxy-2-methyl-1,4-naphthoquinone), yang terutama ditemukan pada akar tanaman dari famili Plumbaginaceae termasuk *Plumbago zeylanica* L. (Babula *et al.* 2009). Berbagai penelitian menunjukkan bahwa konsentrasi plumbagin yang ditemukan dalam ekstrak akar jauh lebih tinggi dibandingkan dengan bagian tanaman lainnya, seperti daun dan batang. Keberadaan plumbagin inilah yang mendasari nilai farmakologis tinggi dari tanaman tersebut.

Plumbagin memiliki aktivitas biologis luas, termasuk sebagai anti-inflamasi, antioksidan, antibakteri, antijamur, dan antikanker, serta digunakan sebagai pestisida nabati (Thekkumkara *et al.* 2025). Secara kimia, strukturnya mirip dengan vitamin K, namun memiliki waktu paruh lebih singkat dan tingkat kelarutan dalam air yang rendah, sehingga diperlukan pengembangan formulasi seperti nanopartikel, liposom, dan micelles untuk meningkatkan efektivitas penghantarannya di dalam tubuh (Jin and Eom, 2025).

Naftokuinon bekerja melalui tiga mekanisme utama, yaitu mengganggu dinding sel, transkripsi mRNA, dan sintesis protein. Salah satu turunannya yang terdapat pada akar *Plumbago zeylanica L.* adalah plumbagin, senyawa naftokuinon alami yang memiliki aktivitas antijamur kuat terhadap *Candida albicans* melalui mekanisme multipathway (Thekkumkara *et al.* 2025). Plumbagin bersifat fungisida dengan nilai MIC 0,78 µg/mL dan MFC 1,56 µg/mL, menunjukkan efektivitas tinggi dalam menghambat pertumbuhan sel khamir. Senyawa ini merusak integritas membran sel, meningkatkan produksi spesies oksigen reaktif (ROS), dan menyebabkan kerusakan lipid, protein, asam nukleat, dan fungsi mitokondria, yang menyebabkan kematian sel (Babula *et al.* 2009).

Selain mekanisme sitotoksik langsung, plumbagin juga efektif dalam menghambat dan merusak biofilm *Candida albicans*, baik biofilm monomikroba maupun polimikroba pada permukaan seperti tabung kaca dan kateter silikon, ditandai dengan berkurangnya biomassa dan aktivitas metabolik biofilm. Kombinasi kerusakan sel dan gangguan struktur biofilm ini menjadikan plumbagin sebagai kandidat kuat untuk terapi antijamur (Jin and Eom, 2025).

C. Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses pengambilan senyawa aktif dari simplisia menggunakan pelarut, menghasilkan ekstrak yang menjadi bahan baku obat tradisional. Proses ekstraksi dipengaruhi oleh karakteristik matriks tanaman, jenis pelarut, suhu, tekanan, dan lama ekstraksi, yang menentukan rendemen serta jenis senyawa metabolit yang terkandung dalam ekstrak (Triyanti dkk. 2025). Metode ekstraksi terdiri dari metode konvensional dan metode non konvensional.

1. Ekstraksi metode konvensional

a. Definisi ekstraksi metode konvensional

Metode konvensional merupakan teknik ekstraksi yang memanfaatkan pelarut untuk menarik senyawa aktif dari matriks bahan. Metode ini tergolong sederhana, sering digunakan, dan mudah dilakukan karena prosesnya hanya memerlukan pelarut serta pemanas biasa. Namun, metode ini memiliki beberapa kekurangan, antara lain membutuhkan volume pelarut yang besar dan waktu ekstraksi yang cukup lama, sementara hasil rendemen yang diperoleh cenderung sedikit. Penggunaan pelarut dalam jumlah besar juga berpotensi menimbulkan emisi zat beracun selama proses ekstraksi berlangsung yang menjadikan metode ini kurang ramah lingkungan karena dapat menimbulkan pencemaran (Tri dkk. 2022).

Pemilihan pelarut dalam proses ekstraksi sangat bergantung pada sifat senyawa yang akan diekstraksi. Pelarut dapat dibagi menjadi tiga jenis yaitu pelarut polar meliputi udara, etanol, dan metanol, yang umumnya digunakan untuk mengekstrak senyawa polar seperti flavonoid atau glikosida. Pelarut non-polar seperti n-heksana, petroleum eter, dan kloroform digunakan untuk melarutkan senyawa non-polar seperti lemak dan minyak atsiri. Pelarut semi-polar seperti etil asetat dan

diklorometana digunakan untuk mengekstrak senyawa dengan tingkat polaritas sedang, seperti alkaloid dan terpenoid tertentu (Mukhriani, 2014).

b. Jenis-jenis ekstraksi metode konvensional

Jenis jenis ekstraksi dengan metode konvensional meliputi maserasi, sokhlet, refluks dan perkolasi.

1) Ekstraksi maserasi

Maserasi adalah metode ekstraksi sederhana yang dilakukan dengan merendam serbuk tanaman dalam pelarut pada suhu kamar hingga terjadi keseimbangan konsentrasi senyawa antara pelarut dan bahan. Setelah itu, pelarut dipisahkan melalui penyaringan (Triyanti dkk. 2025). Metode ini tidak menggunakan pemanasan sehingga cocok untuk senyawa yang sensitif terhadap panas. Namun, maserasi memerlukan waktu lama, membutuhkan banyak pelarut, dan berisiko menyebabkan sebagian senyawa hilang atau tidak terekstraksi optimal (Mukhriani, 2014).

2) Ekstraksi sokletasi

Sokletasi adalah metode ekstraksi dimana serbuk sampel ditempatkan dalam kantong kertas saring lalu diletakkan pada alat soklet yang terhubung dengan labu berisi pelarut dan kondensor (Triyanti dkk. 2025). Keunggulannya, pelarut yang digunakan lebih efisien dan waktu ekstraksi lebih singkat karena sampel bersentuhan dengan pelarut murni hasil kondensasi. Sementara, kekurangannya terdapat pada adanya resiko kerusakan senyawa yang sensitive terhadap panas, karena proses berlangsung pada suhu yang mendekati titik didih pelarut (Mukhriani, 2014).

3) Ekstraksi refluks

Ekstraksi ini dilakukan dengan mencampurkan sampel dan pelarut dalam labu yang terhubung dengan kondensor, dimana pelarut dipanaskan hingga mendidih, kemudian uapnya mengembun dan kembali ke labu sehingga ekstraksi berlangsung berulang-ulang (Mukhriani, 2014). Dalam beberapa tahun terakhir, metode ekstraksi konvensional semakin jarang digunakan karena memiliki banyak keterbatasan seperti, penggunaan pelarut dalam jumlah besar yang berpotensi beracun serta kebutuhan waktu dan energi yang besar. Sebagai alternatif, berkembanglah konsep *green extraction* atau ekstraksi hijau (Koina, Sarigiannis, and Hapeshi, 2023).

2. *Green Extraction*

a. Definisi *green extraction*

Green extraction merupakan metode ekstraksi nonkonvensional untuk memperoleh senyawa bioaktif dari tumbuhan yang berfokus pada efisiensi, keberkelanjutan, ekonomis, dan ramah lingkungan. Konsep ini merupakan bagian dari *green chemistry*, yaitu pendekatan yang bertujuan untuk mengurangi penggunaan bahan kimia atau mencegah pembentukan zat kimia yang akan mencemari lingkungan (Martins *et al.* 2023). Metode ini digunakan untuk mengekstrak senyawa aktif yang terdapat dalam bahan alami dengan cara yang lebih ramah lingkungan dibandingkan dengan metode konvensional yang menggunakan pelarut berbahaya (Koina, Sarigiannis, and Hapeshi, 2023). Prinsip *green extraction* menekankan pada penggunaan pelarut yang aman dan dapat diperbarui, mengurangi penggunaan energi, serta meminimalisir limbah, namun

tetap dapat menghasilkan ekstrak dengan rendemen berkualitas tinggi (Chemat, Vian, and Cravotto, 2012).

Untuk mendukung prinsipnya, dalam menentukan suatu pelarut sebagai pelarut hijau, harus memperhatikan aspek lingkungan, keselamatan, kesehatan, serta kebutuhan energi. Pelarut hijau yang baik memiliki toksisitas rendah, kemampuan melarutkan yang tinggi, mudah terurai secara hayati, berasal dari sumber daya yang dapat diperbarui dan dapat didaur ulang, sehingga meminimalisir dampaknya bagi lingkungan. Selain itu, pemilihan pelarut bergantung pada karakteristik tanaman, jenis senyawa yang ingin diperoleh, serta metode ekstraksi yang digunakan (Koina, Sarigiannis, and Hapeshi, 2023).

Berdasarkan kriteria tersebut, pelarut hijau yang dapat digunakan meliputi air, CO₂ superkritis, pelarut eutektik alami (NADES), agrolvolvents seperti VCO, serta metode bebas pelarut (*solvent-free*) yang memanfaatkan energi gelombang mikro untuk mengekstraksi senyawa aktif dari bahan alam (Martins *et al.* 2023). Metode ini memiliki beberapa keunggulan, yaitu rendemen tinggi, waktu ekstraksi cepat, dan pelarut yang digunakan lebih sedikit (Tri *et al.* 2022).

b. Prinsip - prinsip metode *green extraction*

Menurut Chemat, Vian, and Cravotto (2012), yang menyebutkan terdapat enam prinsip *green extraction* pada produk alami yang harus diterapkan oleh industri, sebagai berikut :

- 1) Prinsip 1 : Inovasi melalui pemilihan varietas dan penggunaan sumber daya tanaman terbarukan.

Prinsip ini menekankan keseimbangan antara pemanfaatan dan pelestarian sumber daya alam dengan mengutamakan penggunaan bahan yang dapat

diperbaharui. Melalui pemilihan varietas tanaman produktif dan teknologi seperti kultur jaringan in vitro, ekstraksi hijau mendukung pasokan berkelanjutan kebutuhan industri sambil melestarikan keanekaragaman hayati untuk generasi mendatang.

2) Prinsip 2 : Penggunaan pelarut alternatif dan terutama air atau pelarut pertanian.

Pelarut organik yang mudah terbakar dan beracun mendorong industri untuk beralih ke pelarut hayati atau agro yang lebih ramah lingkungan. Pelarut ini berasal dari biomassa terbarukan seperti kayu, pati, minyak nabati, dan buah-buahan, serta mudah terurai secara hayati dan aman. Namun, pelarut ini masih memiliki kekurangan seperti biaya tinggi, viskositas dan titik didih yang tinggi, serta potensi rasa yang tidak enak.

3) Prinsip 3 : Mengurangi konsumsi energi melalui pemulihan energi dan penggunaan teknologi inovatif.

Proses ekstraksi dipengaruhi oleh faktor lingkungan dan ekonomi, sehingga memerlukan efisiensi energi dan pengurangan limbah. Penghematan energi dapat dicapai dengan mengoptimalkan proses yang ada, memanfaatkan kembali energi yang dihasilkan, memperkuat proses melalui intensifikasi, dan melakukan inovasi metode ekstraksi secara menyeluruh.

4) Prinsip 4 : Produksi produk sampingan sebagai pengganti limbah termasuk industri penyulingan hayati dan pertanian.

Produk sampingan adalah produk tambahan dari suatu proses produksi yang masih bernilai dan dapat digunakan kembali. Melalui konsep biorefineri, biomassa diolah menjadi berbagai produk hayati seperti biofuel dan biomaterial, contohnya

produk sampingan rosemary dapat diekstraksi untuk menghasilkan antioksidan alami yang bermanfaat bagi industri makanan dan kosmetik.

5) Prinsip 5 : Kurangi operasi unit dan utamakan proses yang aman, kuat dan terkendali.

Industri produk alami perlu menerapkan intensifikasi proses dengan mengembangkan peralatan dan teknik yang lebih efisien untuk menciptakan produksi yang ringkas, hemat energi dan bahan baku, serta ramah lingkungan tanpa mengurangi kualitas hasil.

6) Prinsip 6 : Dapatkan ekstrak yang tidak mengalami denaturasi dan dapat terurai secara hayati tanpa kontaminasi.

Prinsip ini menekankan pentingnya untuk menghasilkan ekstrak yang alami, tidak terdenaturasi, mudah terurai secara hayati dan bebas kontaminan. Ekstrak harus berasal dari bahan baku yang teridentifikasi dengan jelas, memenuhi standar kualitas fisikokimia, serta bebas dari polutan seperti pestisida, logam berat, dan mikotoksin agar aman bagi kesehatan dan lingkungan.

D. Virgin Coconut Oil (VCO) Sebagai Pelarut Green Extraction

1. Definisi *Virgin Coconut Oil* (VCO)

Virgin Coconut Oil (VCO) merupakan minyak yang diperoleh dari daging kelapa tua segar melalui proses alami atau mekanis, baik dengan pemanasan maupun tanpa pemanasan, sehingga kandungan alaminya tetap terjaga dan tidak mengalami perubahan. Secara fisik, VCO berbentuk cairan bening, tidak memiliki rasa dan memiliki aroma khas kelapa yang alami. Minyak ini mengandung *Medium-Chain Fatty Acids* (MCFA) atau asam lemak rantai sedang yang mudah diserap

oleh tubuh. Kandungan tersebut membantu meningkatkan sistem kekebalan tubuh, serta mempercepat proses penyembuhan (Devi et al. 2022).

Kandungan utama *Virgin Coconut Oil* (VCO) terdiri dari sekitar 50% asam laurat dan 7% asam kaprat, keduanya merupakan asam lemak jenuh rantai sedang yang mudah dicerna dan dimetabolisme oleh tubuh serta memiliki sifat antimikroba. Di dalam tubuh, asam laurat diubah menjadi monolaurin, suatu senyawa monogliserida yang memiliki aktivitas antivirus, antibakteri, dan antiprotozoa. Monolaurin berperan penting dalam sistem imun manusia dan hewan karena dapat menghancurkan berbagai virus berlapis lipid seperti HIV, herpes, influenza, dan beberapa bakteri patogen. Sementara itu, asam kaprat juga berperan dalam menjaga sistem imun dengan diubah menjadi monokaprin, suatu senyawa yang memiliki efek antivirus terhadap HIV dan herpes simpleks, serta mampu melawan bakteri yang ditularkan melalui hubungan seksual (Damin, Alam, and Sarro, 2017).

Dalam konsep *green extraction*, *Virgin Coconut Oil* (VCO) termasuk pelarut yang ramah lingkungan karena berasal dari bahan nabati yang dapat diperbarui, tidak beracun, serta aman digunakan dalam bidang pangan dan farmasi. Berbagai penelitian membuktikan bahwa VCO dapat berfungsi sebagai pelarut utama maupun pelarut pendamping dalam proses ekstraksi senyawa bioaktif, baik melalui metode maserasi berbasis minyak maupun sebagai co-extractant pada ekstraksi menggunakan supercritical CO₂. Penggunaan VCO ini membantu mengurangi ketergantungan terhadap pelarut organik berbahaya seperti heksana (Devi et al. 2022).

2. Potensi VCO sebagai *drug delivery*

Virgin Coconut Oil (VCO) memiliki potensi besar untuk digunakan sebagai sistem penghantaran obat (*drug delivery system*) karena mengandung trigliserida rantai sedang, terutama asam laurat dan asam kaprat, yang mudah dicerna dan dapat membantu penyerapan senyawa yang larut dalam lemak (Prasanna et al. 2024). Dalam formulasi obat, VCO dapat berperan sebagai fase minyak pada nanoemulsi, mikroemulsi, atau sistem penghantaran obat yang dapat mengemulsi sendiri (SEDDS). Penggunaannya membantu meningkatkan kelarutan, kestabilan, dan ketersediaan hayati obat yang sukar larut dalam air. Selain sebagai pembawa obat, asam laurat di dalam VCO juga dapat diubah menjadi monolaurin, senyawa yang memiliki aktivitas antivirus, antibakteri, dan antijamur, sehingga dapat memberikan manfaat terapeutik tambahan dalam formulasi obat (Sharma et al. 2024).

Plumbago zeylanica L. mengandung senyawa aktif utama berupa plumbagin, yaitu senyawa naftokuinon yang bersifat lipofilik dan diketahui memiliki aktivitas antijamur dengan cara menghambat pertumbuhan serta merusak membran sel jamur. Karena plumbagin sukar larut dalam air, penggunaan VCO sebagai sistem penghantaran obat menjadi pilihan yang tepat (Prasanna et al. 2024). VCO berperan sebagai pelarut lipid yang sesuai dengan sifat plumbagin, sehingga mampu meningkatkan kelarutan, mempermudah proses ekstraksi senyawa aktif, dan membantu penetrasi ke membran sel jamur.

Selain berfungsi sebagai carrier, VCO juga memiliki kemampuan antijamur tersendiri terhadap *Candida albicans* dan spesies jamur lainnya, sehingga kombinasi antara VCO dan ekstrak *Plumbago zeylanica L.* yang mengandung plumbagin dapat memberikan efek sinergis dalam menghambat pertumbuhan jamur

(Sharma *et al.* 2024). Oleh karena itu, pemanfaatan VCO tidak hanya memperbaiki efektivitas penghantaran plumbagin, tetapi juga memperkuat aktivitas antijamur melalui efek antimikroba alaminya.

E. Uji Aktivitas Antijamur

1. Metode uji antijamur

Aktivitas antijamur suatu senyawa dapat diuji melalui dua pendekatan utama, yaitu uji secara *invivo* yang dilakukan pada organisme hidup seperti hewan percobaan atau manusia (melalui uji klinis), dan uji *invitro* yang dilakukan diluar tubuh organisme hidup yang meliputi metode difusi dan dilusi.

a. Metode difusi

Metode difusi cakram merupakan salah satu teknik yang paling sering digunakan dalam pengujian aktivitas antimikroba. Prinsipnya dilakukan dengan menempatkan cakram kertas yang telah diberikan larutan antibiotik pada permukaan media agar padat yang sebelumnya telah diinokulasikan dengan mikroorganisme uji. Setelah proses inkubasi, akan muncul zona bening disekitar cakram, yang disebut zona hambat, dan ukuran diameternya digunakan untuk menilai kemampuan antibiotik dalam menghambat pertumbuhan mikroorganisme tertentu (Cappuccino and Welsh, 2019).

Keberhasilan metode ini dipengaruhi oleh berbagai faktor kimia dan fisik, seperti jenis media agar, ukuran molekul, kestabilan senyawa, kemampuan antibiotik berdifusi dalam agar, dan interaksi antara antibiotik dan mikroorganisme. Metode difusi cakram memiliki keunggulan berupa proses yang cepat, biaya rendah, mudah dilakukan, dan tidak memerlukan keterampilan khusus. Keterbatasannya, antara lain kurang efektif untuk mikroorganisme yang tumbuh lambat, serta hasilnya dapat

dipengaruhi oleh kondisi inkubasi, jumlah inokulum dan ketebalan media agar (Sari, Alamsyah, dan Kornialia, 2024).

Zona hambat dapat diklasifikasikan ke dalam beberapa kategori, sebagai berikut:

Tabel 1
Katagori Zona Hambat

Diameter zona hambat	Keterangan
≥ 20 mm	Sangat kuat
11-20 mm	Kuat
5-10 mm	Sedang
< 5 mm	Lemah

(Sumber : Sari, Alamsyah, dan Kornialia, 2024)

b. Metode dilusi

Metode dilusi digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) atau *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC), yaitu konsentrasi terendah dari suatu senyawa antimikroba yang masih mampu secara efektif menghambat pertumbuhan mikroorganisme secara terkendali, hingga benar-benar mencegah pertumbuhan strain mikroba yang diuji (Cappuccino and Welsh, 2019). Hasil penentuan KHM ini memberikan data kuantitatif yang berguna bagi klinisi dalam memilih terapi antimikroba yang paling efektif. Metode penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dapat dilakukan dengan dua cara utama, yaitu :

- 1) Metode pengenceran (*dilution methods*), yang dilakukan pada media agar atau media cair, dan mencakup mikrodilusi serta makrodilusi.
- 2) Metode gradien, yang menggunakan strip berisi gradien konsentrasi antibiotik untuk menentukan nilai MIC secara langsung (Kowalska-Krochmal and Dudek-Wicher, 2021).

Metode dilusi cair telah distandarisasi oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST), serta secara luas diterima sebagai metode yang akurat untuk menentukan sensitivitas antimikroba (Kowalska-Krochmal and Dudek-Wicher, 2021). Dalam hal ini, media yang digunakan untuk uji sensitivitas antimikroba dapat berupa *Mueller Hinton* (MH) baik dalam bentuk agar (MHA) atau dalam bentuk kaldu (MHB), yang umum dipakai untuk bakteri karena mampu mendukung pertumbuhannya dengan baik dan memberikan hasil uji yang konsisten.

Namun, untuk jamur seperti *Candida albicans*, media yang direkomendasikan oleh *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI) dan *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (EUCAST) adalah RPMI 1640, karena media ini memiliki pH yang stabil dan komposisi nutrisi yang mendukung pertumbuhan jamur secara optimal. Kekurangan dari media ini yaitu sering memerlukan penambahan zat aditif seperti glukosa 2%, L-glutamin, atau buffer MOPS untuk menjaga stabilitas pH dan mendukung pertumbuhan jamur. Tanpa penambahan ini, pertumbuhan mikroba bisa tidak stabil dan hasil KHM (Konsentrasi Hambat Minimum) kurang akurat. Selain itu, media ini relatif mahal dan pH-nya sensitif terhadap paparan CO₂, sehingga harus digunakan dalam kondisi terkontrol (Shahandashti, Stubenbock, and Lass Florl, 2023). Dalam pengujian aktivitas antijamur, terdapat faktor-faktor yang harus diperhatikan (Suryantarini, Hasbi, and Ayunda, 2024), yaitu :

a) Kepekatan inokulum

Konsentrasi suspensi jamur yang tidak sesuai standar dapat menyebabkan hasil uji antijamur menjadi tidak akurat, sehingga penting memastikan konsentrasi

inokulum memenuhi ketentuan agar hasil pengujian mencerminkan aktivitas antijamur yang sebenarnya.

b) Waktu inkubasi

Semakin lama waktu inkubasi, maka semakin besar risiko munculnya jamur resisten karena berkurangnya konsentrasi antibiotik yang memungkinkan jamur yang kurang sensitif untuk tumbuh.

c) Suhu inkubasi

Peningkatan suhu dapat meningkatkan efektivitas antimikroba dan disinfektan, serta memengaruhi produksi senyawa antijamur oleh mikroorganisme dan sensitivitas jamur terhadap antibiotik.

d) Sterilisasi

Sterilisasi ruang kerja, peralatan, dan bahan sangat penting untuk mencegah kontaminasi mikroba yang dapat memengaruhi keakuratan hasil pengujian.

e) pH media

Setiap mikroorganisme memiliki pH optimal untuk pertumbuhannya, sehingga pH media yang tidak sesuai dapat menghambat pertumbuhan jamur secara alami dan mempersulit penilaian efek penghambatan dari agen antijamur yang diuji.

f) Konsentrasi agen antijamur

Pada dasarnya, semakin tinggi konsentrasi agen antijamur, maka semakin cepat mikroorganisme yang terkena paparan.