

- PLANTAS MEDICINALIS
- CYTODIFERENSIAL
- PALM OIL

# Uji Sitotoksitas Minyak Kelapa Murni Terhadap Sel Fibroblas Menggunakan Esei MTT

K6 77/07

Sun  
U

## SKRIPSI



Oleh :

**DIANA SUNTARDJO**

**020313280**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

**LEMBAR PENGESAHAN**

**Uji Sitotoksisitas Minyak Kelapa Murni  
Terhadap Sel Fibroblas  
Menggunakan Esei MTT**

**SKRIPSI**

Diajukan Sebagai Salah Satu Syarat  
Untuk Menyelesaikan Pendidikan Doktor Gigi  
Pada Fakultas Kedokteran Gigi  
Universitas Airlangga

Oleh :

**DIANA SUNTARDJO**  
**020313280**

Mengetahui / Menyetujui,

Pembimbing I



**Christian Khoswanto, drg., M.Kes**  
**NIP. 132 229 717**

Pembimbing II



**Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes.**  
**NIP. 132 148 534**

**FAKULTAS KEDOKTERAN GIGI  
UNIVERSITAS AIRLANGGA  
SURABAYA  
2007**

## KATA PENGANTAR

Puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa karena berkat rahmat dan karunia-Nya, maka skripsi dengan judul "Uji Sitotoksitas Minyak Kelapa Murni Terhadap Sel Fibroblas Menggunakan Esei MTT" sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan Pendidikan Program S1 pada Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga dapat diselesaikan dengan baik.

Skripsi ini ditulis dengan tujuan untuk mengetahui sitotoksitas minyak kelapa murni terhadap sel fibroblas sebagai salah satu bahan yang dapat mempercepat penyembuhan luka.

Terima kasih dan penghormatan yang setinggi-tingginya hendak disampaikan kepada pihak-pihak yang telah berkenan mendukung dan membantu proses penyelesaian skripsi ini, antara lain:

1. Prof. Dr. Roeslan Effendy, drg., M.S., Sp. KG selaku Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga beserta segenap Pembantu Dekan Fakultas Kedokteran Gigi Universitas Airlangga yang telah memberi ijin dalam pelaksanaan penelitian skripsi.
2. Markus Budi Rahardjo, drg., M.Kes selaku kepala Laboratorium Biologi Oral yang telah memberi kesempatan untuk mengambil skripsi di bidang Biologi Oral.
3. Christian Khoswanto, drg., M.Kes selaku pembimbing pertama yang telah dengan sabar meluangkan waktu dalam membimbing penulisan skripsi.

4. Pratiwi Soesilawati, drg., M.Kes selaku pembimbing kedua yang telah menuntun dengan sabar dan penuh perhatian dalam penyelesaian skripsi.
5. Ester Arijani, drg., M.S.; Dr. Theresia Indah B., drg., M.Kes dan Indeswati Dyatri, drg., M.Kes selaku dosen penguji skripsi yang telah memberikan saran-saran yang sangat berarti demi kesempurnaan penulisan skripsi.
6. Chiquita Prahasanti, drg., Sp. Perio selaku dosen wali yang telah memberikan dorongan untuk segera menyelesaikan penulisan skripsi.
7. Endhang Pudjiastuti, drh. selaku kepala Laboratorium di Pusat Veterinaria Farma yang telah menerima penulis untuk melakukan penelitian.
8. Ernawati Yulia, drh. dan Indah Mukti Rahayu yang telah membantu pelaksanaan penelitian sehingga dapat diperoleh hasil penelitian yang baik.
9. Dra. Ani Setyopratiwi, Msi yang telah mengirimkan minyak kelapa murni sebagai bahan penelitian.
10. Papa, mama, cece dan meme yang telah membantu lewat doa dan dukungan lain sehingga penulisan skripsi dapat berjalan dengan lancar.
11. Teman-teman angkatan 2003, terutama Stephen, Natalia, Erick F dan Ineke yang telah mendukung penulis dalam pelaksanaan penelitian skripsi.
12. Semua pihak yang ikut membantu dalam penyusunan skripsi, baik secara langsung maupun tidak langsung, yang tidak dapat disebutkan.

Surabaya, Juli 2007

Penulis

## DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
LEMBAR PENGESAHAN.....	ii
KATA PENGANTAR .....	iii
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR TABEL.....	viii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR LAMPIRAN.....	x
<b>BAB 1 PENDAHULUAN.....</b>	<b>1</b>
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	2
1.3 Tujuan Penelitian.....	2
1.3.1 Tujuan Umum.....	2
1.3.2 Tujuan Khusus.....	2
1.4 Manfaat Penelitian.....	3
1.4.1 Manfaat teoritis.....	3
1.4.2 Manfaat praktis.....	3
<b>BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA.....</b>	<b>4</b>
2.1 Mukosa Mulut.....	4
2.1.1 Epitel Mukosa Mulut.....	5

2.1.2 Lamina Propria .....	5
2.1.3 Submukosa .....	5
2.2 Proses Penyembuhan Luka .....	6
2.2.1 Tahapan Penyembuhan Luka dari Segi Hitopatologi .....	7
2.2.2 Faktor yang Berpengaruh dalam Penyembuhan Luka .....	8
2.3 Antioksidan .....	11
2.4 Minyak Kelapa Murni .....	11
2.4.1 Definisi dan Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni .....	12
2.4.2 Kandungan Nutrisi dan Asam Lemak Minyak Kelapa Murni ....	13
2.4.3 Manfaat Minyak Kelapa Murni .....	14
2.4.4 Minyak Kelapa Murni sebagai Antioksidan.....	15
2.4.5 Efek Samping Minyak Kelapa Murni .....	16
2.5 Uji Sitotoksisitas dengan Esei MTT .....	14
2.5.1 Pengertian Uji Sitotoksisitas .....	14
2.5.2 Esei MTT.....	16
2.6 Sel Fibroblas.....	17
<b>BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL.....</b>	<b>20</b>
<b>BAB 4 METODOLOGI PENELITIAN.....</b>	<b>22</b>
4.1 Jenis Penelitian .....	22
4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian .....	22
4.3 Obyek Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian.....	22
4.4 Variabel Penelitian .....	23
4.4.1 Variabel Bebas.....	23

4.4.2 Variabel Tergantung .....	23
4.4.3 Variabel Terkendali .....	23
4.4.4 Unit Analisis .....	23
4.5 Definisi Operasional .....	23
4.6 Alat dan Bahan .....	24
4.6.1 Alat yang digunakan .....	24
4.6.2 Bahan yang dipakai .....	25
4.7 Prosedur Penelitian .....	25
4.7.1 Persiapan Alat dan Bahan yang Digunakan .....	25
4.7.2 Persiapan Kultur Sel BHK-21 .....	26
4.7.3 Uji Sitotoksitas dengan Esei MTT .....	26
4.8. Alur Penelitian .....	28
4.9 Pengolahan dan Analisis Data .....	29
<b>BAB 5 HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA .....</b>	<b>30</b>
<b>BAB 6 PEMBAHASAN .....</b>	<b>35</b>
<b>BAB 7 KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>	<b>38</b>
7.1 Kesimpulan .....	38
7.2 Saran .....	38
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>39</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>42</b>

## DAFTAR TABEL

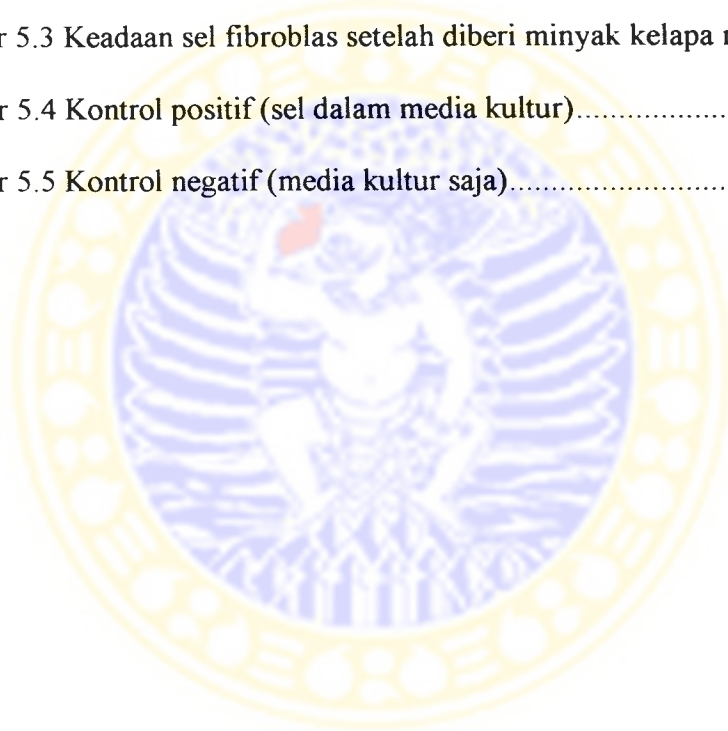
	Halaman
Tabel 5.1 Distribusi rata-rata dan standar deviasi sel hidup yang terbaca dengan spektrofotometer.....	30
Tabel 5.2 Distribusi jumlah sel hidup (%) .....	31
Tabel 5.3 Uji <i>One-way</i> ANOVA .....	32





## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 2.1 Sel fibroblas.....	18
Gambar 5.1 Tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan .....	31
Gambar 5.2 Keadaan normal sel fibroblas (perbesaran 100x) .....	33
Gambar 5.3 Keadaan sel fibroblas setelah diberi minyak kelapa murni.....	33
Gambar 5.4 Kontrol positif (sel dalam media kultur).....	34
Gambar 5.5 Kontrol negatif (media kultur saja).....	34



## DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Foto-foto dokumentasi penelitian .....	42
Lampiran 2. Hasil uji perhitungan statistik .....	44



## BAB 1

### PENDAHULUAN

#### 1.1 Latar Belakang

Keradangan di mukosa mulut merupakan masalah yang masih sering terjadi di masyarakat Indonesia. Luka pada mukosa mulut sering disebabkan akibat iritasi karena trauma atau infeksi kuman. Keradangan pada luka tersebut ditandai dengan timbulnya rasa panas, kemerahan pada daerah luka dan rasa sakit yang menyebabkan rasa tidak nyaman pada penderita (Robbins dan Kummar, 2005). Gangguan yang terjadi di rongga mulut juga telah terbukti dapat menyebabkan gangguan-gangguan kesehatan lain, seperti penyakit jantung , diabetes, *stroke*, dan beberapa gangguan kesehatan yang lain (Fife, 2005).

Dewasa ini, penggunaan minyak kelapa murni di bidang kesehatan sedang berkembang dengan pesat. Menurut Syah (2005), *medium chain fatty acids* (MCFA) atau asam lemak rantai sedang yang terkandung dalam minyak kelapa murni dapat meningkatkan metabolisme sel sehingga proses penyembuhan luka dapat berlangsung lebih cepat.

Minyak kelapa bukan produk baru bagi masyarakat Indonesia. Sejak dahulu masyarakat sudah terbiasa mengkonsumsi minyak ini, baik untuk memasak maupun sebagai ramuan obat tradisional. Hasil riset para ahli membuktikan bahwa minyak kelapa murni baik untuk kesehatan (Price, 2004).

Dalam penggunaan, minyak kelapa murni akan kontak secara langsung dengan rongga mulut maupun dengan saluran pencernaan sehingga penulis merasa

sangat penting untuk mengetahui batas keamanan dari penggunaan minyak kelapa murni terhadap jaringan yang hidup dalam jangka waktu lama. Oleh karena itu, penulis melakukan uji sitotoksisitas terhadap minyak kelapa murni, dengan pertimbangan karena bukti tertulis mengenai derajat sitotoksisitas minyak kelapa murni yang masih terbatas. Penggunaan minyak kelapa murni diharapkan dapat ditingkatkan di bidang kesehatan, terutama dalam perawatan kesehatan gigi dan rongga mulut.

## 1.2 Rumusan Masalah

Apakah minyak kelapa murni bersifat sitotoksik terhadap sel fibroblas?

## 1.3 Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Tujuan Umum

Untuk mengetahui kemampuan minyak kelapa murni terhadap aktivitas sel fibroblas pada proses penyembuhan luka.

### 1.3.2 Tujuan Khusus

Untuk mengetahui sitotoksisitas minyak kelapa murni terhadap sel fibroblas dengan menggunakan esei MTT (3-(4,5-*dimethylthiazol-2-yl*)-2,5-*diphenyltetrazolium bromide*).

## **1.4 Manfaat Penelitian**

### **1.4.1 Manfaat teoritis**

Dapat mengungkap batas keamanan penggunaan minyak kelapa murni terhadap jaringan hidup.

### **1.4.2 Manfaat praktis**

1. Dapat mengungkap batas keamanan penggunaan minyak kelapa murni terhadap jaringan hidup.
2. Apabila setelah diteliti minyak kelapa murni memiliki sitotoksitas yang rendah sehingga tidak berbahaya bagi kehidupan sel dan jaringan, maka dapat dikonsumsi bersama dengan makanan sehari-hari untuk meningkatkan kesehatan dan kualitas kehidupan.
3. Menambah pengetahuan masyarakat mengenai peran bahan-bahan alami terutama minyak kelapa murni.

## BAB 2

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Mukosa Mulut

Mukosa mulut terdiri dari dua lapisan, yaitu epitel dan jaringan ikat (*connective tissue*) yang dibatasi oleh membran basalis. Jaringan ikat pada epitel mukosa mulut disebut juga dengan lamina propria dan di bawah lamina propria terdapat submukosa (Bhaskar, 1991).

Mukosa mulut merupakan sekumpulan sel yang dibatasi oleh mukosa bibir, permukaan pipi bagian dalam, palatum durum dan gigi-gigi rahang atas, mukosa lidah dan gigi rahang bawah serta sebagian palatum mole yang berbatasan dengan *pharynx*. Mukosa mulut dapat dibagi menjadi tiga kategori, yaitu (Wikipedia.com, 2007):

1. *Masticatory mucosa*, terdiri dari *keratinized stratified squamous epithelium*, dapat ditemukan pada dorsum lidah, palatum durum dan *attached gingival*.
2. *Lining mucosa*, terdiri dari *stratified squamous epithelium*, dapat ditemukan hampir di seluruh rongga mulut.
3. *Specialized mucosa*, ditemukan secara spesifik di daerah *taste buds* pada dorsum lidah.

### 2.1.1 Epitel Mukosa Mulut

Epitel mukosa mulut mempunyai stratum yang berlapis-lapis dengan gambaran sel yang berubah dari stratum satu ke stratum lain, yaitu stratum basalis, stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lusidum dan stratum korneum. Keseluruhan proses dari stratum basalis sampai stratum korneum disebut keratinisasi (Bhaskar, 1991; Lesson *et al*, 1995; Alberts *et al*, 1994).

### 2.1.2 Lamina Propria

Lamina propria merupakan jaringan ikat yang mendukung epitel, terbagi dalam dua lapisan, yaitu *papillary layer* dan *reticular layer*. *Papillary layer* merupakan papila yang mengandung ujung syaraf khusus (papila saraf), juga terdapat kapiler darah. Di bawah *papillary layer* terdapat *reticular layer* yang mungkin tidak terlihat pada beberapa daerah, seperti pada mukosa alveolar bila papila sangat pendek (Bhaskar, 1991).

Lamina propria terdiri dari serat kolagen, sejumlah kecil serat elastik yang membantu mempertahankan bentuk jaringan, dan serat retikulin yang mengikat serat kolagen. Serat-serat tersebut berasal dari suatu sel, yaitu fibroblas yang bersama-sama dengan sel plasma, histiosit dan mastosit yang juga terdapat dalam lamina propria untuk mempertahankan jaringan tetap normal (Lesson, 1995).

### 2.1.3 Submukosa

Submukosa mengandung serat elastin yang mengikat membrana mukosa secara erat pada otot, mencegah pembentukan lipatan mukosa yang dapat tergigit

di antara gigi-geligi ketika rahang menutup. Pada submukosa terdapat kelenjar liur, pembuluh darah, saraf dan jaringan adipose. Dalam submukosa terdapat cabang-cabang dari pembuluh arteri yang besar, yang kemudian masuk ke lamina propria, pembuluh darah ini disertai dengan pembuluh limfe. Pembuluh darah pada lamina propria dan submukosa membawa oksigen ke jaringan (Bhaskar, 1991).

## 2.2 Proses Penyembuhan Luka

Penyembuhan merupakan proses atau cara untuk memperbaiki jaringan yang rusak dan perbaikan terhadap fungsi serta struktur jaringan yang terkena jejas (Sudiono, 1995). Penyembuhan luka adalah pergantian sel mati oleh sel hidup yang terjadi melalui regenerasi dan organisasi, hasil akhir tergantung dari keseimbangan lokal di antara kedua faktor tersebut (Lawler *et al*, 1992). Penyembuhan merupakan respon jaringan terhadap luka, proses peradangan pada organ dalam atau nekrosis sel pada organ yang mampu regenerasi disebut jaringan granulasi (Kumar *et al*, 1999).

Proses penyembuhan dari sel parenkim terjadi melalui pergantian sel rusak dengan sel baru sehingga fungsi tubuh atau jaringan akan pulih kembali dengan sempurna. Proses penyembuhan yang demikian disebut regenerasi. Sedangkan, jika proses penyembuhan terjadi dengan pembentukan jaringan parut atau jaringan ikat untuk menggantikan jaringan yang rusak, maka prosesnya disebut organisasi (Sudiono, 1995).



Perbaikan diawali dengan peradangan. Dalam 24 jam setelah luka, fibroblas dan sel endothelial memulai proliferasi untuk membentuk tipe khusus dari jaringan yang merupakan tanda kesembuhan, yaitu jaringan granulasi. Kesembuhan ini ditandai dengan terbentuknya jaringan yang berwarna merah muda, lembut dan granular pada permukaan luka, tetapi pada gambaran histologis didapatkan karakteristik berupa bentukan dari pembuluh darah kecil yang baru (*angiogenesis*) dan proliferasi fibroblas (Kumar *et al*, 1999).

#### 2.2.1 Tahapan Penyembuhan Luka Ditinjau Dari Segi Histopatologi

Menurut Kumar *et al* (1999), penyembuhan luka digolongkan dalam dua kemungkinan, yaitu penyembuhan primer dan sekunder. Insisi menyebabkan kematian pada sebagian kecil epitel dan sel jaringan ikat. Proses penyembuhan primer terbagi dalam beberapa tahap, yaitu:

1. Dalam 24 jam, neutrofil terlihat pada tepi luka. Selanjutnya membentuk gumpalan fibrin. Dalam 24-48 jam, memacu pembentukan sel epitel dari tepi luka (dengan sedikit proliferasi sel) mendekati margin pada dermis, mendeposit komponen dari membran basal.
2. Hari ke-3, neutrofil secara besar-besaran digantikan oleh makrofag. Jaringan granulasi secara cepat memasuki celah luka. Sabut kolagen ditemukan pada tepi luka, tetapi berorientasi secara vertikal dan tidak menghubungkan luka. Proliferasi sel epitel tipis pada lapisan epidermal.
3. Hari ke-5, celah luka diisi oleh jaringan granulasi. Vaskularisasi maksimal. Serat kolagen tumbuh secara berlebihan dan memulai menghubungkan

luka. Epidermis dilindungi serat kolagen tipis. Susunan dan diferensiasi pada sel permukaan menghasilkan epidermal yang matur dengan keratinisasi pada permukaan.

4. Minggu pertama, dilanjutkan dengan akumulasi kolagen dan proliferasi fibroblas. Infiltrasi leukosit, oedem dan dihasilkan vaskularisasi yang besar. Bulan pertama, bekas luka dibentuk oleh jaringan ikat seluler tanpa infiltrasi dari peradangan, dilindungi oleh epidermis yang utuh (Kumar *et al*, 1999).

Bila kerusakan dari sel atau jaringan lebih banyak, maka luka pada permukaan akan menghasilkan defek yang besar, proses perbaikan menjadi lebih kompleks. Penyembuhan ini disebut sebagai penyembuhan sekunder.

## 2.2.2 Faktor yang Berpengaruh dalam Penyembuhan Luka

### 1. Faktor umum

#### a. Usia

Pada orang lanjut usia, penyembuhan lebih lambat dibandingkan anak-anak, hal ini diduga disebabkan oleh penurunan suplai darah pada orang yang sudah tua (Sudiono, 1995).

#### b. Diet atau nutrisi

Jika terjadi defisiensi protein, maka sintesa kolagen dan penyembuhan akan terhambat (Kumar *et al*, 1999). Pada orang yang makan sedikit protein, menyebabkan kadar protein dalam darah sangat rendah, keadaan

ini menyebabkan luka sukar sembuh dan menyebabkan keadaan yang lebih parah (Sudiono, 1999).

c. Vitamin

Dari sejumlah nutrisi yang ada, vitamin C merupakan salah satu nutrisi penting yang dibutuhkan dalam proses penyembuhan luka. Kekurangan vitamin A dapat menghambat perbaikan dari jaringan setelah terkena jejas atau trauma (Haas, 2004).

d. Hormon

Hormon yang berperan di sini misalnya kortison. Pemberian kortison pada suatu radang dapat menyebabkan gangguan pada mekanisme perubahan pembuluh darah, menyebabkan pembentukan eksudat radang yang sedikit sekali atau terhambat (Sudiono, 1995). Hal ini dapat menghambat sintesa kolagen (Kumar *et al*, 1999).

e. Status metabolik

Diabetes mellitus dapat menghambat penyembuhan luka (Kumar *et al*, 1999).

f. Status sirkulasi

Status sirkulasi dapat mengatur penyembuhan luka. Suplai darah yang tidak adekuat dapat diakibatkan karena *atherosclerosis* atau abnormalitas dari vena sehingga mengganggu penyembuhan (Kumar *et al*, 1999).

2. Faktor lokal

a. Suplai darah

Kekurangan darah akan menyebabkan tubuh kekurangan zat yang sangat dibutuhkan, antara lain vitamin dan oksigen. Hal ini akan menghambat proses penyembuhan.

b. Benda asing

Benda asing akan menghambat penyembuhan karena benda asing merupakan suatu rangsang pada jaringan yang akan memelihara radang.

c. Pergerakan jaringan

Pada patah tulang, jika pada kedua bagian yang patah masih terdapat pergerakan, maka penyembuhan akan terhambat. Penyembuhan akan dipercepat jika kedua bagian ini tidak bergerak atau difiksasi.

d. Luas kerusakan jaringan

Jika ada kerusakan total dari suatu organ, sebagian besar tidak dapat diperbaiki dengan sempurna.

e. Infeksi

Infeksi merupakan salah satu hal penting yang dapat menghambat penyembuhan. Pada keadaan ini dibutuhkan debridemen untuk menghasilkan proses penyembuhan yang sempurna (McMohan, Sloan, 2000).

f. Faktor mekanik

Gerakan awal pada luka dapat menghambat penyembuhan dengan menekan pembuluh darah dan memisahkan tepi dari luka.

g. Ukuran, lokasi dan tipe dari luka

Luka pada daerah dengan vaskularisasi yang tinggi seperti pada wajah dapat sembuh dengan cepat daripada daerah dengan vaskularisasi yang rendah, sebagai contoh luka di kaki yang kecil akan cepat sembuh dengan sedikit bekas luka daripada luka yang besar oleh karena trauma benda tumpul (Kumar *et al*, 1999).

### 2.3 Antioksidan

Antioksidan adalah semua bahan yang dapat menghambat atau mencegah kerusakan atau destruksi yang disebabkan oleh oksidasi. Oksidasi seringkali merusak bahan yang teroksidasi, walaupun kadang-kadang dapat berperan penting, antara lain sebagai sumber dari semua energi makhluk hidup. Namun, pada beberapa kasus lain, seperti ketika radikal bebas menyebabkan kerusakan sel pada proses penyembuhan, maka oksidasi menjadi tidak berguna. Di sinilah peran antioksidan dibutuhkan. Tubuh mempunyai antioksidan sendiri untuk membatasi kerusakan, salah satu yang paling efektif adalah tokoferol. Antioksidan yang lain adalah sistein, glutathion dan *D-penicillamine* serta konstitusi darah yaitu transferin dan seroloplasmin. Selain itu, tubuh juga mempunyai enzim antioksidan yang penting. Enzim antioksidan yang paling menarik adalah *superoksida dismutase*. Enzim ini tidak memiliki fungsi lain selain mengubah radikal bebas superoksida menjadi hidrogen peroksida ( $H_2O_2$ ) yang lebih aman. Meskipun hidrogen peroksida bukan merupakan zat radikal bebas, tetapi keberadaannya di sekitar sel dapat menyebabkan terjadinya oksidasi karena  $H_2O_2$  mempunyai atom oksigen ekstra. Untuk mengatasi hal ini, tubuh mempunyai dua enzim lain, yaitu katalase

dan glutathione peroxidase yang dapat mengubah hidrogen peroksida menjadi air dan oksigen (Youngson, 1994).

## 2.4 Minyak Kelapa Murni

### 2.4.1 Definisi dan Proses Pembuatan Minyak Kelapa Murni

Minyak kelapa murni adalah minyak nabati yang dibuat dari buah kelapa (*Cocos nucifera L*) dan termasuk dalam golongan asam lemak jenuh rantai sedang. Proses pembuatan minyak kelapa murni dimulai dari pemilihan buah kelapa. Kelapa tua segar adalah bahan baku terbaik. Setelah kulit ari yang berwarna kecoklatan dikupas, buah kelapa diparut dan diperas menggunakan mesin pemeras santan (*coco milk expeller*) atau dengan tangan secara manual. Perasan santan kental kemudian dimasak dengan suhu di bawah 60°C. Sampai terbentuk lapisan belondo (endapan protein kelapa) pada bagian paling bawah, air dan lapisan minyak murni berwarna bening pada lapisan paling atas. Hasil minyak tidak mempunyai rasa dan beraroma khas kelapa. Minyak inilah yang dikenal dengan sebutan minyak perawan atau minyak kelapa murni (Sukartini, 2005).

Proses pembuatan minyak kelapa murni juga bisa dilakukan dengan proses dingin tanpa pemanasan. Langkah pertama yang dapat dilakukan yaitu memeras santan menggunakan air kelapa, kemudian ditambahkan enzim dari nanas (ananase), getah pepaya (papain) atau kepiting sungai/yuyu yang dihaluskan. Selain dengan menambahkan enzim, fermentasi juga bisa dilakukan dengan menambahkan starter khamir *Saccharomyces cerevisiae* atau ragi roti, kemudian difermentasikan dalam suhu 30°C – 35°C selama 12 jam. Setelah proses

fermentasi dilakukan, didiamkan selama satu malam kemudian dipisahkan belondo dengan minyak kelapa murni (Sutomo, 2006).

#### 2.4.2 Kandungan Nutrisi dan Asam Lemak Minyak Kelapa Murni

Menurut Price (2004), nutrisi yang terkandung dalam 100 gram minyak kelapa murni adalah sebagai berikut:

Energi	:	3.760	kal
Protein	:	0	
Karbohidrat	:	0	
Gula	:	0	
Lemak	:	100	g
Lemak jenuh	:	92,1	g

Sedangkan, asam lemak yang terkandung dalam 100 gram minyak kelapa murni antara lain:

1. *Medium chain fatty acids* (MCFA), terdiri dari:

Asam kaprilat	:	8	g
Asam kaprat	:	10	g
Asam laurat	:	48	g
Asam miristat	:	17	g

2. *Long chain fatty acids* (LCFA), terdiri dari:

Asam palmitat	:	9	g
Asam stearat	:	2	g
<i>Polyunsaturated:</i>		2,1	g

### 2.4.3 Manfaat Minyak Kelapa Murni

Riset dan uji klinis telah membuktikan kemampuan dan khasiat minyak kelapa murni untuk menyembuhkan berbagai penyakit. Menurut Price (2004), manfaat minyak kelapa murni adalah sebagai berikut:

1. Mengurangi risiko *atherosclerosis* (pengerasan pembuluh darah), sakit jantung, *stroke* dan tekanan darah tinggi.
2. Mengurangi risiko terserang penyakit kanker, tumor dan gangguan degeneratif lainnya.
3. Memperbaiki sekresi insulin dan pendayagunaan glukosa darah, sehingga membantu mengendalikan penyakit diabetes.
4. Membantu mencegah, melumpuhkan dan mematikan infeksi parasit dan jamur.
5. Membantu mencegah *osteoporosis* (keropos tulang).
6. Menghambat dan menghentikan oksidasi penyebab kerusakan sel dan jaringan yang diakibatkan oleh serangan radikal bebas.
7. Memperbaiki sistem pencernaan dan penyerapan nutrisi, vitamin-vitamin serta asam amino yang larut dalam lemak.
8. Membantu mencegah penyakit periodontal dan kerusakan gigi.
9. Mendukung fungsi sistem kekebalan tubuh dan mengurangi peradangan kronis.
10. Membunuh bakteri penyebab *pneumonia*, sakit telinga, infeksi tenggorokan, gigi berlubang, keracunan makanan, infeksi saluran kemih, *meningitis*, *gonorrhoea*, luka gangren.



11. Mengurangi gejala psoriasis, eksim dan dermatitis. Mempunyai rasa enak dan lembut pada kulit serta membantu menjaga agar kulit tetap lembut dan halus.
12. Mendukung penyembuhan dan perbaikan jaringan tubuh.

Minyak kelapa murni dapat digunakan untuk mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu, kandungan asam laurat yang tinggi memberikan daya antibakteri dan antimikroba sehingga sangat berperan dalam mencegah infeksi (Gani, 2005). Minyak kelapa murni yang sebagian besar terdiri dari *medium chain fatty acids* (MCFA) mempunyai sifat yang unik karena dapat dengan mudah menembus membran mitokondria tanpa membutuhkan enzim dan memasok sumber energi secara cepat dan efisien kepada sel. Peningkatan metabolisme ini menyebabkan sel-sel berfungsi pada angka efisiensi yang lebih tinggi sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka, dan regenerasi sel (Syah, 2005).

#### 2.4.4 Minyak Kelapa Murni sebagai Antioksidan

Minyak kelapa murni dapat berperan sebagai suplemen antioksidan untuk memberikan perlindungan yang signifikan terhadap serangan radikal bebas. Tidak seperti minyak nabati lain, minyak kelapa murni secara kimiawi sangat stabil dan tidak mudah mengalami oksidasi. Minyak kelapa murni sangat resisten terhadap serangan radikal bebas sehingga dapat bekerja sebagai antioksidan, membantu mencegah oksidasi pada minyak jenis lain. Dengan demikian, minyak kelapa

murni dapat mencegah kerusakan tubuh lebih lanjut dan dapat meningkatkan penyembuhan (Fife, 2005).

#### 2.4.5 Efek Samping Minyak Kelapa Murni

Minyak kelapa murni dapat menyebabkan gangguan saluran pencernaan, seperti diare. Selain itu, minyak kelapa murni juga dapat menyebabkan reaksi alergi (NEDA Knowledge Emporium, 2006).

### 2.5 Uji Sitotoksisitas dengan Esei MTT

#### 2.5.1 Pengertian Uji Sitotoksisitas

Uji sitotoksisitas adalah bagian dari evaluasi bahan yang diperlukan untuk prosedur skrining standar. Uji sitotoksisitas bertujuan untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel. Salah satu metode untuk menilai sitotoksisitas suatu bahan adalah esei MTT (Siregar, 2000).

#### 2.5.2 Esei MTT

Esei MTT adalah suatu esei pada mikroplat yang tidak memerlukan transfer sel. Uji ini dapat digunakan untuk mengukur jumlah sel sehingga dapat digunakan untuk uji proliferasi dan sitotoksisitas (Siregar, 2000).

Esei MTT didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT yang berwarna ungu dan larut menjadi endapan formazan yang berwarna ungu dan tidak larut. Prinsip esei ini adalah pemecahan cincin tetrazolium MTT (*3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide*) oleh

dehidrogenase pada mitokondria yang aktif (Soenartyo, 2003). Namun, Siregar (2000) membuktikan bahwa reduksi garam MTT ini terutama melibatkan enzim retikulum endoplasma yang bergantung pada NADH, sedangkan enzim mitokondria hanya berperan dalam porsi yang kecil. Produk formazan ini kemudian dilarutkan dalam pelarut dan diukur intensitas warnanya dengan spektrofotometer. Untuk mengukur intensitas warna digunakan pembaca mikroplat 96-sumur yang biasa digunakan untuk ELISA. Jumlah formazan yang dihasilkan akan berbanding secara proporsional dengan jumlah sel-sel yang tetap bertahan hidup. Makin pekat warna yang dihasilkan, makin tinggi nilai absorbansi sel, dan ini berarti makin banyak jumlah sel yang mampu bertahan hidup.

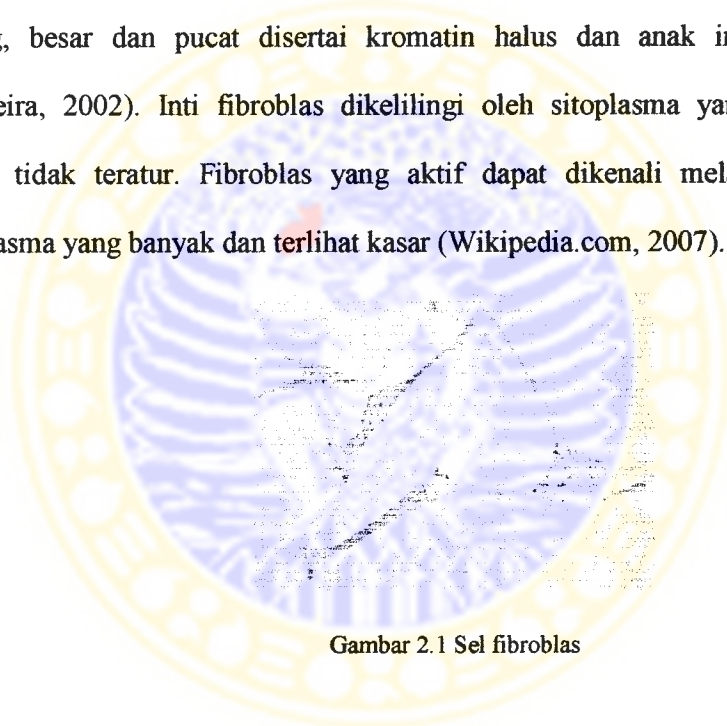
Esei MTT dilakukan dengan menggunakan mikroplat 96-sumur sehingga dapat diukur jumlah sampel pada saat yang sama dan menghemat waktu, tenaga serta dana. Keuntungan lain adalah metode ini dapat dibuat semiotomatis, valid, tidak menggunakan isotop radioaktif dan tidak memerlukan transfer sel. Kelemahan esei MTT antara lain nilai absorbansi absolut yang dihasilkan tidak sama pada berbagai galur sel sehingga harus dilakukan uji pendahuluan dan perbandingan dengan uji sitotoksitas lain (Siregar, 2000).

## 2.6 Sel Fibroblas

Fibroblas adalah sel yang mensintesa dan memelihara matriks ekstraseluler dari sekian banyaknya jaringan yang menyusun tubuh manusia maupun hewan. Fibroblas menyediakan suatu kerangka struktural (*stroma*) untuk banyak jaringan dan mempunyai peran penting dalam penyembuhan luka serta

merupakan sel pembentuk jaringan ikat yang utama. Fungsi sel fibroblas adalah untuk memelihara integritas struktural jaringan ikat dengan mensekresikan prekursor matriks ekstraseluler secara kontinu (Wikipedia.com, 2007).

Sel fibroblas mempunyai dua tahap aktivitas, yaitu aktif dan diam. Untuk menyebut sel yang aktif digunakan istilah fibroblas dan untuk sel yang diam digunakan istilah fibrosit (Junqueira, 2002). Fibroblas aktif berukuran besar, agak pipih dan berbentuk bulat panjang atau ovoid (Spector, 1993) dengan inti yang lonjong, besar dan pucat disertai kromatin halus dan anak inti yang jelas (Junqueira, 2002). Inti fibroblas dikelilingi oleh sitoplasma yang bercabang-cabang tidak teratur. Fibroblas yang aktif dapat dikenali melalui retikulum endoplasma yang banyak dan terlihat kasar (Wikipedia.com, 2007).



Gambar 2.1 Sel fibroblas

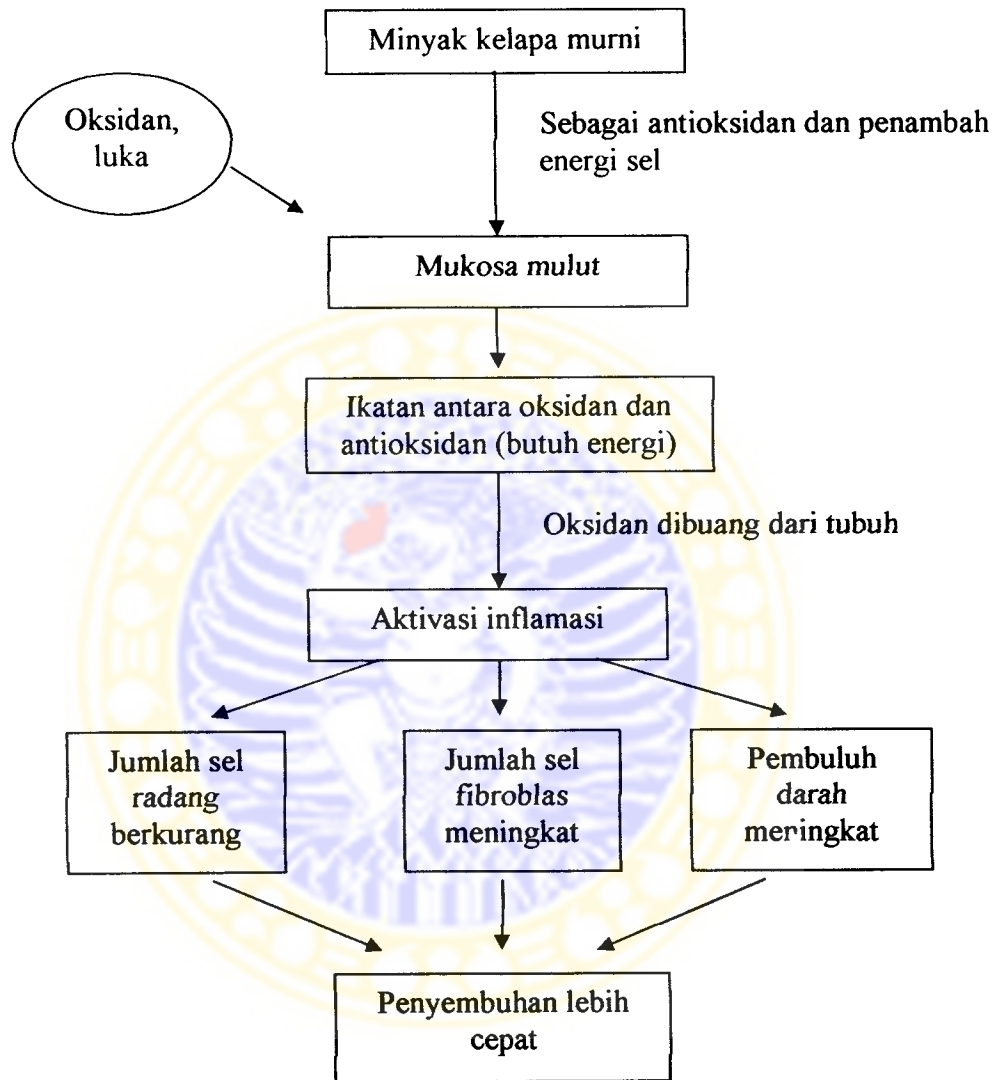
Fibrosit adalah sel yang lebih kecil daripada fibroblas dan berbentuk *spindle*. Inti fibrosit lebih panjang, lebih gelap dan lebih kecil dibandingkan dengan inti fibroblas. Sitoplasma fibrosit bersifat asidofil serta mengandung retikulum endoplasma yang lebih sedikit dibandingkan dengan fibroblas (Junqueira, 2002).

Fibroblas akan menghasilkan kolagen, *glycosaminoglycans*, serat-serat retikuler dan elastik serta glikoprotein yang ditemukan pada matriks ekstraseluler. Kerusakan pada jaringan akan merangsang fibrosit dan menyebabkan mitosis fibroblas (Wikipedia.com, 2007).

Sel fibroblas dipilih sebagai unit analisis karena sel fibroblas merupakan sel terpenting dan komponen terbesar dari pulpa, ligamen periodontal, gingiva dan berbagai organ penting lainnya dalam tubuh manusia, selain itu sel fibroblas merupakan sel yang mudah didapat (Grossman, 1995). Sebelum digunakan, sel fibroblas dikultur dalam bentuk *cell lines*, yang mempunyai keuntungan yaitu pasase dapat dilakukan lebih dari 50-70 kali, kecepatan pertumbuhan sel tinggi, integritas sel tetap terjaga dan sel mampu bermultiplikasi dalam suspensi. *Cell lines* telah banyak digunakan untuk menguji toksisitas bahan-bahan di bidang kedokteran gigi, antara lain sel BHK-21 (*Baby Hamster Kidney*) yang berasal dari fibroblas ginjal *hamster* (Soenartyo, 2003).

## BAB 3

### KERANGKA KONSEPTUAL



Apabila mukosa mulut terkena oksidan atau luka, maka dibutuhkan suatu antioksidan. Antioksidan akan mengikat oksidan penyebab kerusakan sehingga oksidan dapat dikeluarkan dari tubuh. Ikatan antara oksidan dan antioksidan membutuhkan energi. Minyak kelapa murni sebagai salah satu bahan penambah energi sel dapat mempercepat pembentukan ikatan oksidan dan antioksidan

sehingga terjadilah aktivasi inflamasi yang ditandai dengan penurunan jumlah sel radang dan peningkatan jumlah sel fibroblas serta pembuluh darah. Penyembuhan merupakan proses atau cara untuk memperbaiki jaringan yang rusak dan perbaikan terhadap fungsi dan struktur jaringan yang terkena jejas (Sudiono, 1995). Penyembuhan luka adalah pergantian sel mati oleh sel hidup yang terjadi melalui regenerasi dan organisasi (Lawler *et al*, 1992).

Menurut para ahli, proses penyembuhan luka dapat berlangsung lebih cepat dengan penggunaan minyak kelapa murni . Penggunaan minyak kelapa murni yang dianjurkan dalam hal ini yaitu dengan konsumsi secara per oral atau jika luka dapat dijangkau, maka minyak kelapa murni dapat langsung dioleskan secara topikal (Fife, 2005).

## BAB 4

### METODOLOGI PENELITIAN

#### 4.1 Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratoris dengan rancangan *post test only control group design*.

#### 4.2 Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian dilakukan di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya pada bulan Juni 2007.

#### 4.3 Obyek Sampel dan Jumlah Sampel Penelitian

Populasi dalam penelitian ini adalah kultur sel fibroblas.

Untuk sampel setiap perlakuan akan dipilih secara random dengan besar sampel yang telah ditentukan menurut rumus (Lemeshow, 1990):

$$n = \frac{2\delta^2 (Z_{1/2\alpha} + Z_{\beta})^2}{(\mu_1 - \mu_2)^2}$$

$$n = \frac{2(0,069)^2 [1,96 + 0,85]^2}{(0,15 - 0,05)^2}$$

$$n = 7,519$$

Keterangan :

n = jumlah sampel



$\delta$  = standar deviasi

$Z_{1/2\alpha}$  = harga standard normal pada  $\alpha = 0.05$

$Z_B$  = *power test*

$\mu_1 - \mu_2$  = beda rata-rata masing-masing kelompok

#### 4.4 Variabel Penelitian

##### 4.4.1 Variabel bebas

- Volume larutan minyak kelapa murni.

##### 4.4.2 Variabel tergantung

- Jumlah sel yang bertahan hidup.

##### 4.4.3 Variabel terkendali

- Media kultur, kepadatan kultur sel, pereaksi MTT, waktu, suhu pada inkubator.

##### 4.4.4 Unit analisis

- Sel fibroblas.

#### 4.5 Definisi Operasional

- Uji sitotoksitas dengan esei MTT

Yang dimaksud dengan uji sitotoksitas menggunakan esei MTT adalah pengujian yang dilakukan untuk mengetahui efek toksik suatu bahan secara langsung terhadap kultur sel dengan menggunakan suatu esei pada mikroplat yang tidak memerlukan transfer sel (MTT) dan didasarkan pada kemampuan sel hidup

untuk mereduksi garam MTT menjadi formazan yang berwarna biru keunguan, yang setelah dilarutkan dalam pelarut dan intensitas warnanya diukur dengan menggunakan spektrofotometer, akan diperoleh hasil yang berbanding secara proporsional dengan jumlah sel yang bertahan hidup. Yang dimaksud dengan sitotoksitas adalah derajat destruktif suatu agen terhadap sel-sel tertentu.

- Minyak kelapa murni

Yang dimaksud dengan minyak kelapa murni adalah minyak nabati yang dibuat dari buah kelapa (*Cocos nucifera L*), yang telah diproses sehingga didapatkan minyak dengan kandungan kelapa yang murni. Minyak kelapa murni yang digunakan oleh peneliti adalah minyak kelapa murni yang sudah siap pakai tetapi belum dijual bebas di pasaran dengan merk *Healthy Co*.

- Sel fibroblas

Yang dimaksud dengan sel fibroblas adalah kultur sel dalam bentuk *cell-lines* yang berasal dari fibroblas ginjal bayi *hamster* (BHK-21).

## 4.6 Alat dan Bahan

### 4.6.1 Alat yang Digunakan

1. *Microplate* dengan 96 *well* (sumuran)
2. Inkubator
3. Pipet
4. Spektrofotometer
5. Gelas ukur steril
6. Mikropipet multichannel

7. Tip kuning (*yellow tips*)
8. Pembaca mikroplat (*microplate reader*)
9. Botol *Roux*

#### 4.6.2 Bahan yang Dipakai

1. Minyak kelapa murni merk *Healthy Co*
2. Akuades steril/saline
3. *Cell lines* BHK-21
4. Media kultur *Rosewell Park Memorial Institute-1640* (RPMI-1640) 89%
5. Penstrep 1%
6. Larutan *trypsin versene*
7. *Foetal Bovine Serum* (FBS) 10%
8. *Fungizone* 100 unit/ml
9. *Phosphate Buffer Saline* (PBS)
10. Reagen MTT (Sigma)
11. Pelarut dimetil-sulfoksid (DMSO)

#### 4.7 Prosedur Penelitian

##### 4.7.1 Persiapan Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan di dalam penelitian ini (gelas ukur, pipet, *microplate*, mikropipet multichannel, tip) disterilkan dalam *autoclave*. Sterilisasi dalam *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit.

MTT dilarutkan dalam PBS dengan konsentrasi 5mg/ml kemudian disteril dengan filter 0,22  $\mu\text{m}$ . Selanjutnya disimpan dalam  $-20^{\circ}\text{C}$  sampai waktu akan digunakan.

#### 4.7.2 Persiapan Kultur Sel BHK-21

Sebelum dilakukan uji sitotoksitas, dipersiapkan kultur sel BHK-21 sebagai berikut: kultur sel BHK-21 dalam bentuk *cell-line* ditanam dalam botol *Roux*. Setelah konfluen, kultur dipanen dengan menggunakan larutan *trypsine versene*. Hasil panen ditanam dalam media *Rosewall Park Memorial Institute 1640* yang mengandung 10% fetal bovine serum albumin, diinkubasi selama 24 jam suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , kemudian sel dipindahkan dalam botol kecil (*Roux*) dan dibuat dengan kepadatan  $2 \times 10^5$  sel/ml. Sel dikultur ke dalam setiap sumur mikroplat 96-sumur sampai konfluen. Setiap sumuran berisi sel dan media RPMI dengan kepadatan  $2 \times 10^5$  sel/ml sebanyak 50  $\mu\text{l}$ .

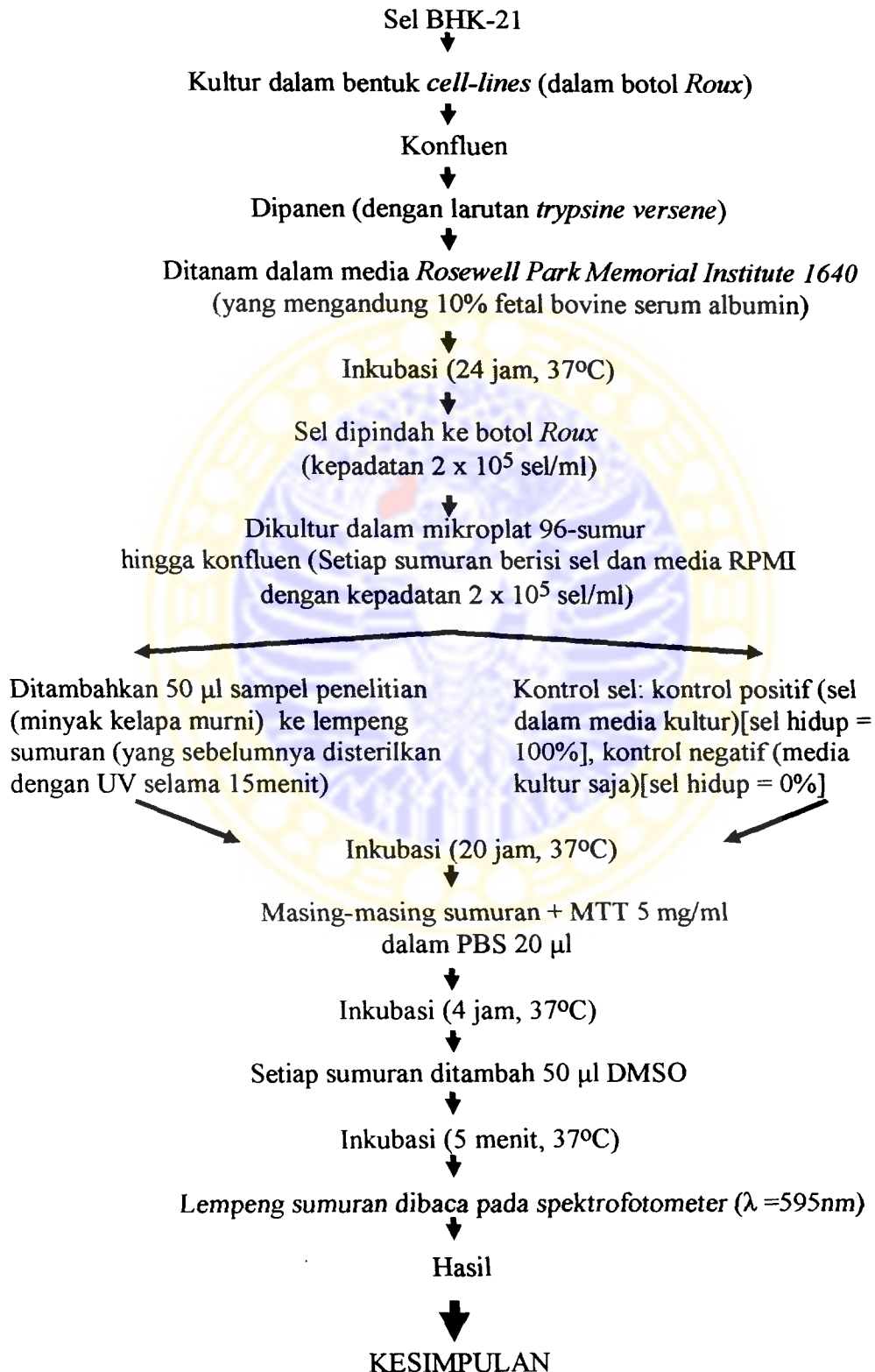
#### 4.7.3 Uji Sitotoksitas dengan Esei MTT

Sampel penelitian (minyak kelapa murni) sebelum diuji, disterilkan dahulu dengan UV selama 15 menit, kemudian dimasukkan ke dalam sumuran masing-masing sebanyak 50  $\mu\text{l}$  dan diinkubasi selama 20 jam pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ . Disiapkan pula kontrol sel sebagai kontrol positif berisi sel dalam media kultur, dianggap persentase sel hidup 100% dan kontrol media sebagai kontrol negatif berisi media kultur saja, dianggap persentase sel hidup 0%. Setelah itu setiap sumuran ditambahkan pereaksi MTT 5 mg/ml dalam PBS sebanyak 20  $\mu\text{l}$ , diinkubasi

kembali selama 4 jam pada suhu 37°C, kemudian ditambahkan 50 µl DMSO pada setiap sumuran. Lempeng sumuran diinkubasi kembali selama 5 menit pada suhu 37°C. Kemudian lempeng sumuran dibaca pada spektrofotometer dengan panjang gelombang 595 nm. Hasil yang diperoleh dinyatakan dalam optikal densitas/absorben. Besar absorben setiap sumuran menunjukkan jumlah sel hidup dalam kultur media.



#### 4.8 Alur Penelitian



#### 4.9 Pengolahan dan Analisis Data

Data yang sudah dikumpulkan dilakukan penghitungan persentase.

Untuk mengetahui persentase jumlah sel hidup dilakukan dengan memakai rumus:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{\text{perlakuan} + \text{media}}{\text{sel} + \text{media}} \times 100 \%$$

Keterangan:

% sel hidup = persentase jumlah sel hidup setelah pengujian

perlakuan = nilai densitas optik formazan pada setiap sampel setelah pengujian

media = nilai densitas optik formazan pada kontrol media

sel = nilai densitas optik formazan pada kontrol

Rencana analisis data disajikan dalam bentuk tabel dan dideskripsikan untuk mendapatkan gambaran hasil penelitian. Kemudian akan dilakukan uji *one-way ANOVA* untuk melihat perbedaan yang ada pada kelompok-kelompok data tersebut.

## BAB 5

### HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

Penelitian yang dilakukan di Pusat Veterinaria Farma (PUSVETMA) Surabaya pada bulan Juni 2007 selama tiga hari menguji mengenai sitotoksitas minyak kelapa murni dengan menggunakan esei MTT terhadap sel fibroblas (*cell lines* BHK-21). Minyak kelapa murni yang digunakan dalam penelitian ini adalah minyak kelapa murni yang sudah tersedia dan tidak diolah lagi oleh peneliti. Merk yang digunakan adalah *Healthy Co* dan minyak kelapa murni ini belum dijual di pasaran secara bebas.

Peneliti hanya menggunakan satu konsentrasi saja dalam penelitian ini, yaitu minyak kelapa murni 100%, tanpa pengenceran. Setelah eksperimen selesai dilakukan, kemudian dilanjutkan dengan penghitungan jumlah sel fibroblas terhadap kelompok kontrol, yaitu kelompok yang tidak mendapat perlakuan dan kelompok perlakuan yang mendapat aplikasi minyak kelapa murni 100% sehingga didapatkan hasil sebagai berikut:

Tabel 5.1 Distribusi rata-rata dan standar deviasi sel hidup yang terbaca dengan spektrofotometer

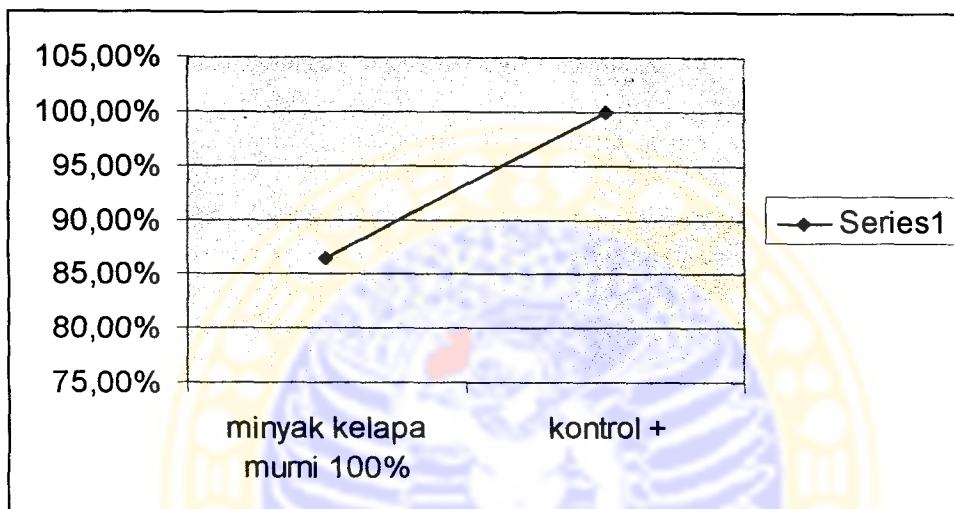
SEL

	Sediaan	Rata-rata	Standar Deviasi
Minyak kelapa murni 100%	16	0,12600	0,068752
Kontrol +	16	0,15312	0,069201
Kontrol -	16	0,04825	0,001612



Tabel 5.2 Distribusi jumlah sel hidup (%)

% SEL HIDUP	
	% sel hidup
Minyak kelapa murni 100 %	86,532254
Kontrol +	100,000000



Gambar 5.1 Tingkat perbedaan persentase kematian sel fibroblas kelompok kontrol dan perlakuan

Pada tabel 5.2 terlihat bahwa kelompok kontrol mempunyai rata-rata persentase sel fibroblas hidup sebesar 100%, sedangkan pada kelompok perlakuan dengan minyak kelapa murni 100% mempunyai rata-rata persentase sel fibroblas hidup sebesar 86,532254%.

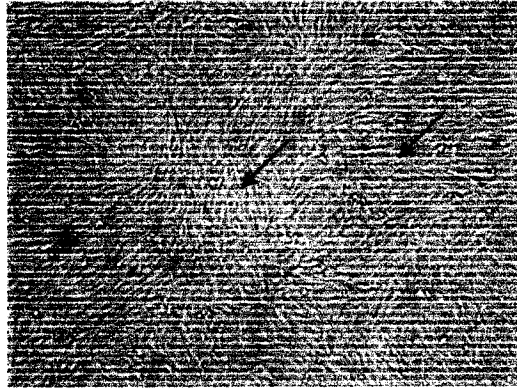
Dari hasil perhitungan persentase kematian sel fibroblas tersebut, dapat terlihat bahwa kelompok perlakuan yang mendapat aplikasi minyak kelapa murni mempunyai persentase kematian sel fibroblas lebih besar dibandingkan dengan kelompok kontrol yang hanya berisikan sel fibroblas saja tanpa mendapatkan perlakuan. Hasil pengujian toksisitas minyak kelapa murni menunjukkan rata-rata persentase sel fibroblas yang mengalami kematian sekitar 13,5%.

Tabel 5.3 Uji *One-way* ANOVA

Sumber variasi	Jumlah kuadrat	Derajat bebas	Rerata kuadrat	Jumlah hitung	Probabilitas
Antar kelompok	0,095	2	0,047	14,944	0,0001
Dalam kelompok	0,143	45	0,003		

Hasil pada tabel di atas, yang merupakan uji *one-way* ANOVA, menunjukkan bahwa tidak terdapat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan dan kelompok kontrol.

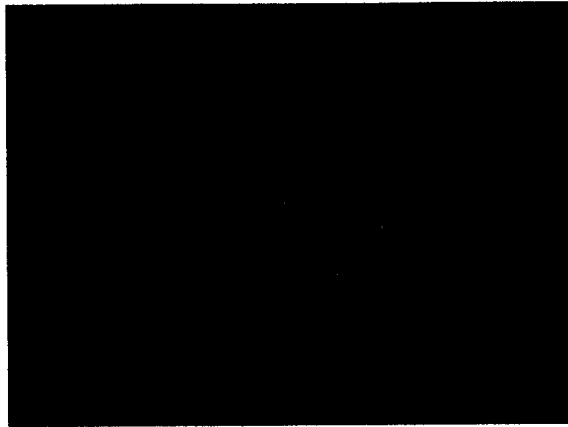
Di bawah ini adalah gambaran sel fibroblas yang telah diberi *trypsin* *versene* sehingga sel fibroblas tidak tampak menggerombol lagi (gambar 5.2). Pengambilan gambar dilakukan melalui mikroskop cahaya dengan menggunakan bantuan hemositometer sehingga penghitungan sel menjadi lebih akurat. Terlihat pula gambaran sel fibroblas setelah diberikan perlakuan menggunakan minyak kelapa murni (gambar 5.3) beserta kontrol positif (gambar 5.4), yaitu sel dalam media kultur (jumlah sel hidup 100%) dan kontrol negatif (gambar 5.5), yaitu media kultur saja (jumlah sel hidup 0%).



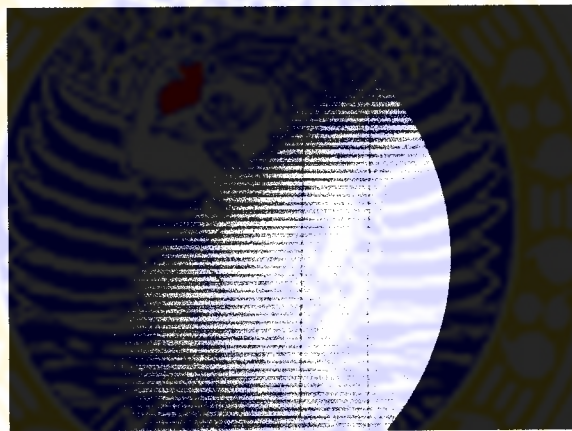
Gambar 5.2 Keadaan normal sel fibroblas (perbesaran 100x)



Gambar 5.3 Keadaan sel fibroblas setelah diberi minyak kelapa murni



Gambar 5.4 Kontrol positif (sel dalam media kultur)



Gambar 5.5 Kontrol negatif (media kultur saja)

## BAB 6

### PEMBAHASAN

Minyak kelapa murni dapat digunakan sebagai salah satu bahan antioksidan dan dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Selain itu, kandungan asam laurat yang tinggi dalam minyak kelapa murni mempunyai daya antibakteri dan antimikroba yang dapat mencegah terjadinya infeksi (Price, 2004).

Fibroblas merupakan salah satu komponen terbesar yang menyusun jaringan pulpa, gingiva dan jaringan ikat periodontal. Fibroblas mengawali produksi subunit kolagen yang disebut sebagai prokolagen. Prokolagen ini nantinya akan ditranspor keluar dari sel fibroblas dan kemudian bergabung membentuk molekul kolagen yang utuh (Koka, 1997).

Pembentukan kolagen terjadi secara berkesinambungan selama hidup untuk memperbaiki dan mengganti jaringan kolagen yang rusak atau untuk membentuk struktur selular yang baru. Degradasi dan pembuangan kolagen yang sudah tua atau rusak merupakan proses alami yang terjadi untuk membentuk fragmen-fragmen protein yang diperlukan dalam pembentukan struktur selular baru, antara lain pada proses penyembuhan (Sukotjo, 2003).

Di dalam setiap sel tubuh makhluk hidup selalu ada sebuah organ yang dinamakan mitokondria. Energi yang dibutuhkan oleh sel untuk menjalankan fungsi hidup dihasilkan oleh mitokondria. Mitokondria mempunyai dua membran yang memerlukan enzim-enzim spesial untuk mengangkut bahan gizi. Minyak

kelapa murni yang sebagian besar terdiri dari *medium chain fatty acids* (MCFA) mempunyai sifat yang unik karena dapat dengan mudah menembus membran mitokondria tanpa membutuhkan enzim dan memasok sumber energi secara cepat dan efisien kepada sel. Peningkatan metabolisme ini menyebabkan sel-sel berfungsi pada angka efisiensi yang lebih tinggi sehingga dapat mempercepat penyembuhan luka, dan regenerasi sel (Syah, 2005). Selain itu, minyak kelapa murni yang digunakan secara topikal mampu mengurangi peradangan yang terjadi karena minyak kelapa murni dapat mengurangi bahan kimia proinflamasi dalam tubuh (Fife, 2005).

Untuk meneliti sitotoksitas, digunakan kultur sel fibroblas sebagai obyek penelitian karena sel fibroblas merupakan komponen utama dan terpenting yang terdapat di pulpa, ligamen periodontal, dan gingiva (Grossman, 1995). Pada penelitian ini digunakan kultur sel fibroblas *Baby Hamster Kidney* (BHK-21) dengan alasan bahan kultur terbaik berasal dari sel-sel jaringan embrionik dan memiliki pertumbuhan yang cepat (Freshney, 1987).

MTT adalah molekul larut yang berwarna ungu yang dapat digunakan untuk menilai aktivitas enzimatis seluler, didasarkan pada kemampuan sel hidup untuk mereduksi garam MTT. Mekanismenya adalah mereduksi garam 3-(4, 5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-di-phenyl-tetrazolium bromide (MTT) yang berwarna ungu menjadi endapan formazan yang berwarna ungu dan tidak larut. Mitokondria dari sel hidup yang berperan penting dalam hal ini akan menghasilkan dehidrogenase. Bila dehidrogenase tidak aktif karena efek sitotoksik, maka

formazan tidak akan terserap oleh mitokondria, proporsional dengan aktivitas enzimatis sel yang hidup (Siregar, 2000).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, efek toksik minyak kelapa murni terhadap kultur sel tercantum pada tabel 5.2. Jumlah sel fibroblas yang sanggup bertahan hidup sebesar 86,53%. Hal ini berarti terjadi kematian sel sebesar 13,47% jika dibandingkan dengan kontrol sel positif.

Pada penelitian dengan menggunakan minyak kelapa murni, sel fibroblas yang sanggup bertahan hidup cukup besar. Hal ini terlihat dari warna pekat sel fibroblas dalam sumuran setelah ditetesi dengan MTT serta pelarutnya. Perhitungan statistik menggunakan uji *one-way* ANOVA yang dilakukan tidak menunjukkan perbedaan bermakna antara kelompok yang diberi perlakuan menggunakan minyak kelapa murni dengan kelompok kontrol.

Persentase jumlah sel hidup yang masih mendekati 100% ini berarti bahwa pemakaian minyak kelapa murni dengan konsentrasi 100% belum dapat dikatakan toksik karena masih berada di atas patokan toksisitas atau biokompatibilitas sesuai dengan pendapat Telli dkk. Telli dkk menyatakan bahwa suatu bahan dikatakan toksik apabila persentase sel hidup setelah terpapar bahan tersebut kurang dari 50%.

Menurut Timbrel (1994), intensitas kematian sel tergantung pada kadar bahan yang berkontak dengan sel, jaringan, maupun organ sasaran, sedangkan suatu rangsangan dapat merusak sel organ sasaran melalui berbagai cara sehingga terjadi jejas yang dapat bersifat reversibel maupun irreversibel. Apabila sel yang terkena paparan sudah mencapai *point of no return* maka terjadilah kematian sel.

## BAB 7

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 7.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian eksperimental laboratoris ini adalah sebagai berikut :

Uji sitotoksitas menggunakan esei MTT menunjukkan bahwa minyak kelapa murni tidak toksik terhadap sel fibroblas.

#### 7.2 Saran

1. Karena penggunaan minyak kelapa murni di bidang kedokteran gigi masih terbatas, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai manfaat minyak kelapa murni terhadap jaringan rongga mulut yang lain.
2. Karena minyak kelapa murni dapat digunakan untuk mempercepat proses penyembuhan, maka dapat dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kegunaan minyak kelapa murni sebagai salah satu bahan yang dapat mempercepat proses penyembuhan di bidang kedokteran gigi
3. Karena penelitian mengenai sitotoksitas minyak kelapa murni ini baru dilakukan secara *in vitro*, maka dibutuhkan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* agar dapat diketahui dosis konsumsi yang aman terhadap jaringan dan organ.



## DAFTAR PUSTAKA

- Alberts B, *et. al.* 1994. **Moleculer Biology of The Cell**, 3<sup>rd</sup> Ed. New York & London: Garland Publishing Inc. P: 919-1154.
- Bergusson G, *et. al.* 2001. **In Vitro Killing of *Candida albicans* by Fatty Acids and Monoglycerides, Antimicrob. Agents and Chemotherapy.** *J Micro Biol.* Vol 45. No 11. P: 3209-12.
- Bhaskar SN. 1991. **Orban's Oral Histology and Embriology**, 11<sup>th</sup> Ed. St Louis, Missouri. P: 261-282.
- Brauer JC, *et.al.* 1964. **Dentistry for Children**, 5<sup>th</sup> Ed. Toronto: Mc Grow Hill Book Company.
- Cermin Kedokteran Gigi. 1996. Vol 113.
- Erasmus U. 1986. **Fats & Oils: the Complete Guide to Fats & Oils in Health and Nutrition.** Vancouver, Canada: Alive Books.
- Enig MG. 1999. **Coconut: In Support of Good Health in 21<sup>st</sup> Century.** 36<sup>th</sup> Meeting of APCC.
- Fife B. 2005. **Coconut Oil Miracle.** Alih bahasa: Annisa R. Jakarta: PT Bhuana Ilmu Populer.
- Freshney RI. 1987. **Culture of Animals Cells: A Manual of Basic Technique.** 2<sup>nd</sup> ed. New York: Alan R. Liss Inc. P: 7-12.
- Gani Z, Harlinawati Y, Dede. 2005. **Bebas Segala Penyakit dengan VCO.** Jakarta: Puspa Swara. Hlm: 33-34.
- Grossman LI, Oliet S, dan Del Rio CE. 1995. **Ilmu Endodontik dalam Praktek edisi ke-11.** Alih bahasa: Abyono R. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm: 47-48,59,205-211.
- Haas EM. 2004. **Vitamin A-Betacarotene.Staying Health with Nutrition: The Complete Guide to Diet and Nutritional Medicine.**
- Junqueira C, Carneiro J, Kelly R. 2002. **Histologi Dasar.** Alih bahasa: Jan Tambayong. Jakarta: EGC. Hlm: 106-107.
- Kabara JJ. 2002. **Health Oils from The Tree of Life (Nutritional and Health Aspects of Coconut Oil).** Michigan, USA: Michigan State University.

- Koka S, Reinhardt RA. 1997. **Periodontal Pathogen-related Stimulation Indicates Unique Phenotype Of Primary Cultured Human Fibroblasts from Gingival and Periodontal Ligament: Implications for Oral Health Disease.** *J Prosthet Dent.* Vol 77. No 2. P: 191-6.
- Kumar Vinay *et al.* 1999. **Robbins Pathologic Basic of Disease, 6<sup>th</sup> Ed.** Toronto: WB Saunders Company. P: 98-9,102-11.
- Lawler *et al.* 1992. **Buku Pintar PATologi untuk Kedokteran Gigi.** Alih bahasa: Jan Tambayong, dkk. Jakarta: EGC. Hlm: 106-10.
- Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia. 2006. **Manfaat VCO (virgin Coconut Oil).** Jakarta: LIPI.
- Lemeshow S, Hosmer Jr D W, Klar J, Lwanga SK. 1990. **Adequacy of Sample Size in Health Studies.** Toronto: World Health Organization pub. John Wiley and Sons. P: 9-11.
- Lesson CR, Lesson TS, Paparo AA. 1995. **Buku Ajar Histologi, Ed. 5.** Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- McMohan, Sloan. 2000. **Essentials of Pathology for Dentistry.** China: Harcourt Publishers. P: 29-33.
- NEDA Knowledge Emporium. 2006. **Facts and Prospects of the Virgin Coconut Oil.** Philippines.
- Price M. 2004. **Terapi Minyak Kelapa.** Alih bahasa: Bahrul U. Jakarta: Prestasi Pustaka Publisher.
- Rindengan B, Novarianto H. 2005. **Pembuatan dan Pemanfaatan Minyak Kelapa Murni.** Jakarta: Penebar Swadaya.
- Robbins SL dan Kumar VK. 1995. **Buku Ajar Patologi I.** Alih bahasa: Staf Pengajar Laboratorium Patologi Anatomi FK Unair. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm: 1-25.
- Setiaji B, Prayugo S. 2006. **Membuat VCO Berkualitas Tinggi.** Jakarta: Penebar Swadaya.
- Siregar F, Hadijono BS. 2000. **Uji Sitotoksisitas dengan esei MTT.** *Jurnal Kedokteran Gigi Universitas Indonesia.* Vol 7 (Edisi Khusus). Hlm: 28-32.
- Soenartyo H, Rianti D. 2003. **Uji Sitotoksisitas Ekstrak Coleus ambonicus, Lour menggunakan esei MTT.** *Maj. Ked. Gigi. (Dent. J.).* Vol 36. No 2. April 2003. Hlm: 54-57.

- Spector TD. 1993. **Pengantar Patologi Umum, Ed. 3**. Alih bahasa: Sutjipto *et al*. Gajah Mada University Press. Hlm: 137, 198-202.
- Sudiono J. 1995. **Ilmu Patologi**. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC. Hlm: 112-6.
- Sukotjo C, Lin A, Song K, Ogawa T, Wu B, Nishimura I. 2003. **Oral Fibroblast Expression of wound-inducible transcript 3.0 (wit3.0) Accelerates the Collagen Gel Contraction in Vitro**. *J. Biol. Chem.* Vol 278. No 51. P: 51527-51534.
- Sukartini KJ, Sitanggang M. 2005. **Gempur Penyakit dengan VCO**. Jakarta: Agro Media Pustaka.
- Sutarmi, Rozaline H. 2005. **Taklukkan Penyakit dengan VCO**. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Syah ANA. 2005. **Perpaduan Sang Penakluk Penyakit VCO+Minyak Buah Merah**. Jakarta: Agromedia Pustaka. Hlm: 34.
- Syah ANA. 2005. **Virgin Coconut Oil Minyak Penakluk Aneka Penyakit**. . Jakarta: Agromedia Pustaka. Hlm: 57-60.
- Telli C, Serper A, Doagan AL, Guc D. 1999. **Evaluation of the Cytotoxicity of Calcium Phosphate Root Canal Sealers by MTT Assay**. *J Endodon.* Vol 25. P: 811.
- Timbrell JA. 1994. **Principles of Biochemical Toxicology, 2<sup>nd</sup> Ed**. London : Taylor & Francis Ltd. P: 216-227.
- Youngson R. 1994. **The Antioxidant Health Plan**. London: Harper Collins Publishers. P: 81-93.
- <http://www.coconut-info.com>  
Diakses tanggal 2 Agustus 2006
- [www.coconutoil-online.com](http://www.coconutoil-online.com)  
Diakses tanggal 5 Agustus 2006
- [www.mercola.com](http://www.mercola.com)  
Diakses tanggal 5 Agustus 2006
- <http://www.nuskin.com/corp/science/skinscience/collagen.shtml>  
Diakses tanggal 14 Juni 2007
- <http://www.answers.com/topic/fibroblast>  
Diakses tanggal 27 Juni 2007

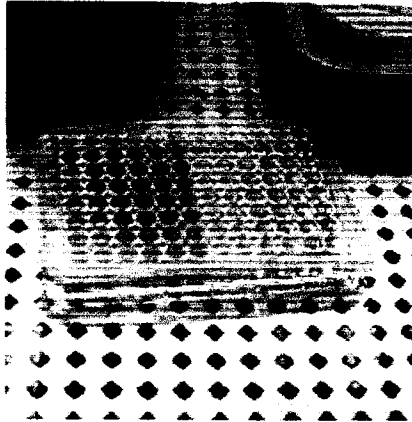
## LAMPIRAN



Minyak kelapa murni merk *Healthy Co* yang digunakan dalam penelitian



Kultur sel fibroblas dalam botol *Roux* sebelum penelitian dilakukan



Mikroplat 96-sumur setelah diisi dengan sel dan diberi perlakuan (tanpa MTT)



Mikroplat 96-sumur di atas *shaker* setelah ditambahkan MTT dan pelarut DMSO

	sel	tritmen
1	.086	1
2	.130	1
3	.094	1
4	.075	1
5	.087	1
6	.084	1
7	.290	1
8	.167	1
9	.220	1
10	.075	1
11	.246	1
12	.097	1
13	.066	1
14	.090	1
15	.079	1
16	.130	1
17	.132	2
18	.101	2
19	.351	2
20	.172	2
21	.163	2
22	.078	2
23	.140	2
24	.214	2
25	.249	2
26	.093	2
27	.154	2
28	.098	2
29	.135	2
30	.102	2
31	.131	2
32	.137	2
33	.108	3
34	.151	3
35	.094	3
36	.181	3
37	.098	3
38	.365	3
39	.177	3

	sel	tritmen
40	.177	3
41	.185	3
42	.069	3
43	.203	3
44	.178	3
45	.215	3
46	.215	3
47	.208	3
48	.226	3



## NPar Tests

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah sel
N		16
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.12600
	Std. Deviation	.068752
Most Extreme Differences	Absolite	.288
	Positive	.288
	Negative	-.191
Kolmogorov-Smirnov Z		1.154
Asymp. Sig. (2-tailed)		.140

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## NPar Tests

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah sel
N		16
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.15313
	Std. Deviation	.069201
Most Extreme Differences	Absolute	.205
	Positive	.205
	Negative	-.139
Kolmogorov-Smirnov Z		.820
Asymp. Sig. (2-tailed)		.512

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

## NPar Tests

### One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		jumlah sel
N		16
Normal Parameters <sup>a,b</sup>	Mean	.04825
	Std. Deviation	.001612
Most Extreme Differences	Absolute	.249
	Positive	.249
	Negative	-.157
Kolmogorov-Smirnov Z		.996
Asymp. Sig. (2-tailed)		.274

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.



## Oneway

### Descriptives

jumlah sel

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean	
					Lower Bound	Upper Bound
vco	16	.12600	.068752	.017188	.08936	.16264
kontrol +	16	.15312	.069201	.017300	.11625	.19000
kontrol -	16	.04825	.001612	.000403	.04739	.04911
Total	48	.10912	.071100	.010262	.08848	.12977

### Descriptives

jumlah sel

	Minimum	Maximum
vco	.066	.290
kontrol +	.078	.351
kontrol -	.046	.052
Total	.046	.351

### ANOVA

jumlah sel

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.095	2	.047	14.944	.000
Within Groups	.143	45	.003		
Total	.238	47			

## Post Hoc Tests

### Multiple Comparisons

Dependent Variable: jumlah sel

Tukey HSD

(I) vco	(J) vco	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
					Lower Bound	Upper Bound
vco	kontrol +	-.02712	.019915	.369	-.07539	.02114
	kontrol -	.07775*	.019915	.001	.02948	.12602
kontrol +	vco	.02712	.019915	.369	-.02114	.07539
	kontrol -	.10487*	.019915	.000	.05661	.15314
kontrol -	vco	-.07775*	.019915	.001	-.12602	-.02948
	kontrol +	-.10487*	.019915	.000	-.15314	-.05661

\*. The mean difference is significant at the .05 level.

### Homogeneous Subsets

jumlah sel

Tukey HSD<sup>a</sup>

vco	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
kontrol -	16	.04825	
vco	16		.12600
kontrol +	16		.15312
Sig.		1.000	.369

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 16.000.