



**UJI BANDING EFEKTIVITAS *VIRGIN COCONUT OIL*
DENGAN KETOKONAZOL 2% SECARA *IN VITRO*
TERHADAP PERTUMBUHAN *Candida albicans***

ARTIKEL KARYA TULIS ILMIAH

**Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi syarat dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran**

Oleh

**Anggadria Iqbal Yulian
G2A 003 019**

**FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
2007**

HALAMAN PENGESAHAN

Telah disetujui oleh Dosen Pembimbing, artikel penelitian Karya Tulis dari :

Nama : Anggadria Iqbal Yulian

NIM : G2A003019

Fakultas : Kedokteran

Universitas : Universitas Diponegoro Semarang

Bagian : Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro
Semarang

Judul : Uji Banding Efektivitas *Virgin Coconut Oil* dengan Ketokonazol
2% Secara *in vitro* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Pembimbing : dr. Margawati DH

Diajukan untuk memenuhi tugas dan melengkapi persyaratan dalam menempuh
Program Pendidikan Sarjana Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro.

Semarang, 30 Juli 2007

Penguji

Pembimbing

Dra. Henna Rya Sunoko, Apt, MES

NIP : 320 002 500

dr. Margawati DH

NIP : 130 354 870

Ketua Penguji

Dr. RB. Bambang Witjahyo, MKes

NIP :131 281 555

Uji Banding Efektivitas *Virgin Coconut Oil* dengan Ketokonazol 2% Secara *In Vitro* Terhadap Pertumbuhan *Candida albicans*

Anggadria Iqbal Yulian¹, Margawati DH²
ABSTRAK

Latar belakang : *Candida albicans*, fungi yang mempunyai penyebaran yang luas, merupakan agen utama penyebab infeksi kandidiasis. *Virgin coconut oil* mengandung asam laurat dan asam kaprat yang mempunyai aktivitas antimikroba terhadap *Candida albicans*. Ketokonazol menghambat enzim sitokrom P450 pada jamur sehingga sintesa ergosterol dirintangi dan terjadi kerusakan membran sel. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan adanya aktivitas antimikroba dari *virgin coconut oil* terhadap *Candida albicans* dan membandingkannya dengan aktivitas antimikroba dari ketokonazol 2%.

Metode : Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratoris . Sampel yang digunakan terdiri dari 31 biakan *Candida albicans*. Satu strain *C. albicans* merupakan strain jenis *American Type Culture Collection* (ATCC 10231), sisanya merupakan isolat klinis baru yang didapatkan dari swab serviks vagina dan telah diidentifikasi dengan tes germ tube. Aktivitas antimikroba ditentukan dengan metode difusi cakram.

Hasil : Hasil penelitian menunjukkan *virgin coconut oil* tidak dapat menghambat pertumbuhan dari *Candida albicans*.

Kesimpulan : *Virgin coconut oil* tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

Kata kunci : *Candida albicans*, *virgin coconut oil*, ketokonazol.

¹Mahasiswa Fakultas Kedokteran UNDIP Semarang

² Staf Pengajar Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UNDIP Semarang

The Effectiveness Comparison of Virgin Cocout Oil and 2% Ketoconazole In Vitro to The Growth of Candida albicans

Anggadria Iqbal Yulian¹, Margawati DH²

ABSTRACT

Background : *Candida albicans*, an extremely widespread yeast, is the major cause of candidiasis. Virgin coconut oil consist of fatty acids which were shown to have antimicrobial activity against *Candida albicans*. Ketoconazole inhibits hepatic cytochrome P450 isozymes so that ergosterol synthesis is blocked and fungal cell membrane damage is occurred. The aim of the study is to investigate the possible antimicrobial activity of virgin coconut oil against *Candida albicans* by comparing them with the antimicrobial activity of 2% ketoconazole.

Method : The study is a laboratory experimental design. The samples consist of 31 *Candida albicans* isolates. One *C.albicans* strain is obtained from the American Type Culture Collection (ATCC 10231), the others are recent clinical isolates which is isolated from cervical swab and identified by germ tube test. The antimicrobial activity is determined with the disc diffusion method.

Result : Research was resulted that virgin coconut oil can not inhibit the growth of *Candida albicans*.

Conclusion : Virgin coconut oil is not effective in inhibiting the growth of *Candida albicans* in vitro.

Keyword : *Candida albicans*, virgin coconut oil, ketoconazole

¹Undergraduate Student at Medical Faculty, Diponegoro University, Semarang

²Lecturer at Clinical Pharmacology Department, Faculty of Medicine, Diponogoro University, Semarang

PENDAHULUAN

Penyakit jamur kulit (dermatomikosis) termasuk salah satu penyakit kulit yang masih merupakan masalah kesehatan di Indonesia. Prevalensinya dapat mencapai 27,6% berdasarkan data dari berbagai rumah sakit pendidikan.¹ Salah satu jenis dermatomikosis yang sering ditemukan adalah kandidiasis, terutama kandidiasis kutis. Penyakit ini sebagian besar disebabkan oleh jamur spesies *Candida albicans*.^{2,3} Jamur ini juga sering menyerang mukosa tubuh terutama rongga mulut dan vagina.²⁻⁴

Ketokonazol merupakan salah satu agen antifungi yang sering digunakan dalam pengobatan kandidiasis. Cara kerja dari ketokonazol meliputi beberapa mekanisme, tetapi yang paling utama adalah dengan menghambat sintesis ergosterol.⁵⁻⁸ Karena absorpsinya yang cukup baik, ketokonazol dalam pengobatan kandidiasis digunakan dalam sediaan oral. Selain itu juga digunakan secara topikal. Walaupun efektif, pemakaian ketokonazol tidak dianjurkan kepada penderita gangguan hepar, karena bersifat hepatotoksik.⁶⁻⁸ Sayangnya, laporan-laporan mengenai resistensi terhadap agen antifungi yang ada terus bermunculan.⁹⁻¹¹ Hal ini memicu adanya kebutuhan untuk mencari agen-agen pengobatan yang baru dengan aktivitas antifungi yang lebih baik dan toksisitas yang lebih rendah.

Salah satu dari bahan olahan alami yang saat ini mendapatkan banyak perhatian adalah *Virgin Coconut Oil* (VCO) atau minyak VCO yang merupakan minyak kelapa yang diperoleh dari hasil pemisahan dari santan secara tradisional.¹² Dari hasil analisis kimia, sebanyak 60% dari kandungan VCO merupakan asam lemak jenuh rantai menengah (*medium chain saturated fatty acid* = MCFA).¹³ MCFA telah dilaporkan pada penelitian-penelitian sebelumnya

mempunyai efek antimikroba terhadap bakteri ¹⁴⁻¹⁶, jamur(*fungi*) ¹⁷, kapang(*yeast*), dan virus ^{18,19}, termasuk di dalamnya kemampuan yang signifikan untuk membunuh *Candida albicans*. Menurut Bergsson (2001) dan Kabara (1972) efek antifungi terhadap *Candida albicans* ditentukan oleh aktivitas dari asam laurat dan asam kaprat ^{17, 20}. Akan tetapi, efek anticandida dari VCO itu sendiri belum diketahui dan memerlukan penelitian lebih lanjut.

Dalam penelitian eksperimental ini, kami meneliti efek anticandida yang terdapat dalam VCO kemudian membandingkan efektivitasnya dengan obat yang telah terstandarisasi yaitu ketokonazol 2 %.

METODE PENELITIAN

Metode penelitian ini adalah eksperimental laboratoris. *Virgin Coconut Oil* (VCO) yang digunakan dalam penelitian ini adalah VCO produksi PT. Patria Wiyata Vico Indonesia yang sudah terdaftar pada Badan Pengawas Obat dan Makanan dengan nomor registrasi POM TR.052 652 611.

Sampel pada penelitian ini adalah 31 biakan (+) *Candida albicans* pada media *Saboraud Dextrosa Agar* yang terdiri dari 30 isolat klinis dan 1 strain standar ATCC 10231. Biakan isolat klinis diperoleh dari penderita kandidiasis vaginalis melalui swab vagina dan diidentifikasi dengan tes *germ tube*.

Pada penelitian ini, terlebih dahulu dilakukan uji pendahuluan (*pilot study*). Uji pendahuluan dilakukan dengan metode difusi cakram untuk menentukan konsentrasi minimal dari VCO yang dapat menimbulkan zona hambat pada media *Saboraud Dextrosa Agar* yang telah ditanam dengan *Candida albicans*. VCO yang akan diuji coba dibuat dalam bentuk emulsi dengan cara

mencampurkan VCO dengan tween 80 dan aquadest dengan perbandingan mulai dari 1 : 1 : 2, 1 : 1 : 4, 1 : 1 : 8, 1 : 1 : 16, dan 1 : 1 : 32. Uji pendahuluan ini dilakukan dengan replikasi sebanyak 3 kali. Dari seluruh konsentrasi VCO tersebut, tidak didapatkan adanya zona hambat. Oleh karena itu, emulsi VCO yang akan digunakan pada penelitian dibuat dengan perbandingan VCO : tween 80 : aquadest sebesar 1 : 1 : 2. Ini merupakan konsentrasi VCO tertinggi yang dapat dibuat dalam penelitian ini.

Uji banding daya hambat terhadap *Candida albicans* dilakukan dengan metode difusi cakram dan dibagi menjadi dua kelompok perlakuan, yang terdiri dari kelompok yang diberi perlakuan dengan ketokonazol dan kelompok yang diberi yang diberi perlakuan dengan VCO.

Suspensi kuman dibuat dengan mengambil hasil biakan (+) dengan ose lalu diencerkan dengan NaCl 0,9% steril dan disesuaikan dengan larutan Mc Farland 0,5. Larutan kuman diambil dengan lidi kapas steril, ditekan pada pinggiran tabung sampai tidak menetes bila diangkat. Kemudian lidi kapas disapukan secara merata pada permukaan media *Saboraud Dextrosa Agar* dan ditunggu sampai mengering. Setelah kering, cakram yang akan dicobakan diambil dengan pinset steril dan diletakkan di atas media *Saboraud Dextrosa Agar*. Kemudian dilakukan inkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C. Daya hambat didapat dengan mengukur diameter zona hambat, yaitu daerah terang yang mungkin timbul di sekitar cakram dan dinyatakan dalam milimeter (mm).

Pada kelompok perlakuan dengan ketokonazol, cakram dibuat dari kertas saring yang telah direndam dalam larutan ketokonazol 2% yang dibuat dengan

cara melarutkan 200 mg ketokonazol dalam 200 ml etanol kemudian dari larutan ini diambil 2 ml untuk kemudian dilarutkan dalam 100 ml aquadest.

Pada kelompok perlakuan dengan VCO, cakram dibuat dari kertas saring yang telah direndam dalam emulsi VCO yang dibuat dari campuran antara VCO dengan Tween 80 dan aquadest dengan perbandingan 1 : 1 : 2.

Data yang didapatkan berupa data primer yaitu hasil pengukuran diameter zona hambat pada tiap media dalam kedua kelompok. Data yang diperoleh tidak layak untuk diuji secara statistik.

HASIL

Pengukuran diameter zona hambat pada kelompok ketokonazol dan kelompok VCO termuat dalam Tabel 1.

Tabel 1. Diameter zona hambat (dalam milimeter) terhadap *Candida albicans*

Kelompok	Diameter zona hambat (mm)	
	Mean \pm SD	Median
Ketokonazol	23 \pm 6,7	22
VCO	0	0

Pada kelompok perlakuan dengan ketokonazol didapatkan nilai rerata diameter zona hambat sebesar 23 (SD \pm 6,7) mm dengan nilai median 22 mm. Sedangkan pada kelompok perlakuan dengan VCO didapatkan nilai diameter zona hambat yang konstan sebesar 0 mm, oleh karena itu, data yang telah diperoleh tidak layak untuk diuji secara statistik.

PEMBAHASAN

Candida albicans dapat ditemukan secara fisiologis dalam jumlah yang kecil pada rongga mulut, saluran pencernaan bagian bawah, dan saluran genital pada wanita. Sebagian besar infeksi *Candida albicans* disebabkan oleh infeksi endogen, walaupun dapat juga disebabkan oleh kontak langsung pada mukosa yang terdapat lesi, misalnya, melalui hubungan seksual. Dengan adanya penurunan dari mekanisme pertahanan tubuh, manifestasi klinis dari organisme ini dapat bervariasi, mulai dari infeksi pada kulit superfisial atau membran mukosa, yang terdiri dari kandidiasis vagina dan lesi oral (*thrush*), sampai keterlibatan sistemik dari berbagai organ.²⁻⁴

Terapi terhadap kandidiasis dapat dilakukan dengan pemberian agen antifungi yang tersedia. Salah satunya adalah ketokonazol yang merupakan antifungi golongan azol yang bekerja dengan menghambat enzim *14 α -dimethylase*, suatu enzim sitokrom P450 pada jamur sehingga sintesa ergosterol dihambat dan terjadi kerusakan membran sel pada jamur.⁵⁻⁸

Penggunaan *Virgin Coconut Oil* (VCO) akhir-akhir ini semakin populer di masyarakat. VCO merupakan minyak kelapa yang diperoleh dari hasil pemisahan dari santan secara tradisional.¹² Kandungan VCO sebagian besar terdiri atas asam lemak jenuh (*saturated fatty acids*) sebesar 92% dari kandungan total, 6% asam lemak tak jenuh tunggal (*monounsaturated fatty acids*), dan 2% asam lemak tak jenuh ganda (*polyunsaturated fatty acids*). Asam lemak jenuh pada VCO sebanyak 60% terdiri dari golongan asam lemak jenuh rantai menengah (*medium chain saturated fatty acids* = MCSFA) dan 84% kandungan MCSFA pada VCO ini merupakan asam-asam lemak yang sangat dibutuhkan tubuh dalam menjaga

kesehatan, yaitu : 4,87% Kaprilat (C-8:0); 3,12% Kaprat (C-10:0); 53,6% Laurat (C-12:0); dan 22,6% Miristat (C-14:0).¹³

Asam lemak jenuh (*saturated fatty acids* = SFA) yang terkandung dalam VCO mampu menurunkan tingkat total kolesterol, trigliserid, fosfolipid, LDL, dan VLDL kolesterol, serta meningkatkan HDL kolesterol pada serum darah dan jaringan. Secara laboratorik (*in vitro*) juga mencegah oksidasi LDL (*LDL oxidation*) sehingga mengurangi *formasil carbonyl* dan *oxidative stress* dibanding dengan minyak lain.²¹

Asam lemak jenuh juga dilaporkan memiliki aktivitas antimikroba yang didasarkan dari kerja asam laurat (C12:0) dan asam kaprat (C-10:0). Asam laurat yang di dalam tubuh diubah menjadi monolaurin, menunjukkan aktivitas antimikroba yang luas dengan kemampuan inaktivasi yang tinggi pada *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus epidermidis* dan Grup B gram positive *streptococcus*.^{14,15}

Asam laurat dan asam kaprat memiliki efek antijamur terhadap *Candida albicans* secara *in vitro*. Mekanisme kerjanya adalah dengan membuat disintegrasi dari membran plasma sel jamur.¹⁷ Hal ini mengindikasikan kemungkinan adanya aktivitas anticandida pada VCO.

Hasil penelitian menunjukkan dari 31 sampel *Candida albicans* pada media *Saboraud Dextrosa Agar*, tidak didapatkan adanya zona hambat dari VCO. Sedangkan pada seluruh media yang diuji coba dengan ketokonazol 2% terdapat adanya zona hambat dengan nilai rerata diameter zona hambat sebesar 23 (SD ± 6,7) mm.

Hasil penelitian ini bertentangan dengan hipotesis semula yang memperkirakan bahwa VCO mempunyai efek antifungi terhadap *Candida albicans* karena adanya kandungan asam laurat dan asam kaprat di dalamnya. Hal ini dapat terjadi kemungkinan karena kadar asam laurat yang rendah dalam VCO atau karena terbatasnya konsentrasi emulsi VCO yang dapat dibuat.

Penelitian ini memiliki beberapa keterbatasan akibat dari kelarutan VCO yang buruk di dalam air. Untuk menjamin kelarutan yang baik di dalam air, pada penelitian ini digunakan agen pengemulsi (*emulsifying agent*). Pemakaian agen pengemulsi ini sejalan dengan penelitian-penelitian lain yang menggunakan bahan yang sukar larut di dalam air.²²⁻²⁴ Beberapa agen pengemulsi yang telah dicoba antara lain polietilen glicol (PEG), karbometil selulosa (CMC), gum arabicum, dan tween 80. Dari agen-agen tersebut hanya tween 80 yang memberikan hasil emulsi yang stabil. Hasil emulsi minyak dalam air (o/w) yang stabil didapat dengan mencampur VCO, tween 80, dan aquades dengan perbandingan 1 : 1 : 2, ini merupakan konsentrasi VCO maksimal yang bisa diuji coba dalam penelitian ini. Metode makrodilusi agar yang direncanakan sebelumnya tidak dapat dilaksanakan karena tween 80 tidak dapat bercampur dengan agar, sehingga media tidak dapat membeku, oleh karena itu peneliti memakai metode difusi cakram yang menurut penelitian sebelumnya tetap dapat mengidentifikasi efek antimikroba dengan mudah dan cepat, dan merupakan metode yang paling umum digunakan untuk uji kepekaan antifungi.^{23,25}

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian ini dapat disimpulkan bahwa *virgin coconut oil* tidak efektif dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian yang lebih lanjut tentang daya antifungi *virgin coconut oil* pada konsentrasi yang lebih tinggi dan daya antifungi *virgin coconut oil* pada hewan coba (*in vivo*) dengan titrasi dosis.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada dr. Margawati DH selaku dosen pembimbing dalam penelitian, dr. Noor Wijahyadi, M.Kes, PhD yang telah memberikan saran dalam penyusunan laporan penelitian ini, dr. Subakir Sp. MK, Sp. KK(K) yang telah memberikan saran atas teknis pelaksanaan, seluruh staf bagian Farmakologi Klinik dan laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro, dan semua pihak yang turut membantu dalam pelaksanaan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Adiguna MS. Epidemiologi dermatomikosis di Indonesia. Di dalam: Budimulja U, Kuswadi, Bramono K, Menaldi SL, Dwihastuti P, Widaty S, ed. *Dermatomikosis superfisialis : pedoman untuk dokter dan mahasiswa kedokteran*. Jakarta: Balai penerbit FK UI, 2004: 5-6.
2. Klenk AS, Martin AG, Hefferman MP. Yeast infection : candidiasis, pityriasis (tinea) versicolor. Di dalam: Freedberg IM, Elzan AZ, Wolff K, Austen KF, Goldsmith LA, Katz SI, ed. *Fitzpatrick's dermatology in general medicine*. Edisi ke-6. New York : Mc Graw-Hill, 2003: 2006-15.
3. Jawetz E, Levinson W. Medical microbiology and immunology. Edisi ke-7. New York : Mc Graw-Hill, 2002 : 310-1.

4. Talaro K, Talaro A. Foundations in Microbiology. Edisi ke-2. London : WCB Publisher, 1996: 692-3.
5. Bennet JE. Antimicrobial agents: antifungal agents. Di dalam: Goodman and Gilman's the pharmacological basis of therapeutics (book on CD-ROM). Edisi ke-9. New York : McGraw-Hill Companies, 1996.
6. Rex JH, Arikan S. Antifungal agents. Di dalam : Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RC, ed. *Manual of clinical microbiology*. Edisi ke 8. Washington DC : ASM Press, 2003 : 1860-1.
7. Neal MJ. Medical Pharmacology at a glance. Edisi ke-4. Oxford : Blackwell Publishing, 2002: 87.
8. Katzung BG. Basic and clinical pharmacology. Edisi ke 9. New York : McGraw-Hill, 2004 : 795-7.
9. Maenza JR, Merz WG, Romagnoli MJ, Keruly JC, Moore RD, Gallant JE. 1997. Infection due to fluconazole-resistant *Candida* in patients with AIDS: prevalence and microbiology. Clin. Infect. Dis. 1997; 24: 28–34. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list_uids=8994752&itool=iconabstr&query_hl=3&itool=pubmed_docsum
10. Revankar SG, Kirkpatrick WR, McAtee RK, et al. Detection and significance of fluconazole resistance in oropharyngeal candidiasis in human immunodeficiency virus-infected patients. J. Infect. Dis. 1996; 174: 821–7. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list_uids=8843222&itool=iconabstr&query_hl=6&itool=pubmed_docsum
11. Espinel-Ingroff A. Clinical relevance of antifungal resistance. Infect. Dis. Clin. N. Am. 1997; 11: 929-44. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=163939&blobtype=pdf>
12. Rindengan B, Novianto H. Pembuatan dan pemanfaatan minyak kelapa murni. Depok: Penebar Swadaya, 2005 : 16-19, 55-66.
13. Wibowo Susilo. VCO dan Pencegahan komplikasi diabetes. Jakarta: Pawon publishing, 2005 : 27-29.
14. Wang LL, Johnson EA. Inhibition of *Listeria monocytogenes* by fatty acids and monoglycerides. App. and Environ. Microbiol. 1992; 58: 624-9. (cited 2006 Nov 25) available from URL:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?tool=pubmed&pubmedid=1610184>
15. Isaacs CE, Litov RE, Marie P, Thormar H. Addition of lipases to infant formulas produces antiviral and antibacterial activity. J. Nutr. Biochem. 1992; 3: 304-8. (cited 2006 Nov 25) available from URL:
<http://cat.inist.fr/?aModele=afficheN&cpsidt=5319807>
16. Boddie, RL and Nickerson, SC. Evaluation of postmilking teat germicides containing Lauricidin, saturated fatty acids and lactic acid. J. Dairy. Sci. 1992; 45: 1725-30. (cited 2006 Nov 25) available from URL:
<http://jds.fass.org/cgi/reprint/80/8/1846>

17. Bergsson G, Arnfinnsson J, Steingrímsson Ó, Thormar. In Vitro Killing of *Candida albicans* by Fatty Acids and Monoglycerides. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2001; 45: 3209-12. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=163939&blobtype=pdf>
18. Hornung B, Amtmann E, Sauer G. Lauric acid inhibits the maturation of vesicular stomatitis virus. *J. Gen. Virol.* 1994; 47: 353-61. (cited 2006 Nov 25) available from URL:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=Search&DB=pubmed>
19. Isaacs CE, Thormar H. Membrane-disruptive effect of human milk: inactivation of enveloped viruses. *J. Infect. Dis.* 1986; 154: 966-71. (cited 2006 Nov 25) available from URL:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=3491166&dopt=Abstract
20. Kabara JJ, Swieczkowski DM, Conley AJ, Truant JP. Fatty Acids and Derivatives as Antimicrobial Agents. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1972; 12: 23-8. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=163939&blobtype=pdf>
21. Nevin GK, Rajamohan T. Beneficial effects of virgin coconut oil on lipid parameter and in vitro LDL oxidation. *Clin biochem.* 2004; 37: 830-5. (cited 2006 Nov 27) available from URL:
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=pubmed&cmd=Retrieve&dopt=AbstractPlus&list_uids=15329324&itool=iconabstr&query_hl=58&itool=pubmed_docsum
22. Tsao SM, Yin CM. In-vitro antimicrobial activity of four diallyl sulphides occurring naturally in garlic and chinese leek oils. *J. Med. Microbiol.* 2001; 646-9. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
<http://www.pubmedcentral.nih.gov/picrender.fcgi?artid=163939&blobtype=pdf>
23. Peciulyte D. Effect of tea tree essential oil on microorganisms. A comparative study of tea tree oil antimicrobial effects. *Biologija.* 2004; 37-42. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=Search&DB=pubmed>
24. Lloyd CAC, Menon K, Umamaheshwari K. Anticandidal activity of *Azadirachta indica*. *Indian. J. Pharmacol.* 2005; 386-89. (cited 2006 Nov 22) available from URL:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?CMD=Search&DB=pubmed>
25. Espinell-Ingroff AV, Pfaller MA. Susceptibility test methods yeast and filamentous fungi. Di dalam : Murray PR, Baron EJ, Jorgensen JH, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover FC, ed. *Manual of clinical microbiology*. Edisi ke 8. Washington DC : ASM Press, 2003 : 1880-90.