

HASIL CEK_Witasari_Minnyak atsiri, Tea tree, Rosemary, Antijamur, Candida albicans, Kombinasi.

by Hardi Astuti Witasari Karakterisasi Senyawa Dalam Minyak Atsiri Tea
Tree

Submission date: 07-Nov-2022 08:09AM (UTC+0700)

Submission ID: 1946373507

File name: JURNAL_MINYAK_ATSIRI.doc (1.54M)

Word count: 4001

Character count: 23780

Karakterisasi Senyawa dalam Minyak Atsiri *Tea Tree* dan *Rosemary* serta Aktivitas Sinergisitasnya dalam Menghambat *Candida albicans*

Characterization of Compounds in Tea Tree and Rosemary Essential Oils and Their Synergistic Activities in Inhibiting *Candida albicans*

Hardi Astuti Witasari^{1*}, War⁶, Dina Puspitasari¹, Ata Rofita Wasiati²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H., Janturan, Warungboto, Umbulharjo, Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

²Program Studi Bioteknologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas 'Aisyiyah Yogyakarta, Jl. Ringroad Barat No.63, Nogotirto, Gamping, Sleman, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

Korespondensi:

Hardi Astuti Witasari

⁶Fakultas Farmasi, Universitas Ahmad Dahlan, Jl. Prof. Dr. Soepomo, S.H., Janturan, Warungboto, Umbulharjo, Yogyakarta, Daerah Istimewa Yogyakarta, Indonesia

*Email: hardi.witasari@pharm.uad.ac.id

ABSTRAK

Kandidiasis menjadi salah satu dampak paling serius dari infeksi *Candida* sp. Minyak atsiri *tea tree* dan *rosemary* (TTRO) telah diketahui memiliki aktivitas antifungi terhadap *Candida albicans* berdasarkan hasil studi *in vitro* maupun *in vivo*. Penelitian ini bertujuan untuk mengamati aktivitas penghambatan kombinasi TTRO terhadap kultur *Candida albicans* dan membandingkannya dengan masing-masing minyak atsiri yang diuji secara individu menggunakan metode *checkerboard*. Nilai *minimum inhibitory concentration* (MIC) diperoleh melalui pengamatan tingkat kekeruhan masing-masing sampel hasil tiga kali replikasi. Setiap MIC yang diperoleh kemudian dinyatakan sebagai indeks *fractional inhibitory concentration* (FIC). Selanjutnya nilai *minimum fungicidal concentration* (MFC) ditentukan dengan menggoreskan

kultur ke Saboraud Dextrose Agar (SDA). Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata MIC dari minyak atsiri *tea tree* dan *rosemary* tunggal yang secara berurutan adalah 0,25% (v/v) dan 0,125% (v/v). MIC dari campuran TTRO secara berurutan adalah 0,0625% (v/v) dan 0,0125% (v/v) dengan indeks FICI 0,125% (v/v). Secara berurutan, minyak atsiri *tea tree* dan *rosemary* tunggal menghasilkan nilai MFC sebesar 1% (v/v) dan 0,25% (v/v). MFC terdapat pada campuran TTRO yang secara berurutan berada pada konsentrasi 0,25% (v/v) dan 0,25% (v/v). TTRO tidak menunjukkan aktivitas sinergisme. Oleh karena itu, kombinasi TTRO memberikan efek yang sama dengan minyak esensial individu.

Kata kunci: Minyak atsiri, *Tea tree*, *Rosemary*, Antijamur, *Candida albicans*, Kombinasi.

ABSTRACT

Candidiasis is one of the most serious impacts of Candida sp. Tea tree and rosemary (TTRO) essential oils have been known to have antifungal activity against Candida albicans based on the results of in vitro and in vivo studies. This study aimed to observe the inhibitory activity of the TTRO combination against Candida albicans cultures and compare it with each essential oil tested individually using the checkerboard method. The minimum inhibitory concentration (MIC) value was obtained by observing the turbidity level of each sample resulting from three replications. Each MIC obtained was then expressed as a fractional inhibitory concentration (FIC) index. Furthermore, the minimum value of fungicidal concentration (MFC) was determined by streaking the culture onto Saboraud Dextrose Agar (SDA). The results showed that the average MIC values of tea tree and rosemary essential oils were 0.25% (v/v) and 0.125% (v/v) respectively. The MIC of the TTRO mixture was 0.0625% (v/v) and 0.0125% (v/v) respectively with an FICI index of 0.125% (v/v). Sequentially, tea tree and rosemary essential oils produced MFC values of 1% (v/v) and 0.25% (v/v). MFC is present in the TTRO mixture which is at concentrations of

0.25% (v/v) and 0.25% (v/v) respectively. TTRO showed no synergistic activity. Therefore, the TTRO combination provides the same effect as the individual essential oils.

Keywords: *Essential oil, Tea tree, Rosemary, Antifungal, Candida albicans, Combination.*

PENDAHULUAN

Fungi merupakan mikroorganisme yang tersebar luas di alam [1]. Kondisi alam utama yang mempengaruhi pertumbuhan fungi adalah kelembapan, seperti yang terjadi di Indonesia akibat iklim tropis dan geografinya [2]. Fungi merupakan jenis eukariot, sehingga memiliki banyak kesamaan genetik dengan sel eukariot lain, terutama pada gen markernya. Satu individu fungi patogen mampu menginfeksi berbagai jaringan tubuh [3]. Penyakit kulit akibat fungi patogen tergolong ancaman yang serius dan efek infeksiya terbagi menjadi tiga golongan: 1) Efek lemah (contoh dermatophytes dan spesies *Malassezia*), 2) Efek infeksi kulit parah (contoh *Sporotrix schenckii*), 3) Fungi yang secara sistemik menyebabkan kematian (contoh: *Candida albicans*) [4].

Candida albicans merupakan fungi yang tergolong mudah menyebar dan membentuk interaksi komensalisme di kulit serta permukaan mukosa. Namun, fungi ini memiliki kemampuan untuk tumbuh dalam beragam morfologi yang kemudian menyebabkan adanya peningkatan daya virulensi [5]. Penyakit yang disebabkan oleh fungi ini bernama kandidiasis dan pasien dengan sistem imun lemah (*immunocompromised*) sangat rentan terhadap infeksi penyakit tersebut [6]. Mekanisme patogenitasnya dimulai dari adesi sel fungi ke sel inang dan mulai membelah menjadi bentuk hifa yang diikuti dengan pertumbuhan melalui mekanisme tigmotropisme. Mekanisme sekunder patogen ini meliputi proses adesi, kemampuan fisik (*physical force*), dan sekresi enzim hidrolase yang kemudian dapat mengganggu kestabilan membran sel inang manusia [4].

Kebutuhan senyawa antifungi meningkat seiring dengan penambahan kasus penyakit akibat fungi patogen (*fungus disease*). Kinerja senyawa antifungi sendiri adalah dengan melemahkan bagian dinding sel fungi patogen yang mengandung kitin, hal ini dikarenakan sel inang tidak memilikinya. Permasalahan yang terjadi dari penggunaan senyawa sintesis antifungi secara berlebih meliputi resistensi patogen, toksik terhadap sel inang, dan beragam efek samping lainnya, sehingga diperlukan suatu

alternatif senyawa antifungi yang dapat mengatasi permasalahan ini. Penggunaan senyawa dari alam menjadi pilihan karena memiliki aktifitas yang spesifik, toksisitas rendah, dan tinggi senyawa bioaktif [7].

Minyak atsiri adalah molekul kompleks yang tersusun dari senyawa bioaktif volatil hasil sintesis dalam tumbuhan. Mekanisme produksi minyak atsiri dalam tumbuhan dapat berupa sekresi dari protoplasma melalui degradasi membran sel dan bahan resin, atau dari proses hidrolisis beberapa glikosida. Contoh senyawa penyusunnya adalah terpena, terpenoid, dan senyawa aromatis atau alifatik lainnya dengan berat molekul rendah [8]. Minyak atsiri telah banyak diteliti sebagai senyawa antimikroorganisme [9].

Beberapa jenis minyak atsiri seperti *tea tree* (TTO) dan *rosemary* (RO) diketahui mampu menghambat pertumbuhan *Candida* sp. Minyak *tea tree* mengandung komponen aktif berupa terpinen-4-ol dengan *minimum inhibitory concentration* (MIC) sekitar 4,84-25,33% dan *minimum fungicidal concentration* (MFC) sekitar 25.33-32% dalam menghambat *Candida albicans* berdasarkan studi *in vitro* [10]. Berdasarkan penelitian [11], minyak *tea tree* mampu menghambat pembelahan yeast *C. albicans* ke bentuk miselia pada konsentrasi 0,16%, dengan MIC sebesar 0,12-0,5% terhadap morfologi yeast dan 0,12-1% terhadap morfologi dermatofit. Terlebih, TTO bersifat lipofilik sehingga sesuai untuk penggunaan topikal.

Minyak RO memiliki aroma yang menenangkan dan telah dimanfaatkan dalam keperluan medis. Minyak atsiri ini memiliki aktivitas biologi yang tergantung pada komposisi senyawa kimianya, seperti *pinene*, *1,8-cineole*, *camphor*, *borneol*, *verbenone*, dan *bornyl acetate*. RO memiliki aktivitas antifungi dan mampu menghambat *C. albicans* dengan cara mengubah struktur seluler dan permeabilitas dari membran fungi. RO juga mampu mencegah perkembangan biofilm fungi yang sangat resisten menggunakan *coating nanoparticles* [12]. Berdasarkan penelitian [12], nilai MIC RO sebesar 6,25% dari hasil uji mikrodilusi dan nilai MFCnya adalah 25%. Penelitian [13] menunjukkan bahwa ekstrak etanol 80% dari RO mampu memberikan dampak signifikan terhadap penghambatan *C.*

albicans. Penelitian oleh [14], minyak R memiliki nilai MIC pada rentang 16-2000 $\mu\text{g/mL}$.

Kombinasi minyak atsiri diketahui mampu menghasilkan efek sinergis terhadap fungi target, namun ada beberapa juga yang tidak menghasilkan interaksi apapun seperti yang ada dalam penelitian [15]. Sinergisme tidak hanya dipengaruhi oleh senyawa dominan dalam minyak atsiri sendiri, tetapi juga senyawa minornya. Senyawa minor berpeluang lebih efektif ketika dikombinasikan dengan molekul minor lain. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui interaksi kombinasi minyak atsiri *Tea tree* dan *Rosemary* (TTRO).

METODE PENELITIAN

Bahan

Jamur *Candida albicans* ATCC 10231 (Dinas Kesehatan, Balai Laboratorium Kesehatan dan Kalibrasi Yogyakarta), media cair *Sabouraud's Dextrose Broth* (SDB) (Oxoid), aquadest steril (PT. Jaya Santosa), larutan NaCl 0,9% (PT. Widatra Bhakti), standar *Mc Farland* (konsentrasi jamur 10^8 CFU/ml) (Laboratorium Penelitian Universitas Ahmad Dahlan), DMSO 1% (Merck).

Identifikasi Minyak Atsiri

Proses identifikasi minyak atsiri TTO dan RO dilakukan dengan uji GC-MS yang dilakukan di Laboratorium Analisis Universitas Ahmad Dahlan.

¹ Pembuatan Suspensi Jamur *Candida albicans*

Satu ose *Candida albicans* diambil, masukkan ke dalam tabung yang berisi 1 ml SDB kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C . Suspensi jamur tersebut diambil 100 μl kemudian diberi larutan NaCl fisiologis sampai kekeruhannya sama dengan *Mc Farland* (konsentrasi jamur 10^8 CFU/ml). Setelah itu suspensi diencerkan dengan media SDB (1:100) sehingga konsentrasinya menjadi 10^6 CFU/ml [16].

Uji Aktivitas Antijamur dengan Metode Checkerboard

Minyak atsiri *tea tree* diambil sebanyak 400 μ l dan untuk minyak *rosemary* di ambil sebanyak 100 μ l. Kemudian ditambahkan surfaktan DMSO 1% sebanyak 1 ml. diperoleh konsentrasi larutan stok sampel *tea tree* sebesar 40% v/v dan konsentrasi larutan stok sampel *rosemary* sebesar 10% v/v. Uji aktivitas dilakukan dengan menggunakan 2 (dua) plat yaitu plat X dan Y. masing-masing plat diisi media, minyak atsiri, jamur, dan kontrol.

Uji Aktivitas Antijamur Kombinasi Minyak Atsiri dengan Metode Gores pada Media Padat

Penentuan *Minimum Fungicidal Concentration* (MFC) dilakukan dengan menggoreskan hasil dari uji *checkerboard* pada media padat SDA kemudian di inkubasi selama 18-24 jam. Tidak adanya pertumbuhan fungi pada media menunjukkan MFC minyak atsiri *tea tree* dan *rosemary* tunggal, maupun kombinasi dari keduanya.

Penentuan Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI)

$$FICI = \frac{MIC \text{ zat A dalam kombinasi}}{MIC \text{ hanya zat A}} + \frac{MIC \text{ zat B dalam kombinasi}}{MIC \text{ hanya za B}}$$

Menurut [17] FICI ditafsirkan sebagai :

| | |
|------------------------|---------------------------------|
| $FICI \leq 0.5$ | <i>synergistic effect</i> |
| $0.5 \leq FICI \leq 1$ | <i>additive effect</i> |
| $1 < FICI \leq 4$ | <i>indifferent effect</i> , dan |
| $FICI > 4.0$ | <i>antagonistic effect</i> |

Analisis Data

Penentuan MIC minyak atsiri TTO tunggal, dan RO tunggal, maupun kombinasi dapat diketahui dengan melihat kekeruhan sampel. Penentuan MFC

diketahui dengan menggoreskan sampel pada media padat SDA yang selanjutnya di inkubasi selama 18-24 jam dan diamati adanya pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media. Penentuan hasil uji sinergisme dilakukan dengan menggunakan perhitungan FICI.

HASIL DAN DISKUSI

Kromatografi gas memiliki aplikasi yang luas dapat dijadikan sebagai pemisahan dan analisis campuran beberapa komponen. Kromatografi gas mampu membaca senyawa dengan konsentrasi terendah sehingga metabolit sekunder dapat teridentifikasi dengan hasil berupa kromatogram dan spektrum massa [18]. Hasil analisis senyawa dengan kelimpahan tertinggi Kromatogram GC-MS Minyak Atsiri *Tea Tree* (TTO) dan *Rosemary* (RO) secara berturut-turut yaitu *Terpinen-4-ol* dan *1,8-cineol*. Hasil interpretasi kromatogram minyak atsiri TTO dan RO dengan puncak tertinggi ditampilkan pada Tabel 1.

Penelitian mengenai antijamur pada minyak atsiri TTO dan RO banyak mengacu pada *Candida albicans*. Beberapa penelitian minyak atsiri TO menyebabkan modifikasi dari membran jamur tersebut. Menurut [19], *Terpinen-4-ol* memiliki aktivitas yang tinggi, dan sangat meningkatkan aktivitas flukonazol melawan strain *Candida albicans* yang resisten terhadap flukonazol. Hasil penelitian yang dilakukan menunjukkan bahwa menggabungkan minyak atsiri *tea tree* dengan obat konvensional seperti flukonazole dapat membantu mengobati infeksi jamur yang sulit. Menurut Nurdianti [20], minyak atsiri *tea tree* memiliki *terpinen-4-ol* yang berfungsi sebagai antibakteri dan antijamur yang memiliki potensi efektivitas mengobati jerawat.

Pada penelitian [21] disebutkan bahwa terdapat 5 komponen senyawa mayor berdasarkan nilai waktu retensi dan jumlah persen (%) komponen yang dinyatakan dalam persen (%) kelimpahan dalam minyak atsiri *rosemary*, yaitu *1,8-cineol*, *chmpor*, *α -pinene*, *camphene*, dan *p-cymene*. Beberapa penelitian in vitro telah menguji aktivitas antijamur *Candida albicans*. Penelitian yang dilakukan Nejadi [22], penyembuhan luka menggunakan minyak atsiri *rosemary*

memberikan efek antiinflamasi dan antijamur karena mengandung *terpenoid* tinggi, *limonene*, dan *1,8-cineol*.

Pengujian aktivitas antijamur minyak atsiri TTO dan RO terhadap jamur *Candida albicans* dilakukan melalui 2 (dua) tahap yaitu uji MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*) dan uji MFC (*Minimum Fungicidal Concentration*). Hasil uji MIC disajikan pada Tabel 2. Hasil penelitian menunjukkan bahwa nilai rata-rata MIC dari minyak atsiri *tea tree* dan *rosemary* tunggal yang secara berurutan adalah 0,25% (v/v) dan 0,125% (v/v). Nilai MIC yang diperoleh dalam uji aktivitas antijamur kombinasi minyak atsiri TTRO terdapat pada well F4 (0,25% + 0,0156625% v/v) MIC kombinasi I, dan MIC kombinasi II di tunjukkan pada well G4 (0,25% + 0,0078125% v/v). Tahap selanjutnya yaitu uji MFC, hasil uji MFC replikasi I, II dan III disajikan pada Gambar 1. Secara berurutan, minyak atsiri TTO dan RO tunggal menghasilkan nilai MFC sebesar 1% (v/v) dan 0,25% (v/v). MFC terdapat pada Kombinasi TTRO yang secara berurutan berada pada konsentrasi 0,5% + 0,03125% v/v well E3.

Adanya *Minimum Inhibitory Concentration* (MIC) pada minyak atsiri *tea tree* disebabkan oleh kandungan *terpinen-4-ol* yang berfungsi sebagai agen antimikroba yang paling tinggi diantara kandungan *tea tree oil* seperti terpinolen, 1,8-cineol, α -terpinen, γ -terpinen, p-cymen dan kandungan lainnya. Minyak atsiri *tea tree* memiliki aktifitas antijamur yang kuat dan aman digunakan. Kemampuan minyak atsiri *tea tree* tersebut disebabkan oleh adanya komponen kimia yaitu *terpinen-4-eugenol*, α -terpineol dan 1,8 cineole [23].

Fractional Inhibitory Concentration Index (FICI) merupakan nilai yang dapat menyatakan karakteristik dari suatu kombinasi antimikroba. Hasil MIC minyak atsiri TTO dan RO tunggal maupun kombinasi kemudian dimasukkan kedalam perhitungan FICI seperti pada Tabel 3. Hasil interpretasi disebut menunjukkan bahwa minyak atsiri TTO dan RO tunggal serta kombinasi minyak atsiri menghasilkan efek antijamur terhadap *Candida albicans*. Namun nilai FICI dari kombinasi minyak atsiri TTRO tidak menghasilkan efek sinergis terhadap

pertumbuhan jamur *Candida albicans* tetapi hanya menimbulkan *indifferent effect* dan *additive effect*.

Hasil uji sinergisme aktivitas antijamur dilihat dari nilai MIC tunggal serta MIC kombinasi yang kemudian diinterpretasikan dalam nilai FICI. Hasil *checkerboard* replikasi I, II, dan III dapat dilihat pada Gambar 2. Nilai FICI interpretasi I lebih besar dibandingkan nilai FICI interpretasi II, hal ini dapat dijadikan pertimbangan, karena semakin besar nilai FICI maka efek sinergis kombinasi dari kedua senyawa semakin menurun atau tidak adanya peningkatan. Kecilnya konsentrasi minyak atsiri RO pada kombinasi juga dapat menjadi pertimbangan penting karena dengan konsentrasi yang kecil maka minyak atsiri yang dibutuhkan juga sedikit, bahan yang digunakan sedikit, karena minyak atsiri yang lebih mahal, sehingga kecilnya konsentrasi dapat menghemat biaya saat produksi.

Minyak atsiri TTO dan RO memiliki efek anti jamur terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Kombinasi kedua minyak atsiri tersebut dapat meningkatkan efektivitas agen antijamur namun tidak signifikan, efek yang dihasilkan hampir sama dengan efek dari sediaan tunggal masing-masing minyak atsiri. Beberapa penelitian *in vitro* telah menguji aktivitas anti jamur *Candida albicans*. Penelitian yang dilakukan [22], penyembuhan luka menggunakan minyak atsiri *rosemary* memberikan efek antiinflamasi dan antijamur karena mengandung *terpinoid* tinggi, *limonene*, dan *1,8-cineol*. Aktivitas fungistatik minyak atsiri RO telah dilaporkan oleh beberapa penelitian. Menurut [24], berdasarkan persentase relatif *pinene*, *1,8-cineol*, *camphor*, *borneol*, *verbenone*, dan *bornyl asetat*. Produk alami yang memberikan aktivitas antijamur yang efektif terhadap *mikroorganisme* yang resisten merupakan alternatif yang diperlukan untuk pengendalian kandidiasis oral.

Penelitian mengenai antijamur pada minyak atsiri TTO menurut [21], bahwa larutan minyak atsiri *tea tree* 0,25% mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans*. Minyak atsiri TTO memiliki aktivitas antijamur yang kuat dan aman digunakan. Kemampuan minyak atsiri TTO tersebut disebabkan oleh adanya komponen kimia yaitu *terpene-4-eugenol*, *α-terpineol*, dan *1,8-cineole*. Dari hasil penelitian ini menunjukkan bahwa minyak atsiri TTO dan RO dapat

digunakan untuk menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* karena diduga disebabkan oleh senyawa kimia yang terkandung didalam minyak atsiri tersebut.

KESIMPULAN

Minimum Inhibitory Concentration (MIC) dari minyak atsiri TTO dan RO tunggal secara berturut-turut sebesar 0,25% v/v dan 0,25% v/v. Nilai MIC kombinasi minyak atsiri TTRO secara berturut-turut sebesar 0,25% + 0,0156% v/v (F4) ; dan 0,25% + 0,0078% v/v (G4). *Minimal Fungicidal Concentration* (MFC) dari minyak atsiri TTO dan RO tunggal secara berturut-turut sebesar 1% v/v dan 0,25%. *Minimum Fungicidal Concentration* (MFC) kombinasi minyak atsiri TTRO secara berturut-turut sebesar 0,5% + 0,0313% v/v. Nilai FICI dari kombinasi minyak atsiri TTRO sebesar 1,0625 dan 1,0313. Kombinasi minyak atsiri TTRO menghasilkan *indifferent effect* terhadap jamur *Candia albicans*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterimakasih kepada Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta dan Laboratorium Penelitian Universitas Ahmad Dahlan yang telah memfasilitasi penelitian ini.

REFERENSI

- [1]. Baxi SN, Portnoy JM, Larenas-Linnemann D, Phipatanakul W, Barnes C, Grimes C, et al. Exposure and Health Effects of Fungi on Humans. *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016;4(3):396–404. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2016.01.008>
- [2]. Dwi Nurhayat O, Permana Putra I, Heris Anita S, Heri Yuli Yanto D. Notes Some Macro Fungi From Taman Eden 100, Kawasan Toba, Sumatera Utara, Indonesia: Description and Its Potency. *Bioeduscience*. 2021;5(1):30–9. <https://doi.org/10.22236/j.bes/515326>
- [3]. Rodrigues ML, Nosanchuk JD. Fungal Diseases as Neglected Pathogens: A Wake-Up Call to Public Health Officials. *Adv Clin Immunol Med Microbiol*

- COVID-19, Big Data. 2021;399–411.
- [4]. Mayer FL, Wilson D, Hube B. *Candida albicans* pathogenicity mechanisms. *Virulence*. 2013;4(2):119–28. <https://doi.org/10.4161/viru.22913>
- [5]. Palese E, Nudo M, Zino G, Devirgiliis V, Carbotti M, Cinelli E, et al. Cutaneous candidiasis caused by *Candida albicans* in a young non-immunosuppressed patient: an unusual presentation. *Int J Immunopathol Pharmacol*. 2018;32:0–3. <https://doi.org/10.1177/2058738418781368>
- [6]. Kabir MA, Hussain MA, Ahmad Z. *Candida albicans*: A Model Organism for Studying Fungal Pathogens. *ISRN Microbiol*. 2012;2012:1–15. <https://doi.org/10.5402/2012/538694>
- [7]. Sanchez Armengol E, Harmanci M, Laffleur F. Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds. *Microbiol Res*. 2021;252(July):126867. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126867>
- [8]. Ghavam M, Manca ML, Manconi M, Bacchetta G. Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils obtained from leaves and flowers of *Salvia hydrangea* DC. ex Benth. *Sci Rep*. 2020;10(1):1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73193-y>
- [9]. Bachir RG, Benali M. Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac J Trop Biomed*. 2012;2(9):739–42. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60220-2](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60220-2)
- [10]. Lydiawati E, Listiawan MY, Murtiastutik D, Rahmadewi R, Prakoeswa CRS, Avanti C, et al. In Vitro Antifungal Susceptibility Testing of Tea Tree Oil (TTO) 5% Compared with Nystatin against *Candida* sp. as Important Agent of Oral Candidiasis in HIV/AIDS Patients. *Berk Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2020;32(3):189. <https://doi.org/10.20473/bikk.v32.3.2020.189-194>
- [11]. D'Auria FD, Laino L, Strippoli V, Tecca M, Salvatore G, Battinelli L, et al. In vitro activity of tea tree oil against *Candida albicans* mycelial conversion and other pathogenic fungi. *J Chemother*. 2001;13(4):377–83. <https://doi.org/10.1179/joc.2001.13.4.377>
- [12]. Anjuwita BY, Zulkarnain I, Listiawan MY, Ervianti E, Rahmadewi R, Endraswari PD, et al. Antifungal Activity of *Rosmarinus Officinalis* Essential Oil and Nystatin on Store Isolate of *Candida* species from HIV/AIDS Patients with Oral Candidiasis. *Berk Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin*. 2020;32(3):167. <https://doi.org/10.20473/bikk.v32.3.2020.167-173>

- [13]. Swari DAMA, Santika IWM, Aman IGM. ANTIFUNGAL ACTIVITIES OF ETHANOL EXTRACT OF ROSEMARY LEAF (*Rosemarinus officinalis* L.) AGAINST *Candida albicans*. *J Pharm Sci Appl.* 2020;2(1):28. <https://doi.org/10.24843/jpsa.2020.v02.i01.p05>
- [14]. El-Baz AM, Mosbah RA, Goda RM, Mansour B, Sultana T, Dahms TES, et al. Back to nature: Combating candida albicans biofilm, phospholipase and hemolysin using plant essential oils. *Antibiotics.* 2021;10(1):1–18. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010081>
- [15]. Hossain F, Follett P, Dang Vu K, Harich M, Salmieri S, Lacroix M. Evidence for synergistic activity of plant-derived essential oils against fungal pathogens of food. *Food Microbiol.* 2016;53:24–30. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2015.08.006>
- [16]. Kumalasari E, Sulistyani N. AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK ETANOL BATANG BINAHONG (*Anredera cordifolia*(Tenore) Steen.) TERHADAP *Candida albicans* SERTA SKRINING FITOKIMIA. *Pharmaciana.* 2011;1(2):51–62. <https://doi.org/10.12928/pharmaciana.v1i2.524>
- [17]. KON K, RAI M. Antibacterial activity of *Thymus vulgaris* essential oil alone and in combination with other essential oils. *Nusant Biosci.* 1970;4(2):50–6. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n040202>
- [18]. Al-Rubaye AF, Hameed IH, Kadhim MJ. A Review: Uses of Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) Technique for Analysis of Bioactive Natural Compounds of Some Plants. *Int J Toxicol Pharmacol Res.* 2017;9(01):81–5. <https://doi.org/10.25258/ijtpr.v9i01.9042>
- [19]. Mertas A, Garbusińska A, Szliszka E, Jureczko A, Kowalska M, Król W. The influence of tea tree oil (*Melaleuca alternifolia*) on fluconazole activity against fluconazole-resistant *Candida albicans* strains. *Biomed Res Int.* 2015;2015. <https://doi.org/10.1155/2015/590470>
- [20]. Nurdianti L, Aji N. Evaluasi Sediaan Emulgel Gel Anti Jerawat Tea Tree (*Melaleuca alternifolia*). *J Pharmacopolium.* 2018;1(1):23–31.
- [21]. Khayyat SA, Roselin LS. Recent progress in photochemical reaction on main components of some essential oils. *J Saudi Chem Soc.* 2018;22(7):855–75. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2018.01.008>
- [22]. Nejati H, Farahpour MR, Nagadehi MN. Topical Rosemary officinalis essential oil improves wound healing against disseminated *Candida albicans* infection in rat model. *Comp Clin Path.* 2015;24(6):1377–83. <https://doi.org/10.1007/s00580-015-2086-z>

- [23]. Low WL, Kenward K, Britland ST, Amin MCIM, Martin C. Essential oils and metal ions as alternative antimicrobial agents: a focus on tea tree oil and silver. *Int Wound J.* 2017;14(2):369–84. <https://doi.org/10.1111/iwj.12611>
- [24]. Kelly K, Bell S. Evaluation of the reproducibility and repeatability of GCMS retention indices and mass spectra of novel psychoactive substances. *Forensic Chem.* 2018;7:10–8. <https://doi.org/10.1016/j.forc.2017.11.002>

TABEL

11

Tabel 1. Senyawa dengan Kelimpahan Tertinggi pada Kromatogram GC-MS Minyak Atsiri *Tea Tree* (TTO) dan *Rosemary* (RO)

| Sampl e | P ea k | R. Time | I. Time | F. Time | Area | Area (%) | Height | Heigh t (%) | Name |
|------------------------------|--------------|------------|------------|------------|---------------|-------------|--------------|----------------|--|
| Tea Tre e (TT O) | 13 | 9.10 1 | 8.905 | 9.33 5 | 2266390 98 | 29.6 0 | 192129 05 | 13.8 1 | Terpinen -4-ol |
| | 3 | 3.41 5 | 3.390 | 3.59 0 | 4437269 4 | 5.79 | 145456 21 | 10.4 5 | α -pinene |
| | 8 | 5.47 0 | 5.305 | 5.55 5 | 1532546 83 | 20.0 1 | 187898 47 | 13.5 0 | ρ - Cimene |
| | 9 | 5.59 3 | 5.555 | 5.89 5 | 3778632 5 | 4.93 | 148236 91 | 10.6 5 | 1,8- cineole |
| | 10 | 6.23 1 | 6.075 | 6.40 5 | 7293713 9 | 9.52 | 165327 56 | 11.8 8 | Gamma- terpinen |
| | 11 | 6.88 2 | 6.765 | 7.13 5 | 3375423 1 | 4.41 | 109545 71 | 7.87 | α - terpinole ne |
| | 14 | 9.44 2 | 9.335 | 9.49 5 | 6186273 4 | 8.08 | 140852 68 | 10.1 2 | 3- cyclohex ene-1- methanol |
| Rose mary | 2 | 3.45 3 | 3.385 | 3.58 5 | 6897857 7 | 10. 33 | 191648 22 | 15.3 2 | α -pinene |
| | 3 | 3.70 2 | 3.620 | 3.78 0 | 1713635 6 | 2.5 7 | 692847 2 | 5.54 | Camphene |
| | 4 | 4.24 0 | 4.140 | 4.38 5 | 6598146 0 | 9.8 8 | 181131 73 | 14.4 8 | β -pinene |
| | 7 | 5.56 0 | 5.355 | 5.86 5 | 2413672 71 | 36. 15 | 200867 08 | 16.0 5 | 1,8-Cineole |
| | 9 | 8.35 6 | 8.165 | 8.51 0 | 1230514 69 | 18. 43 | 199381 71 | 15.9 3 | Camphor |
| | 14 | 10.9 15 | 10.79 0 | 11.0 50 | 2242878 3 | 3.3 6 | 874247 3 | 6.99 | Acetic acid 1,7,7- trimethyl- bicyclo[2.2.1]]hept-2-yl ester |
| | 16 | 13.0 18 | 12.92 0 | 13.0 80 | 4366091 3 | 6.5 4 | 145031 63 | 11.5 9 | trans- Caryophylle ne |

Tabel 2. Hasil Uji MIC Minyak Atsiri *Tea Tree* (TTO) dan *Rosemary* (RO)

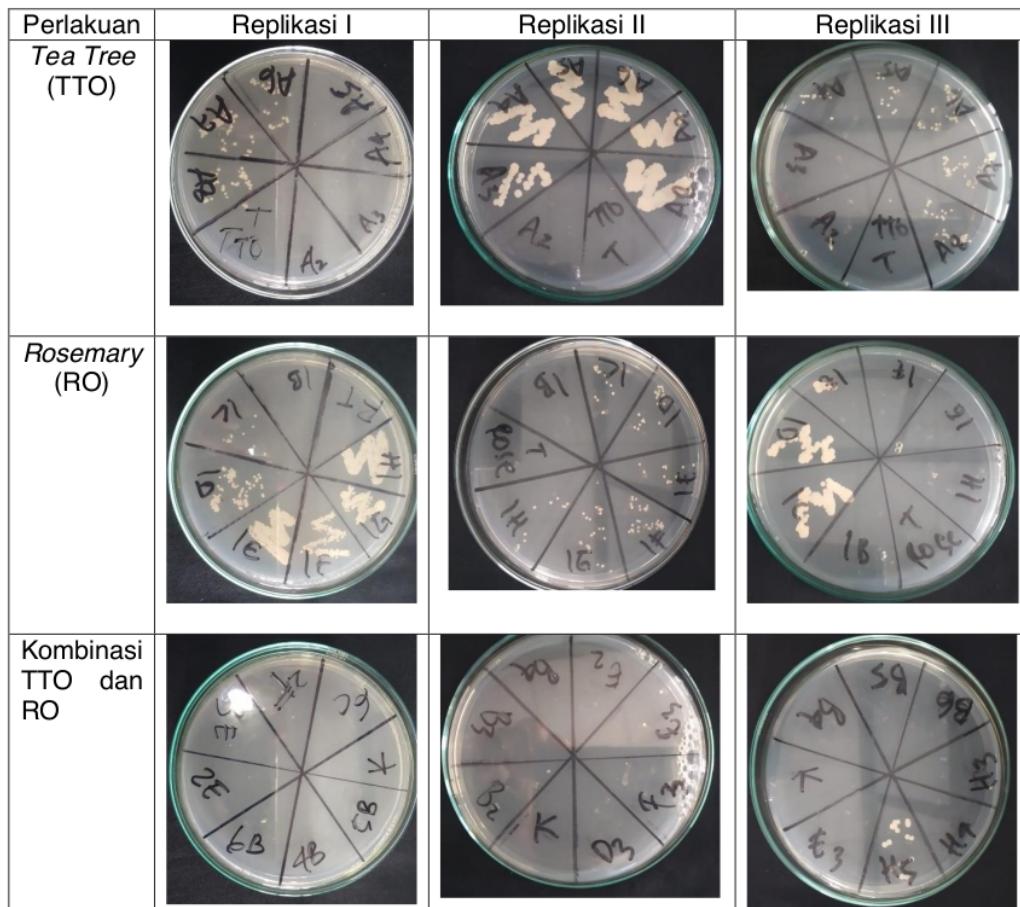
| Perlakuan | Well | Konsentrasi (%) | Hasil R1 | Hasil R2 | Hasil R3 |
|------------------------|-----------------------|-----------------|----------|----------|----------|
| Tea Tree (TTO) Tunggal | A2 | 1 | - | - | - |
| | A3 | 0,5 | - | - | - |
| | A4 | 0,25 | - | - | - |
| | A5 | 0,125 | - | - | + |
| | A6 | 0,0625 | + | - | + |
| | A7 | 0,0313 | + | + | + |
| | A8 | 0,0156 | + | + | + |
| | Rosemary (RO) Tunggal | B1 | 0,25 | - | - |
| C1 | | 0,125 | - | - | + |
| D1 | | 0,0625 | - | - | + |
| E1 | | 0,0313 | + | + | + |
| F1 | | 0,0156 | + | + | + |
| G1 | | 0,0078 | + | + | - |
| H1 | | 0,0039 | + | + | - |
| Kombinasi TTO dan RO | | Baris B | | | |
| | I2 | 1 + 0,25 | - | - | - |
| | B3 | 0,5 + 0,25 | - | - | - |
| | B4 | 0,25 + 0,25 | - | - | - |
| | B5 | 0,125 + 0,25 | - | - | - |
| | B6 | 0,0625 + 0,25 | + | + | + |
| | B7 | 0,0313 + 0,25 | + | + | + |
| | B8 | 0,0156 + 0,25 | + | + | + |
| | Baris C | | | | |
| | C2 | 1 + 0,125 | - | - | - |
| | C3 | 0,5 + 0,125 | - | - | - |
| | C4 | 0,25 + 0,125 | - | - | + |
| | C5 | 0,125 + 0,125 | - | - | + |
| | C6 | 0,0625 + 0,125 | + | + | + |
| | C7 | 0,0313 + 0,125 | + | + | + |
| | C8 | 0,0156 + 0,125 | + | + | + |
| | Baris D | | | | |
| | J2 | 1 + 0,0625 | - | - | - |
| | D3 | 0,5 + 0,0625 | - | - | - |
| | D4 | 0,25 + 0,0625 | - | - | + |
| | D5 | 0,125 + 0,0625 | - | - | + |
| | D6 | 0,0625 + 0,0625 | + | + | + |
| | D7 | 0,0313 + 0,0625 | + | + | + |
| | D8 | 0,0156 + 0,0625 | + | + | + |
| | Baris E | | | | |
| | E2 | 1 + 0,0313 | - | - | - |

| | | | | |
|---------|-----------------|---|---|---|
| E3 | 0,5 + 0,0313 | - | - | - |
| E4 | 0,25 + 0,0313 | - | - | - |
| E5 | 0,125 + 0,0313 | + | + | + |
| E6 | 0,0625 + 0,0313 | + | + | + |
| E7 | 0,0313 + 0,0313 | + | + | + |
| E8 | 0,0156 + 0,0313 | + | + | + |
| Baris F | | | | |
| F2 | 1 + 0,0156 | - | - | - |
| F3 | 0,5 + 0,0156 | - | - | - |
| F4 | 0,25 + 0,0156 | - | - | - |
| F5 | 0,125 + 0,0156 | + | + | + |
| F6 | 0,0625 + 0,0156 | + | + | + |
| F7 | 0,0313 + 0,0156 | + | + | + |
| F8 | 0,0156 + 0,0156 | + | + | + |
| Baris G | | | | |
| G2 | 1 + 0,0078 | - | - | - |
| G3 | 0,5 + 0,0078 | - | - | - |
| G4 | 0,25 + 0,0078 | - | - | - |
| G5 | 0,125 + 0,0078 | + | + | - |
| G6 | 0,0625 + 0,0078 | + | + | + |
| G7 | 0,0313 + 0,0078 | + | + | + |
| G8 | 0,0156 + 0,0078 | + | + | + |
| Baris H | | | | |
| H2 | 1 + 0,0039 | - | - | - |
| H3 | 0,5 + 0,0039 | - | - | - |
| H4 | 0,25 + 0,0039 | - | - | - |
| H5 | 0,125 + 0,0039 | + | + | - |
| H6 | 0,0625 + 0,0039 | + | + | - |
| H7 | 0,0313 + 0,0039 | + | + | + |

Keterangan : Tanda (+) : Cairan didalam well Keruh. Tanda (-) : cairan didalam well Bening/Jernih

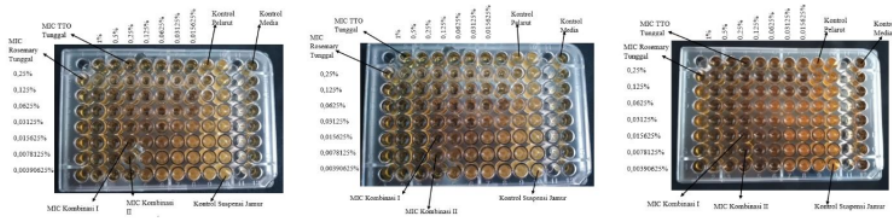
Tabel 3. Hasil Perhitungan FICI

| No Well | Interpretasi Hasil I | | FICI | Interpretasi |
|---------|----------------------|----------|--------|----------------------------------|
| | Konsentrasi (% v/v) | | | |
| | TTO | Rosemary | | |
| A4 | 0,25 | 0 | - | |
| F4 | 0,25 | 0,0156 | 1,0625 | <i>indifferent effect</i> |
| G4 | 0,25 | 0,0078 | 1,0313 | <i>Indifferent effect</i> |
| B1 | 0 | 0,25 | - | |



Gambar 1. Hasil Uji Menggunakan Metode Gores

Keterangan : MFC Minyak Atsiri TTO Tunggal (A₂ : 1% ; A₃ : 0,5% ; A₄ : 0,25% ; A₅ : 0,125% ; A₆ : 0,0625% ; A₇ : 0,03125% ; A₈ : 0,015625%). MFC Minyak Atsiri RO Tunggal (B₁ : 0,25% ; C₁ : 0,125% ; D₁ : 0,0625% ; E₁ : 0,03125% ; F₁ : 0,015625% ; G₁ : 0,0078125% ; H₁ : 0,00390625%). MFC Kombinasi Minyak Atsiri TTRO(B₄ : 0,25% + 0,25% ; B₅ : 0,125% + 0,25% ; B₆ : 0,03125% + 0,25% ; C₆ : 0,0625% + 0,125% ; E₂ : 1% + 0,03125% ; E₃ : 0,5% + 0,03125% ; F₂ : 1% + 0,015625%)



Replikasi I

Replikasi II

Replikasi III

Gambar 2. Hasil Uji *checkerboard* Minyak TTO dan RO

HASIL CEK_Witasari_Minyak atsiri, Tea tree, Rosemary, Antijamur, Candida albicans, Kombinasi.

ORIGINALITY REPORT

13%

SIMILARITY INDEX

9%

INTERNET SOURCES

6%

PUBLICATIONS

6%

STUDENT PAPERS

PRIMARY SOURCES

- 1 Submitted to Universitas Muhammadiyah Surakarta
Student Paper 2%
- 2 repository.unair.ac.id
Internet Source 2%
- 3 Submitted to Birkbeck College
Student Paper 1%
- 4 N.R. Soman, J.N. Marsh, M.S. Hughes, G.M. Lanza, S.A. Wickline. "Acoustic Activation of Targeted Liquid Perfluorocarbon Nanoparticles Does Not Compromise Endothelial Integrity", IEEE Transactions on Nanobioscience, 2006
Publication 1%
- 5 karyailmiah.unisba.ac.id
Internet Source 1%
- 6 Nuri Ari Efiana, Arshad Mahmood, Hung Thanh Lam, Ožbej Zupančič, Gintare Leonaviciute, Andreas Bernkop-Schnürch. 1%

"Improved mucoadhesive properties of self-nanoemulsifying drug delivery systems (SNEDDS) by introducing acyl chitosan",
International Journal of Pharmaceutics, 2017

Publication

| | | |
|----|--|-----|
| 7 | Submitted to University of the West Indies Student Paper | 1 % |
| 8 | new.esp.org Internet Source | 1 % |
| 9 | M. Shahidi, S.M.A. Hosseini, A.H. Jafari. "Comparison between ED and SDPS plots as the results of wavelet transform for analyzing electrochemical noise data", Electrochimica Acta, 2011 Publication | 1 % |
| 10 | kjif.unjani.ac.id Internet Source | 1 % |
| 11 | 123dok.com Internet Source | 1 % |
| 12 | d-nb.info Internet Source | 1 % |
| 13 | ejournal.unsrat.ac.id Internet Source | 1 % |
| 14 | Submitted to Queensland Academy for Science, Maths and Technology Student Paper | 1 % |

Exclude quotes On

Exclude matches < 1%

Exclude bibliography On