

**POTENSI MINYAK ATSIRI RATUS VAGINA DENGAN
KOMBINASI LENGKUAS MERAH (*ALPINIA PURPURATA K. SCHUM*),
KAYU MANIS (*CINNAMOMUM BURMANII BLUME*) DAN DAUN SIRIH
HIJAU (*PIPER BETTLE L*) SEBAGAI ANTIFUNGI TERHADAP
CANDIDA ALBICANS SECARA *IN VITRO***

Resmi Aini, M.Sc.¹, Ana Mardiyarningsih, M.Sc., Apt.²

Poltekkes Bhakti Setya Indonesia Yogyakarta.

ABSTRAK

Keputihan dapat disebabkan oleh infeksi jamur salah satunya adalah *Candida albicans*. Cara tradisional yang digunakan masyarakat adalah perawatan dengan Ratus vagina. Tanaman rempah-rempah yang berfungsi sebagai antifungi adalah minyak atsiri **Lengkuas Merah** (*Alpinia purpurata K. Schum*), **kayu Manis** (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan **daun Sirih Hijau** (*Piper bettle L*).

Metode: Penelitian ini merupakan penelitian eksperimen murni. Pengujian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ratus vagina dengan kombinasi **lengkuas merah** (*Alpinia purpurata K. schum*), **kayu Manis** (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan **daun Sirih Hijau** (*Piper bettle*) sebagai antifungi terhadap *Candida albicans* ATCC 10231. Penelitian ratus vagina dilakukan dengan membuat kombinasi yang sama yaitu **Lengkuas Merah** (*Alpinia purpurata K. Schum*), **kayu Manis** (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan **daun Sirih Hijau** (*Piper bettle L*) dengan seri konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% dan destilasi air diperoleh minyak atsiri 0,57 % b/v. Uji aktivitas antifungi dilakukan dengan dua kelompok kontrol dan lima kelompok perlakuan. Kelompok kontrol yaitu Nystatin (kontrol positif), aquades steril (kontrol negatif), minyak atsiri ratus vagina konsentrasi 12,5%, 25% dan 50% dengan menggunakan metode difusi sumuran dan diamati diameter zona hambat.

Hasil : Dari pengujian minyak atsiri ratus dengan 3 kombinasi pada konsentrasi 12,5%; 25% dan 50 % menunjukkan hasil rata-rata diameter zona hambat adalah 20,28 mm; 25.95 mm dan 29.72 mm serta kontrol positif (Nystatin); 14,95 mm sedangkan kontrol Negatif tidak menghasilkan diameter zona hambat.

Kesimpulan : Minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) memiliki daya hambat sangat kuat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Kata kunci : Ratus vagina, *Candida albicans*.

**POTENTIAL OF HUNDRED VAGINA ESSENTIAL OILS
COMBINATION OF RED GALANGAL (*ALPINIA PURPURATA K.
SCHUM*), CINNAMON (*CINNAMOMUM BURMANII BLUME*) AND
GREEN BETEL LEAVES (*PIPER BETTLE L*) AS AN *IN VITRO*
ANTIFUNGAL TO *CANDIDA ALBICANS***

Resmi Aini, M.Sc.¹, Ana Mardiyarningsih, M.Sc., Apt.²

Poltekkes Bhakti Setya Indonesia Yogyakarta

ABSTRACT

Leucorrhoea can be caused by a fungal infection, one of which is *Candida albicans*. The traditional method used by the community is treatment with Hundreds of vagina. Spice plants that function as antifungals are Red Galangal essential oil (*Alpinia purpurata K. Schum*), Cinnamon (*Cinnamomum burmanii Blume*) and Green Betel leaf (*Piper bettle L*).

Method: This research is pure experimental research. This test aims to determine the activity of a hundred vagina with a combination of red galangal (*Alpinia purpurata K. shum*), cinnamon (*Cinnamomum burmanii Blume*) and Green Betel leaf (*Piper bettle*) as an antifungal against *Candida albicans* ATCC 10231. the same is Red Galangal (*Alpinia purpurata K. Schum*), Cinnamon (*Cinnamomum burmanii Blume*), Green Betel leaf (*Piper bettle L*) with a series of concentrations of 12.5%, 25% and 50% and essential distillation of 0 essential oils, 57% b / v. Antifungal activity test was carried out with two control groups and five treatment groups: Control group were Nystatin (positive control), sterile distilled water (negative control), vaginal hundred essential oils with a concentration of 12.5%, 25% and 50% using the well diffusion method and observed the diameter of the increment zone.

Result: From testing essential oils of hundred with 3 combinations at concentrations of 12.5%; 25% and 50% show the average yield of inhibitory zone diameter is 20.28 mm; 25.95 mm and 29.72 mm and positive control (Nystatin); 14.95 mm while the Negative control does not produce a inhibitory zone diameter.

Conclusion: hundred vaginal essential oil with 3 combinations of red galangal (*Alpinia purpurata K. schum*), cinnamon (*Cinnamomum burmanii blume*) and green betel leaf (*Piper bettle L*) has a very strong inhibitory effect on the growth of *Candida albican* fungi.

Keywords: Hundred vagina, *Candida albicans*.

PENDAHULUAN

Latar Belakang Masalah

Keputihan dapat disebabkan oleh infeksi, salah satunya adalah karena *Candida albicans*, terdistribusi secara luas di lingkungan karena merupakan bagian dari populasi komensal normal pada kulit, saluran gastrointestinal dan saluran genitalia wanita. Sekitar 75% wanita diperkirakan pernah mengalami satu kali episode *vulvovaginal candidiasis* selama hidupnya. Sekitar 10-20 % wanita tidak mengalami gejala dan menjadi carier *vaginal candidiasis* dan meningkat 40% selama kehamilan (Gillespie dan Bamford, 2009)

Pengobatan untuk penderita *kandidiasis* dengan menggunakan antifungi seperti Nystatin yang bersifat membunuh jamur dan menghambat pertumbuhan jamur. Namun seiring bertambahnya waktu, masyarakat cenderung memilih menggunakan tanaman alami atau tren hidup kembali ke alam “*back to nature*”. Obat

tradisional yang berasal dari tumbuhan dan bahan-bahan alami murni memiliki efek samping, tingkat bahaya dan resiko yang jauh lebih rendah dibandingkan dengan obat kimia. Obat tradisional yang dapat digunakan sebagai antifungi adalah minyak atsirinya. (Muhlisah, 2005).

Salah satu cara tradisional yang digunakan masyarakat adalah perawatan dengan Ratus vagina yang merupakan perawatan organ kewanitaan dengan menggunakan ramuan yang diuapkan yang terdiri dari tumbuhan herbal, rempah dan akar tumbuhan. Tradisi ini berawal dari kebiasaan putri keraton, khususnya selir Kerajaan Surakarta terutama (Murtie, A.2012).

Manfaat ratus vagina dapat melancarkan peredaran darah menghilangkan jamur yang menyebabkan keputihan, membantu membersihkan daerah intim agar segar dan wangi, untuk yang sudah menikah dapat mengencangkan daerah intim wanita

sehingga meningkatkan kualitas hubungan seksual, mengurangi lendir yang berlebihan pada organewanitaan, menghilangkan rasa nyeri dan kelelahan otot, dan menghangatkan vagina (Asfiani, 2011).

Manfaat uap herbal kadang-kadang berlebihan karena kurang masuk akal jika uap rempah-rempah itu bisa menembus kulit vagina lalu meningkatkan kesuburan dan menyeimbangkan hormon, uap panas justru beresiko menyebabkan iritasi vagina. Bahkan jika ada kondisi precancerous atau potensi kanker di daerah tersebut, uap panas dapat meningkatkan resiko yang lebih berbahaya (Anolis dan Andhita, 2011).

Tanaman rempah- rempah yang berfungsi sebagai antifungi adalah minyak atsiri **Lengkuas Merah** (*Alpinia purpurata K. schum*) yang mengandung bahan aktif **eugenol** dapat menghambat jamur *Candida albicans* secara efektif. Aktivitas antifungi dari **eugenol** yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan menonaktifkan dan menghambat sintesis dari enzim intraselular dan ekstraselular (Wardani dkk,2017).

Penelitian Nuryanti S.dkk (2015) mengatakan **Ekstrak kulit Batang kayu Manis** (*Cinnamomum burmanii Blume*) dengan pelarut heksana memiliki daya hambat jamur terhadap pertumbuhan *Candida albicans* yang mengandung bahan aktif **sinamaldehyda** dan **eugenol**. kemampuan **sinamaldehyda** dalam menghambat pertumbuhan koloni *Candida* yang dapat mengikat enzim yang ada pada dinding sel dan juga mengikat oksigen yang

dibutuhkan *Candida albicans* untuk metabolisme sel.

Menurut penelitian Utami D.E.R.dkk (2015) jenis ekstrak daun sirih yang terbaik adalah **daun Sirih Hijau** (*Piper bettle L*) dengan konsentrasi terbaik untuk menghambat jamur *Candida albicans* adalah konsentrasi 100 % dengan diameter zona hambat 30 mm.Sirih Hijau mengandung Senyawa aktif **eugenol**, **kavikol** dan **karvakrol** yang penghambatan pertumbuhan *Candida albicans*

Untuk memperoleh minyak atsiri Ratus Vagina dengan ketiga kombinasi tanaman menggunakan metode destilasi uap air karena memiliki keuntungan diantaranya, volume bisa langsung diketahui, kecepatan dehidrasi diketahui, suhu konstan dapat dipertahankan, waktunya cepat, dan alatnya sederhana (Taufik A. dan Tuhana., 2008). Pada penelitian ini diukur diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada masing-masing konsentrasi minyak atsiri di media agar. Zona hambat ditandai dengan adanya daerah bening di sekitar cakram.

Karena efek antifungi yang dimiliki oleh ketiga tanaman ini, harga murah dan mudah didapatkan dimasyarakat, maka dilakukan penelitian untuk melihat potensi Ratus Vagina dengan kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau(*Piper bettle L*) dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* dan diharapkan kombinasi ketiga minyak atsiri

tanaman ini dapat meningkatkan efek antifungi lebih besar dan penggunaan kombinasi tanaman tersebut belum cukup dibuktikan secara ilmiah.

Rumusan Masalah

Apakah minyak atsiri Ratus Vagina dengan kombinasi tanaman Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) dapat menghambat pertumbuhan *Candida albicans*?

Tujuan Penelitian

1. Mengetahui pengaruh antifungi minyak atsiri Ratus Vagina dengan kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) terhadap jamur *Candida albicans*.
2. Mengetahui pengaruh variasi konsentrasi minyak atsiri Ratus Vagina dengan kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*.

Manfaat Penelitian

1. Bagi ilmu pengetahuan
Memberikan pengetahuan mengenai kemampuan formulasi infusa ratus vagina sebagai obat alternatif antifungi pada vagina.
2. Bagi masyarakat umum

Masyarakat dapat menggunakan formula Minyak Atsir Ratus Vagina sebagai antifungi pada vagina.

3. Bagi industri

Industri dapat mengembangkan formulasi minyak atsiri Ratus Vagina menjadi produk jadi yang diaplikasikan sebagai sediaan tradisional yang dapat dipasarkan secara umum.

METODE PENELITIAN

A. Jenis penelitian.

Penelitian ini adalah penelitian eksperimen murni (*True eksperimen*) dengan desain penelitian *Post Test Only Control Group Design* (Notoadmojo, 2010). Menurut sugiyono (2010) Penelitian ini menggunakan pendekatan kuantitatif karena data pada penelitian ini berupa angka yang akan dianalisis dengan statistic. Data yang akan diperoleh dari penelitian ini merupakan diameter zona hambat.

B. Lokasi dan Waktu Penelitian

1. Lokasi : penelitian dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Politeknik Kesehatan Bhakti Setya Indonesia.
2. Waktu : penelitian ini dilakukan pada bulan Februari- November 2018

C. Variable Penelitian

1. Variabel Bebas
Minyak atsiri Ratus Vagina dengan kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu

Manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dan daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) yang dibuat konsentrasi 12,5%, 25% dan 50%

2. Variabel Terikat

Diameter zona hambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* pada media setelah diinkubasi selama 2x24 jam (48 jam).

3. Variabel terkontrol yaitu lokasi pengambilan sample, medium pembiakan jamur, suhu dan waktu destilasi.

D. Instrument Penelitian

1. Bahan yang digunakan adalah sebagai berikut : Biakan murni koloni *Candida albicans*,
 - a. Minyak atsiri rimpang Lengkuas Merah
 - b. Minyak atsiri kulit batang Kayu Manis
 - c. Minyak atsiri Daun Sirih Hijau
 - d. *Potato Dextrose Agar* (PDA)
 - e. *Potato Dextrose Broth* (PDB)
 - f. Antijamur Nistatin (25.000 IU)
 - g. Akuades dan NaCl 0,9%
 - h. Aluminium Foil
2. Alat yang digunakan

No	Nama Alat	Spesifikasi	Jumlah
1.	Cawan Petri	Diameter 9 cm	8 buah
2.	Labu Erlenmeyer	100 mL, 10 mL, 5 mL	2 buah
3.	Beaker Glass	100 mL, 500 mL	2 buah
4.	Gelas Ukur	100 mL, 10 mL, 5 mL	1 buah
5.	Corong	-	2 Buah
6.	Tabung Reaksi	13 x 150 mm	3 Buah
7.	Kaca pengaduk	-	2 buah
8.	Timbangan	Ohaus	1 buah
9.	Autoklaf	HL36AE	1 buah
10.	Jangka Sorong - 1 buah	-	1 buah
11.	Rak tabung reaksi	-	1 buah
12.	Jarum inokulasi	-	2 buah
13.	Pinset	-	1 buah
14.	Inkubator	Memmert	1 Buah
15.	<i>Laminar Air Flow</i>	ESCO	1 buah
16.	Lampu Bunsen	-	1 buah
17.	Camera digital	SONY	1 buah
18.	Micropipet	-	2 buah
19.	Lemari es	-	1 buah
20.	Hot plate	RCH	1 buah
21.	Blue tip	-	Disesuaikan
22.	Yellow tip	-	Disesuaikan
23.	Eppendorf tube	-	6 Buah
24.	Alat destilasi	-	1 buah

3.

4. Jalannya Penelitian

1. Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman dilakukan untuk mendapatkan legalitas yang menyatakan bahwa tanaman tersebut dengan kepustakaan yang ada. Determinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) dilakukan di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta.

2. Sterilisasi alat dan bahan.

Alat-alat yang akan digunakan dibungkus dengan menggunakan kertas koran, untuk tabung reaksi mulut tabung disumbat dengan menggunakan sumbat kapas. Kemudian dimasukan kedalam oven untuk dikeringkan pada suhu 180°C selama 1 jam. Sedangkan untuk medium jika semua bahan medium sudah tercampur, medium disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 110°C, tekanan 1 atm selama 10-15 menit, kemudian media dikeluarkan dan didinginkan dahulu hingga 45°C dan siap digunakan (Brooks dkk, 2005)

3. Pembuatan Minyak Atsiri

a. Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*) Rimpang lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), yang didapatkan di Desa Margoagung,

Seyegan, Kabupaten Sleman dicuci, diiris dengan ketebalan ± 5 mm, lalu ditimbang sebanyak 5.000 gram. Hasil pengeringan dilisolasikan dengan cara destilasi uap dan air. Destilasi dilakukan selama 4-5 jam atau sampai tidak ada lagi destilat yang menetes ke dalam wadah penampung. Setelah proses destilasi, destilat yang diperoleh dimasukan kedalam corong pisah untuk memisahkan air dan minyak. (Firmawanti M., 2009).

b. kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) yang diperoleh di Pasar Beringharjo, Yogyakarta diserbuk kasar lalu ditimbang sebanyak 5.000 gram. Setelah itu dimasukkan ke dalam dandang destilasi dirangkai dengan pendingin air dan penampung destilat. Kemudian dipanaskan dengan kompor LPG api sedang, pemanasan dihentikan setelah 6 jam sejak destilat pertama menetes lalu didinginkan. (Wulandari dkk., 2012)

- c. Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*)
 Lebih kurang 5.000 gram daun sirih segar dipotong-potong, dimasukkan ke dalam dandang yang telah diisi air. Alat destilasi kemudian dirangkai dengan pendingin (kondensor). Ke dalam destilat ditambahkan natrium klorida agar minyak yang teremulsi terpisah. Fase air ditampung dengan erlenmeyer. Ke dalam fase air ini ditambahkan natrium klorida kemudian dipisahkan dengan corong pisah. Pekerjaan ini dilakukan berulangulang sampai semua minyak terpisahkan (Moeljatno R. 2003.)
 - d. Ratus Vagina Merupakan campuran dari ketiga jenis minyak atsiri Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*).Setelah didapatkan minyak atsiri dari Lengkuas Merah, kayu Manis dan Daun Sirih Hijau dengan konsentrasi masing masing 100%, ketiga minyak atsiri tersebut lalu dicampur dan diaduk hingga menyatu dengan perbandingan 1:1:1 sehingga didapatkan campuran minyak atsiri Ratus Vagina dengan konsentrasi 100%. Dari campuran kombinasi 100% ini dibuat seri pengenceran dengan aquadest 12,5%, 25% dan 50%.
5. Pemiakan jamur pada media PDB
 - a. Timbang *Potato Dextrose Broth* (PDB) sebanyak 0,48 gram, kemudian larutkan ke dalam 20 ml air yang dipanaskan sambil diaduk hingga homogen. Lalu sterilkan media PDB pada autoklaf selama 30 menit, dihitung apabila suhu sudah mencapai 121⁰C.
 - b. Tunggu media PDB hingga dingin, bagi masing-masing PDB menjadi 4 ml, ambil 1 ose jamur *Candida albicans* masukkan pada media PDB.
 - c. Inkubasi media yang berisi *Candida albicans* pada suhu 37⁰C selama 2x 24 jam.
 6. Pembuatan suspensi jamur
 Jamur yang telah dibiakkan diambil sebanyak 150 µl, kemudian Kemudian kekeruhannya disamakan dengan standar MC Farland (10⁸cfu /ml). Apabila kurang keruh ditambahkan koloni, dan jika lebih keruh dapat ditambahkan larutan NaCl 0,9%.
 7. Pembuatan kontrol positif
 Larutan kontrol positif yang digunakan adalah 10 µl suspensi Nistatin (25.000 IU) Penggunaan kontrol positif bertujuan sebagai tolak ukur penentuan unfusa ratus vagina memiliki potensi antifungi, apabila daya hambat infusa ratus mendekati atau melebihi kontrol positif. (Pelezar dan Chand, 2008)
 8. Pembuatan kontrol negatif.

Larutan kontrol negatif yang digunakan yaitu *Aquades* steril 30µl

9. Uji daya hambat antifungi infusa ratus vagina dari lengkuas merah Metode yang digunakan dalam uji ini adalah metode difusi :

- a. Timbang PDA sebanyak 3,9 gram yang dilarutkan dalam air 100 ml yang dipanaskan, kemudian aduk hingga homogen. Sterilkan PDA dalam *autoclave* selama 30 menit pada suhu 121°C.
- b. Kemudian dinginkan PDA hingga mencapai suhu 30-40°C, lalu tambahkan suspensi jamur *Candida albicans* sebanyak 1000 µl aduk hingga homogen.
- c. Media kemudian dimasukkan kedalam petri dimana masing-masing 15ml, tunggu hingga memadat.
- d. Buat sumuran pada masing-masing petri, yang sebelumnya diberi tanda konsentrasi 50%, 25%, 12,5%, kontrol positif (nystatin 10µl), dan kontrol negatif (*aquades* steril 30µl), dengan replikasi 5 kali.
- e. Inkubasi pada suhu 37°C selama 2x24 jam di dalam inkubator. Kemudian dilakukan pengukuran diameter zona hambat, menggunakan jangka sorong.

- E. **Hipotesa** : ada pengaruh antifungi minyak atsiri Ratus Vagina dengan kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. schum), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dan daun Sirih Hijau (*Piper bettle* L) terhadap jamur *Candida albicans*.

F. Analisis Data

Pengumpulan data dilakukan dengan mengukur diameter zona hambatan yang terbentuk di sekitar sumuran pada cawan petri berbeda yang telah diberi konsentrasi minyak atsiri Ratus Vagina pada medium biakan murni jamur *Candida albicans*. Diameter zona hambatan adalah diameter yang tidak ditumbuhi oleh mikroba di sekitar sumuran. menurut Kusrieningrum (2008) Untuk menganalisis data hasil penelitian disajikan dalam bentuk tabel hasil pengamatan, yang dianalisa dengan menggunakan ANOVA (*Analysis of Variance*) dua arah (*two way anova*) karena ada dua faktor yang mempengaruhi dan uji lanjut dengan uji beda nyata pada taraf signifikansi 5% dengan tujuan untuk mengetahui perlakuan konsentrasi Ratus Vagian mana yang lebih berpengaruh terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Data penelitian ini akan dianalisis secara manual dan dengan SPSS 18,0 for Windows.

HASIL PEMERIKSAAN

1. Hasil Determinasi Tanaman Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata*

K. schum), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle* L).

Tanaman lengkuas merah (*Alpinia purpurata* K. schum), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle* L). yang digunakan diambil dari daerah Duwet, Kemejing Semin, Gunungkidul. Sebelum digunakan untuk penelitian ketiga tanaman terlebih dahulu dilakukan determinasi, dengan tujuan untuk memperoleh kepastian bahwa tanaman yang digunakan untuk penelitian ini berasal dari tumbuhan yang dikehendaki.

Determinasi dilakukan menurut buku *Flora Of Java* di Laboratorium Sistematika Tumbuhan Fakultas Biologi Universitas Gajah Mada Yogyakarta. Hasil dari determinasi membuktikan bahwa tanaman yang digunakan adalah sesuai dengan spesiesnya..

2. Hasil Destilasi Minyak Atsiri Ratus Vagina

Pada penelitian ini menggunakan destilasi uap dan air, dilakukan karena bahan yang digunakan tidak rusak pada saat pendidihan. Kemudian dilanjutkan dengan pemotongan bahan ratus vagina menjadi potongan kecil- kecil. Fungsi dari pemotongan bahan menjadi kecil- kecil yaitu untuk memperluas permukaan sehingga mudah dalam pelepasan minyak atsiri dari bahan ratus.

Proses penyulingan dilakukan dengan pemanasan yang bertujuan untuk menguapkan air, sehingga uap air dapat membawa minyak atsiri yang terkandung dalam ratus. Hasil destilasi ratus berupa dua macam cairan, yaitu fase cairan minyak dari ratus vagina dan fase air yang bercampur ratus vagina. Berdasarkan bobot jenisnya fase minyak dan air akan terpisah dimana fase minyak ratus vagina berada dibawah dan fase air ratus vagina berada diatasnya dikarenakan bobot jenis minyak lebih besar dari pada air, sehingga fase minyak dapat dipisahkan dalam bentuk cairan minyak atsiri murni. Sedangkan sisa air destilat yang ada masih terlihat keruh dikarenakan sisa air tersebut masih mengandung sisa partikel-partikel minyak yang terikat pada air, sehingga sisa air tersebut masih terasa bau harum. Dari hasil penyulingan didapatkan randemen minyak atsiri ratus 0,57 % b/v.

Namun hasil yang demikian tidak mempengaruhi jalannya penelitian karena penelitian ini tidak menitikberatkan pada randemen minyak atsiri dari ratus hasil destilasi, melainkan uji aktivitas antifungi ratus yang dihasilkan dari destilasi air ratus vagina.

Berdasarkan hasil penyulingan ratus minyak atsiri dilakukan identifikasi secara organoleptis meliputi penampilan minyak, bau, warna, dan rasa. Hasil identifikasi minyak atsiri ratus seperti pada tabel 1.

Proses selanjutnya yaitu penyimpanan minyak atsiri ratus dalam wadah terlindung dari cahaya yaitu ditutupi dengan *aluminium foil* dan ditutup rapat, ini bertujuan agar minyak atsiri tidak menguap selanjutnya disimpan dalam lemari pendingin.

Tabel 1. Hasil identifikasi minyak atsiri ratus secara organoleptis

Keterangan	Hasil Identifikasi Organoleptis
Penampilan	Jernih
Bau	Minyak atsiri (kombinasi bahan ratus)
Warna	Kuning muda keemasan
Rasa	Pedas menggigit

3. Hasil Uji Aktivitas Antifungi

Pengujian aktivitas antifungi dilakukan menggunakan metode difusi sumuran. Jamur yang digunakan adalah *Candida albicans* ATCC 10231. Metode destilasi yang digunakan dalam penelitian dengan menggunakan pelarut air karena air merupakan pelarut yang bersifat polar. Pertimbangan air dipakai sebagai pelarut karena mudah diperoleh dan murah, sehingga dapat diaplikasikan oleh masyarakat.

Dalam menentukan daya antifungi ratus dibutuhkan suatu pembandingan, penelitian ini menggunakan **Nystatin** sebagai kontrol positif dan **aquades** sebagai kontrol negatif. Kontrol positif berfungsi untuk membandingkan kelompok perlakuan (sampel) dengan obat kimia (Nystatin) yang digunakan sebagai antifungi, sedangkan kontrol negatif bertujuan untuk mengetahui ada tidaknya

pengaruh pelarut (*aquades*) terhadap pertumbuhan jamur sehingga dapat diketahui bahwa yang memiliki aktivitas antifungi adalah zat uji bukan pelarutnya.

Media pertumbuhan jamur yang digunakan adalah PDA (*Potato Dextrose Agar*) dan PDB (*Potato Dextrose Broth*) memiliki sifat sedikit asam dengan pH $5,6 \pm 0,2$ sehingga jamur *Candida albicans* dapat tumbuh dalam media tersebut. Media PDA mengandung *Potato extract* atau ekstra kentang sebagai sumber makanan bagi biakan, *Dextrose* atau gugusan gula sebagai penambah nutrisi bagi biakan, dan agar sebagai media bagi biakan yang cukup baik karena mengandung cukup air.

Suspensi jamur yang digunakan disetarakan kekeruhannya dengan Mc. Farland (10^8 CFU/ml), ini bertujuan agar dalam perlakuan tiap plate memiliki jumlah yang kurang lebih sama.

Sebelum melakukan penelitian alat-alat yang digunakan disterilkan terlebih dahulu, dengan tujuan untuk mengurangi kontaminasi yang mungkin terjadi akibat penyimpanan dan penggunaan alat sebelumnya serta tercampurnya kontaminasi. Jamur yang digunakan adalah *Candida albicans* ATCC 10231.

Berdasarkan hasil penelitian penengujian antifungi pengujian antifungi minyak atsiri ratus vagina

dengan kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*). (Perbandingan 1:1:1) pengenceran 50%, 25%, 12,5%, pada media PDA maka didapatkan data zona hambat yang diperoleh dari 5 kali replikasi. Pengamatan antifungi mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan terbentuknya zona hambat (daerah bening) disekitar sumuran.

Berdasarkan hasil pengujian didapatkan konsentrasi minyak atsiri ratus yang memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans* tertinggi adalah minyak atsiri ratus konsentrasi 50% dengan nilai rata-rata diameter 29,72 mm. Namun, apabila dibandingkan dengan kontrol positif (Nystatin) yang memiliki nilai rata-rata diameter 14,95 mm, minyak atsiri ratus vagina jauh lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Tabel 2. Hasil uji aktivitas minyak atsiri ratus vagina sebagai antifungi *Candida albicans* secara *In vitro*

No	Pengujian	Diameter (mm)					Mean
		i	ii	iii	iv	v	
1	kontrol + (Nystatin)	15.1	15.1	14.75	15.1	14.6	14.95
2	kontrol – (Aquades Steril)	-	-	-	-	-	-
3	minyak atsiri 12,5 %	20,45	20,15	19,90	20,80	20,10	20,28
4	minyak atsiri 25 %	26.15	26.15	25.75	26.15	25.45	25.95
5	minyak atsiri 50 %	28.65	31.15	31.1	29.8	29.15	29.72

Dalam pengujian kontrol negatif tidak menunjukkan diameter zona hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Dari pengujian minyak atsiri ratus pengujian 12,5%, 25% dan 50 % menunjukkan semakin besar konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan maka semakin besar pula daya hambat yang ditimbulkan.

Hasil rata-rata diameter zona hambat tersebut kemudian diuji normalitas menggunakan *Kolmogrov-smirnov*. Hasil uji *Kolmogrov-smirnov* menunjukkan bahwa data normal dengan nilai signifikan $0,0565 > 0,05$.

Kemudian dilanjutkan uji homogenitas dengan *Test homogeneity varians*, hasil analisis menunjukkan data tidak homogen dengan nilai signifikan $0,00 < 0,05$, sehingga digunakan uji non parametrik *Kruskal-wallis*, dengan tujuan untuk membandingkan rata-rata (*mean*) lebih dari dua kelompok. Nilai signifikan dari uji *Kruskal Wallis* adalah $0,00 < 0,05$ maka ada perbedaan berpengaruh terhadap pemberian ratus vagina minyak atsiri dengan berbagai konsentrasi sebagai antifungi jamur *Candida albicans*. dilanjutkan uji

Mann-Whitney untuk membandingkan perbedaan mean antar kelompok.

Tabel 3. Hasil uji Mann-Whitney dari kontrol negatif dengan berbagai perlakuan.

Perlakuan	Asymp. Sig
Kontrol positif	0,001
Minyak atsiri ratus vagina 12,5 %	0,001
Minyak atsiri ratus vagina 25 %	0,001
Minyak atsiri ratus vagina 25 %	0,001

Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney dari kontrol negatif dengan berbagai perlakuan diperoleh nilai signifikan $< 0,05$ yang berarti ada perbedaan yang bermakna dalam uji aktivitas antifungi jamur *Candida albicans*. Kontrol negatif berfungsi untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh pelarut terhadap pertumbuhan jamur, sehingga dapat diketahui bahwa yang memiliki aktivitas antifungi adalah zat uji bukan pelarut. Hasil diatas menunjukkan bahwa kontrol positif, minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi pada konsentrasi 12,5%, 25% dan 50 % memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans*.

Tabel 4. Hasil uji Mann-Whitney dari kontrol positif dengan berbagai perlakuan.

Perlakuan	Asymp. Sig
Minyak atsiri ratus vagina 12,5 %	0,0015
Minyak atsiri ratus vagina 25%	0,0015
Minyak atsiri ratus vagina 25%	0,0015

Berdasarkan hasil uji Mann-Whitney dari kontrol positif dengan berbagai perlakuan diperoleh nilai signifikan $< 0,05$ yang berarti antara kontrol positif dengan perlakuan (konsentrasi 12,5%; 25 % dan 50%) berbeda signifikan. Jika dibandingkan dengan nistatin sebagai kontrol positif mempunyai diameter zona hambat rata-rata 14,95 mm, minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) lebih besar dalam menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Hal ini dikarenakan minyak atsiri ratus vagina merupakan gabungan minyak atsiri dari berbagai tumbuhan yang masing-masing memiliki kandungan antifungi. Hasil diatas menunjukkan bahwa minyak atsiri ratus vagina memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans*.

Data zona hambat yang diperoleh dari pengujian antifungi minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi terhadap jamur *Candida albicans* mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan terbentuknya zona hambat (daerah bening) disekitar sumuran. Berdasarkan hasil pengujian didapatkan konsentrasi minyak atsiri ratus yang memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan *Candida*

albicans tertinggi adalah minyak atsiri ratus dengan pengujian konsentrasi 50 % dengan nilai rata-rata diameter 29,72 mm. Namun, apabila dibandingkan dengan kontrol positif (nystatin) yang memiliki nilai rata-rata diameter 14,95 mm, maka minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi jauh lebih tinggi dalam menghambat pertumbuhan *Candida albicans*.

Dalam pengujian kontrol negatif tidak menunjukkan diameter zona hambat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Dari pengujian minyak atsiri ratus pengujian 12,5 %; 25 % dan 50% menunjukkan semakin besar konsentrasi minyak atsiri yang ditambahkan maka semakin besar pula daya hambat yang ditimbulkan. Hal ini disebabkan oleh kandungan minyak atsiri pada ratus vagina. Hasil uji aktivitas antifungi minyak atsiri ratus vagina terhadap jamur *Candida albicans* memiliki daya hambat sebesar 29,72 mm. Aktivitas antifungi suatu senyawa dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain: kandungan senyawa antifungi, daya difusi, jenis jamur yang dihambat dan konsentrasi ekstrak (Jawetz *et al.*, 2007). Konsentrasi ekstrak yang semakin tinggi menyebabkan terbentuknya zona bening yang semakin besar. Semakin pekat konsentrasi suatu ekstrak maka senyawa aktif yang terkandung di dalam ekstrak tersebut semakin

banyak, sehingga berpengaruh terhadap diameter zona hambat yang terbentuk (Tajkarimi dkk, 2010). Menurut Peleazar dan Chan (2008) bahwa semakin tinggi konsentrasi suatu ekstrak maka akan semakin besar efek yang ditimbulkannya.

Penurunan jumlah koloni *C. albicans* pada penelitian ini terjadi karena adanya kandungan pada minyak atsiri ratus vagina yang diduga berpotensi sebagai antifungi. Komponen minyak atsiri dari bahan ratus memiliki sifat antifungi seperti *eugenol*. Aktivitas antifungi dari *eugenol* yaitu dengan merusak membran sitoplasma dan menonaktifkan atau menghambat sintesis dari enzim intraseluler dan ekstraseluler. *Eugenol* merupakan komponen bioaktif yang menyebabkan aroma pedas menyengat dan telah dibuktikan dapat menghambat pertumbuhan beberapa jenis jamur diantaranya *Candida albicans* secara efektif (Silva dkk, 2017)

Eugenol memiliki efek antifungi dengan cara menghambat biosintesis dari ergosterol, komponen penting dalam membran sel jamur sehingga membran sel jamur rusak dan fungsinya menurun. Kerusakan membran sel menyebabkan terganggunya transportasi (senyawa dan ion) melalui membran sel sehingga sel jamur mengalami kekurangan nutrisi yang diperlukan bagi

pertumbuhannya dan mengakibatkan sel lisis (Jianhua dan Hai, 2009).

Eugenol juga termasuk senyawa lipofilik, eugenol memiliki efek antifungi yang bersifat fungisidal yaitu membunuh jamur dengan cara menghancurkan membran lipid bilayer yang tersusun dari rantai asam lemak dengan mengubah fluiditas dan permeabilitas membran sel sehingga sel kehilangan struktur dan fungsinya yang mengakibatkan sel lisis (Ahmad dkk, 2015).

Mekanisme kerja Nystatin sama dengan minyak atsiri ratus vagina (*eugenol*) yang berkaitan dengan ergosterol sehingga terjadi perubahan permeabilitas membran. Hal ini menyebabkan sel jamur kehilangan berbagai molekul kecil.

Berdasarkan penggolongan kategori kekuatan daya hambat antibakteri oleh Davis and Stout (1971), jika diameter zona hambat lebih dari 20 mm, maka daya hambat sangat kuat, jika diameter zona hambat antara 10 mm-20 mm, maka daya hambat kuat, jika diameter zona hambat antara 5 mm-10 mm, dan jika diameter zona hambat kurang dari 5 mm, maka memiliki daya hambat lemah. Hasil uji aktivitas antifungi menunjukkan bahwa minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih

Hijau (*Piper bettle L*) memiliki daya hambat sangat kuat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. Sehingga minyak atsiri ratus memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur *Candida albicans*. Dari hasil penelitian ini maka penggunaan ratus vagina lebih efektif dengan cara penguapan yang kemudian sisa air hasil dari penguapan dapat digunakan untuk membersihkan bagian disekitar vagina.

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Minyak atsiri ratus vagina dengan 3 kombinasi Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata K. schum*), kayu Manis (*Cinnamomum burmanii Blume*) dan Daun Sirih Hijau (*Piper bettle L*) memiliki daya hambat sangat kuat terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*

Saran

Perlu dilakukan uji KLT senyawa minyak atsiri apa saja yang terkandung pada ratus vagina dan sebaiknya dilakukan penelitian lebih lanjut secara *in vivo* pada hewan percobaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad A, Wani MY, Khan A, Manzoor N, Molepo J. 2015. Synergistic interactions of eugenol-tosylate and its congeners with fluconazole against *Candida albicans*. *PLoS One*.10(12):e0145053.
- Anolis, Andhita. 2011. *17 Penyakit Wanita yang Paling Mematikan*. Buana Pustaka: Yogyakarta.
- Asfiani, H. 2011. *Beauty SPA di Rumah*. Octopus: Jakarta.

- Brooks, G. F., J. S. Butel dan S. A. Morse. 2005. *Medical Microbiology*. Mc Graw Hill, New York.
- Davis, W.W., and Stout, T.R., 1971, *Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay*, Appl. Microbiol., 4 (22), 666-670.
- Dumilah, S. S., 1992, *Candida albicans dan Kandidiasis pada Manusia*, Jakarta: FKUI.
- Firmawanti M, Mamik S.M, Rumondang M, dan Verdiana M.R.M. 2009. *Isolasi Minyak Atsiri Lengkuas Merah*. Jurusan Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Diponegoro. Semarang
- Gillespie S.H., and Bamford K.B., 2009. *Mikrobiologi Medis dan Infeksi*. 3rd ed. Alih bahasa: dr. Stella Tinia. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., & Adelberg E. A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 23 Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- Jianhua W & Hai W. 2009. Antifungal susceptibility analysis of berberine, baicalin, eugenol and curcumin on *Candida albicans*. *J Med Col PLA*. 24(3):142-147
- Kusriningrum, 2008. *Perancangan Percobaan*. Airlangga. University Press. Airlangga. Surabaya.
- Moeljatno R. 2003. *Khasiat dan Manfaat Daun Sirih Obat Mujarab dari Masa ke Masa*. Bandung.
- Murtie, A. 2012 *Ramuan Herbal Esensial*. Cahaya Atma Pustaka; Yogyakarta.
- Notoatmodjo, S. 2010. *Metodologi Penelitian Kesehatan*. Rineka Cipta. Jakarta
- Nuryanti S., Jura M.R. dan Nursucianti., 2015. Uji Aktivitas Anti Jamur Ekstrak Kayu Manis (*Cinnamomum burmanii* Blume) Terhadap Jamur *Candida albicans*. *Jurnal Akademika Kimia*. 4(3): 123-128.
- Pelezar dan Chand.2008, *Dasar-dasar Mikrobiologi*. UI Press. Jakarta. Pertanian. Institut Pertanian Bogor. Bogor.
- Silva I.C.G., Santos H.B.P & Cavalcanti Y.W. 2017. Antifungal Activity of Eugenol and its Association with Nystatin on *Candida albicans*. *Odontopediatria e Clinica Integrada*.17(1):e3235
- Tajkarimi, M.M., Ibrahim, S.A. dan Cliver, D.O. 2010.Review: antimicrobial herb and spice compounds in food. *Food Contaminant* 21: 1199-1218.
- Taufik, A. Tuhana. 2008. *Menyuling Minyak Atsiri*. Citra Aji Parama. Yogyakarta.
- Utami D.E.R., Krismayanti L., Yahdi. 2015. Pengaruh Jenis Sirih Dan Variasi Konsentrasi Ekstrak Terhadap Pertumbuhan Jamur *Candida albicans*. *BIOTA*. 7(2); 142-156.
- Wardani A.A., Zukhri S. dan Nurhaini R., 2017. Uji Efektivitas Minyak Atsiri Lengkuas Merah (*Alpinia purpurata* K. Schum) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Candida albicans*. *Cerata*.8 (1); 1-14.
- Wulandari, F., Rostiny, & Soekobagiono.2012. Pengaruh lama perendaman resin akrilik heat cured dalam eugenol minyak kayu manis terhadap kekuatan transversa. *Journal of Prosthodontics*, 3(1), 1