

Journal of Comprehensive Science
p-ISSN: 2962-4738 e-ISSN: 2962-4584
Vol. 4. No. 4 April 2025

AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK ETANOL DAUN DARUJU (*Acanthus ilicifolius* Linn.) TERHADAP *Trichophyton rubrum*

Kardo Binter Wisda Lumban Gaol
Universitas Tanjungpura, Indonesia
kardobinter@gmail.com

Abstrak

Dermatofitosis merupakan infeksi jamur superfisial pada jaringan berkeratin yang masih menjadi permasalahan kesehatan di wilayah tropis seperti Indonesia. *Trichophyton rubrum* adalah jenis dermatofita yang paling sering menyebabkan infeksi kronis dan menahun, seperti tinea pedis dan tinea corporis. Daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang tumbuh liar di daerah pesisir tropis, dikenal memiliki kandungan senyawa metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antimikroba. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum*. Skrining fitokimia dilakukan untuk mengidentifikasi kandungan senyawa aktif, sedangkan pengujian aktivitas antijamur dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan variasi konsentrasi ekstrak 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3% menggunakan pelarut DMSO 10%. Hasil skrining menunjukkan ekstrak mengandung alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, dan fenol. Namun, tidak ditemukan zona hambat pada semua konsentrasi yang diuji, yang mengindikasikan tidak adanya aktivitas antijamur terhadap *Trichophyton rubrum*. Hasil ini menyiratkan bahwa meskipun ekstrak etanol daun daruju mengandung senyawa antimikroba, efektivitasnya terhadap dermatofita jenis ini tidak terbukti. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengeksplorasi metode ekstraksi lain, konsentrasi yang lebih tinggi, atau uji terhadap jenis jamur lainnya.

Kata Kunci: Antijamur, *Acanthus ilicifolius* Linn., *Trichophyton rubrum*

Abstract

Dermatophytosis is a superficial fungal infection of keratinized tissues and remains a global health issue, particularly in tropical regions like Indonesia. *Trichophyton rubrum* is the most common dermatophyte causing chronic infections such as tinea pedis and tinea corporis. *Acanthus ilicifolius* Linn., a mangrove plant commonly found in tropical coastal areas, is traditionally used for its medicinal properties and is known to contain secondary metabolites with antimicrobial potential. This study aimed to evaluate the antifungal activity of ethanol extract of *Acanthus ilicifolius* Linn. leaves against the growth of *Trichophyton rubrum*. Phytochemical screening was conducted to identify the presence of active compounds, and antifungal testing was performed using the disc diffusion method with extract concentrations of 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, and 3% dissolved in 10% DMSO. The extract was found to contain alkaloids, terpenoids, steroids, flavonoids, and phenols. However, no inhibition zones were observed at any concentration tested, indicating a lack of antifungal activity against *T. rubrum*. These findings suggest that despite containing bioactive compounds, the ethanol extract of *A. ilicifolius* leaves does not exhibit antifungal effects on *Trichophyton rubrum*. Further studies are recommended to explore alternative extraction methods, higher concentrations, or testing against other fungal species.

Keywords: Antifungal, *Acanthus ilicifolius* Linn., *Trichophyton rubrum*.



PENDAHULUAN

Dermatofitosis merupakan infeksi jamur superfisial pada jaringan berkeratin seperti rambut, stratum korneum kulit, dan kuku akibat adanya kolonisasi dermatofita yang menghasilkan enzim keratinase untuk menguraikan jaringan berkeratin sebagai sumber nutrisi. Selain keratinase, dermatofita juga menghasilkan glikopeptida yang berperan sebagai antigen.¹

Dermatofitosis masih menjadi masalah yang mendunia, diperkirakan 20-25% dari populasi dunia telah terinfeksi oleh jamur dermatofita. Di Indonesia insidensi infeksi dermatofitosis adalah 52% dari seluruh dermatomikosis.² Persentase insidensi dermatofitosis terhadap dermatomikosis di berbagai rumah sakit pendidikan dokter di Indonesia cukup bervariasi yaitu mulai yang terendah 2,93% (Semarang) hingga tertinggi 27,6% (Padang).³ Patogenesis dermatofitosis dipengaruhi banyak faktor antara lain iklim dengan suhu dan kelembaban yang tinggi, *hygiene* perseorangan, konsumsi obat tertentu, dan imunogenitas.^{4,5} Dermatofitosis disebabkan oleh jamur dermatofita yang meliputi tiga genus yaitu *Microsporum*, *Epidermophyton*, dan *Trichophyton*.⁶⁻⁸ Spesies penyebab dermatofitosis paling sering adalah *Trichophyton rubrum*.⁹

Trichophyton rubrum menyebabkan 60% dari seluruh infeksi jamur superfisial yang sering menjangkit masyarakat. Jamur ini menyebabkan hampir semua jenis dermatofitosis dan 90% bersifat kronis, antara lain: tinea kapitis, tinea barbae, tinea korporis, tinea pedis, tinea unguium dan tinea kruris.^{9,10} Jamur ini sulit dibasmi karena memiliki dinding sel yang memiliki barrier protektif pada pertahanan kulit yang mengakibatkan infeksi yang bersifat kronis dan menahun.¹¹

Terapi yang paling sering digunakan mengatasi dermatofitosis adalah golongan azol topikal maupun sistemik.¹² Cara kerja obat ini adalah menghambat sintesis ergosterol sehingga mengganggu integritas membran sel jamur.¹² Tetapi terapi ini memiliki efek samping berupa iritasi, pruritus, eritema, gastrointestinal dan hepatotoksik pada 20% pasien yang diberikan dosis 400 mg/hari.¹³ Obat antijamur harus dikonsumsi dalam periode waktu tertentu untuk menghindari rekurensi dermatofitosis kronis dan resistensi antibiotik, tetapi kondisi ini dapat menurunkan metabolisme hati yang berakibat gangguan metabolisme obat lain dan komplikasi pada gangguan organ lainnya.¹⁴ Efek samping akibat terapi ini diatasi dengan antijamur alternatif menggunakan bahan alam yang aman dan memiliki efek samping minimal.¹⁵ Tanaman obat yang berpotensi sebagai antijamur adalah ekstrak daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.).¹⁶

Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) merupakan tanaman jenis mangrove yang tersebar secara liar di wilayah beriklim tropis terutama Asia dan Afrika termasuk Indonesia.¹⁷ Tanaman ini belum banyak dimanfaatkan oleh masyarakat terutama dalam bidang medis dan kesehatan.¹⁸ Berdasarkan literatur, beberapa negara di Asia sudah lama menggunakan tanaman daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai dermatitis, *ringworm*, asma, diabetes, hepatitis, leprosi, neuralgia, paralisis, dan gangguan intraabdomen.²⁸ Berbagai penelitian farmakologi dari India membuktikan bahwa ekstrak daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) berperan sebagai antiinflamasi, analgesik, hepatoprotektif, antioosteoporosis, ekspektoran, antileishmania,

antiulcer, antiviral, anthelminthes, antibakteri, dan antijamur.¹⁹ Sebagai antimikroba, ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) mampu menghambat pertumbuhan *Trichophyton rubrum* pada konsentrasi 4.5-5mg/ml dan bersifat fungisida pada konsentrasi 6 mg/dl.²⁰ Golongan senyawa metabolit sekunder terdapat dalam tanaman ini berupa fenol, lignan, saponin, alkaloid, terpenoid, dan tanin memiliki peran sebagai antijamur dengan mekanismenya masing-masing.²⁰ Aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang diambil dari daerah Sambas, Kalimantan Barat, Indonesia, perlu diuji terhadap jamur *Trichophyton rubrum* dengan konsentrasi yang berbeda untuk mengetahui efektifitasnya terhadap patogen dermatofitosis kronis.

Penelitian sebelumnya oleh Sivakumar et al. (2014) menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* memiliki aktivitas antijamur yang efektif terhadap *Trichophyton rubrum* pada konsentrasi 4.5–6 mg/ml, dengan hasil yang menunjukkan sifat fungistatik hingga fungisida. Studi tersebut dilakukan menggunakan tanaman yang berasal dari India, dengan kandungan senyawa aktif yang mungkin dipengaruhi oleh kondisi geografis dan lingkungan lokal. Di sisi lain, penelitian oleh Rahayu et al. (2020) menyatakan bahwa ekstrak tanaman herbal lokal Indonesia memang menunjukkan potensi antijamur, namun hasilnya sangat bervariasi tergantung pada teknik ekstraksi, bagian tanaman yang digunakan, dan konsentrasi ekstrak. Kelemahan utama dari kedua penelitian ini adalah kurangnya standardisasi terhadap sumber tanaman dan variabel lingkungan, serta belum adanya uji aktivitas antijamur terhadap spesimen tanaman daruju yang berasal dari daerah lain di Indonesia seperti Kalimantan Barat.

Penelitian ini hadir untuk mengisi gap tersebut dengan menguji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* Linn. yang dikumpulkan dari wilayah Sambas, Kalimantan Barat, terhadap *Trichophyton rubrum*. Fokus penelitian ini adalah untuk mengetahui apakah perbedaan geografis dan konsentrasi ekstrak mempengaruhi efektifitasnya sebagai agen antijamur. Dengan demikian, penelitian ini memperluas cakupan pengetahuan tentang variasi biologis tanaman daruju lokal dan efektivitas antimikrobanya terhadap dermatofita kronis yang sulit diberantas.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antijamur dari ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* Linn. asal Sambas, Kalimantan Barat, terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum* dengan berbagai konsentrasi ekstrak. Penelitian ini bermanfaat untuk memberikan informasi ilmiah mengenai potensi tanaman daruju lokal Indonesia sebagai alternatif terapi antijamur berbasis bahan alam, yang lebih aman dan minim efek samping. Hasil penelitian diharapkan dapat menjadi dasar bagi pengembangan fitofarmaka antijamur lokal serta memberikan kontribusi terhadap pengobatan dermatofitosis kronis yang lebih efektif dan ramah lingkungan.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni secara *in vitro* dengan rancangan acak lengkap *post test only control group design*. Kelompok uji dan kelompok kontrol dinilai setelah diberikan perlakuan. Penelitian yang dilakukan meliputi pembuatan simplisia dan ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.), skrinning metabolit sekunder (fitokimia) dan uji aktivitas antijamur terhadap *Trichophyton rubrum*. Penelitian yang akan dilakukan bertujuan untuk mengetahui aktivitas antijamur dari ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Trichophyton rubrum* dengan cara menilai luas zona hambat yang terbentuk.

Kelompok perlakuan dalam penelitian ini berjumlah lima kelompok dengan konsentrasi ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) 1%, 1.5%, 2%, 2.5%, dan 3%, dengan ketentuan 1% adalah konsentrasi ekstrak 1 g/100 ml DMSO 10%, sehingga konversi satuan konsentrasi masing-masing adalah 10 mg/ml, 15 mg/ml, 20 mg/ml, 25 mg/ml, dan 30 mg/ml. Sampel ini disertai dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif (itraconazole 8µg) dan kontrol negatif (DMSO 10%). Penelitian dilakukan sebanyak 4 kali pengulangan dengan dasar hitung rumus Federer.

Persiapan Tumbuhan dan Determinasi

Penelitian ini menggunakan tumbuhan daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang tersebar liar di Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi FMIPA Universitas Tanjungpura untuk menetapkan klasifikasi tanaman. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah semua organ tumbuhan yaitu daun, akar, batang, bunga, dan biji.

Pembuatan Simplisia²¹⁻²³

Pembuatan simplisia dimulai dengan pengumpulan bahan baku dengan cara memetik langsung daun daruju dari pohonnya. Waktu yang baik untuk pemanenan adalah pada saat tanaman mengalami proses fotosintesis. Bagian daun yang diambil adalah daun yang bebas hama, penyakit, dan kerusakan lainnya. Selanjutnya pemilahan/sortasi hasil panen terhadap tanah dan kerikil lain yang tidak digunakan.

Hasil sortasi dicuci, kemudian dirajang kasar menjadi potongan-potongan kecil untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Hasil yang telah dirajang dikeringkan menjadi simplisia dengan kadar air yang sudah berkurang. Simplisia kemudian disortasi kering dengan cara memisahkannya dari simplisia yang gosong, rusak atau terkena kotoran. Simplisia dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk simplisia daun daruju.

Ekstraksi Simplisia Daun Daruju

Serbuk simplisia daun daruju dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol. Proses maserasi dilakukan dengan mengganti pelarut tiap 1x24 jam selama tiga hari. Hasil maserasi dikumpulkan dan disaring. Filtratnya kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* dan diperoleh ekstrak etanol daun daruju. Pengentalan ekstrak dilanjutkan menggunakan *water bath*.^{24,25}

Analisis Metabolit Sekunder

Analisis metabolit sekunder (fitokimia) dilakukan terhadap ekstrak etanol daun Daruju untuk melihat kadar senyawa metabolit sekunder secara kualitatif yang terkandung dalam ekstrak. Identifikasi senyawa golongan alkaloid dilakukan menggunakan pereaksi Dragendorff, golongan flavonoid dengan shinoda test, dan golongan steroid/terpenoid menggunakan pereaksi Liebermann-burchard serta golongan fenolik menggunakan reagent FeCl_3 . Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan teknik uji Forth.^{26,27}

Pembuatan Media

Media yang digunakan adalah *Saboraud Dexrose Agar*. Pembuatan media ini dilakukan dengan melarutkan 65 gram dalam 1 liter akuades kemudian dipanaskan di atas *hot plate*. Setelah mendidih, ditambahkan 0,5 gram kloramfenikol. Media ini kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf pada suhu 121°C selama 20 menit.²⁸

Karakterisasi Jamur Uji

Identifikasi spesies jamur uji secara makroskopis dilakukan menggunakan media agar untuk menentukan karakteristik dan warna koloni.

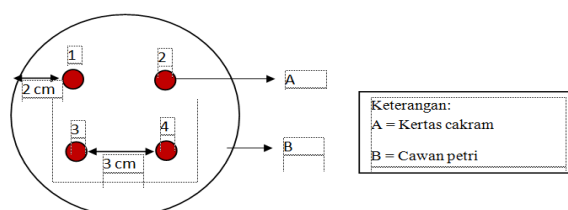
Karakterisasi jamur uji secara mikroskopis dilakukan menggunakan metode *slide culture* dan pewarnaan fungi menggunakan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB). Sediaan diperiksa di bawah mikroskop dengan perbesaran 40x.²⁹

Penyiapan Jamur Uji

Jamur *Trichophyton rubrum* biakan murni yang diperoleh dari Koleksi Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia diambil satu ose lalu ditanam pada media SDA. Kemudian diinkubasi pada suhu 25°C selama 18-24 jam hingga didapatkan koloni jamur *Trichophyton rubrum*. Kemudian koloni *Trichophyton rubrum* disuspensikan dalam NaCl 0,9% dan disamakan kekeruhan dengan standar Mc Farland 0,5.³⁰

Pengujian Antijamur

Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun daruju terhadap pertumbuhan *Trichophyton rubrum* dilakukan dengan metode difusi kertas cakram. Setelah media membeku, suspensi jamur diapus dengan menggunakan *cotton stick* steril. Cakram 6 mm direndam selama 15 menit dalam larutan ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) masing-masing 4 cakram pada setiap konsentrasi, kontrol positif itrakonazole 8 μg , dan kontrol negatif DMSO 10% , selanjutnya diletakkan di atas biakan jamur *Trichophyton rubrum* yang sudah diapus pada media SDA dengan tataletak seperti pada gambar berikut.



Gambar 1. Skema Peletakan Kertas Cakram Pada Media Uji³¹

Biakan uji diinkubasi selama 72 jam pada suhu 25°C.³² Perlakuan diulang empat kali untuk setiap konsentrasi. Diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong kemudian diklasifikasikan tingkat responnya berdasarkan klasifikasi zona hambat antijamur pada CLSI.

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh selanjutnya dilakukan uji normalitas dan variansi data (*Uji Saphiro Wilk* dan *Homogeneity of Variance*). Apabila ditemukan data berdistribusi dan bervariasi normal maka dilakukan uji *one way analysis of variance* (ANOVA) dengan taraf kepercayaan 95% untuk mengetahui ada tidaknya pengaruh yang signifikan dari pemberian berbagai konsentrasi ekstrak daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap diameter zona hambat *Trichophyton rubrum*. Jika pada uji ANOVA menghasilkan $p < 0,05$, maka dilanjutkan dengan melakukan analisis *Post Hoc Least Significance Difference* (LSD) untuk mengetahui perbedaan secara signifikan dari data satu kelompok perlakuan ekstrak daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dengan kelompok lainnya.³³

HASIL DAN PEMBAHASAN

Skrining Fitokimia

Metabolit sekunder yang diuji pada penelitian ini diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin dan fenolik. Hasil uji menunjukkan positif terhadap kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, terpenoid dan steroid. Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan teknik uji Forth menunjukkan hasil negatif. Hasil skrining fitokimia terhadap ekstrak daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dapat dilihat pada tabel 1 berikut.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.).

No.	Pemeriksaan	Pereaksi	Keterangan
1.	Alkaloid	Dragendorf	+
2.	Flavonoid	Shinoda test	+++
3.	Fenol	FeCl ₃ 1%	+++
4.	Terpenoid	Lieberann Burchard	+++
5.	Steroid	Lieberann Burchard	+
6.	Saponin	Uji Forth	-

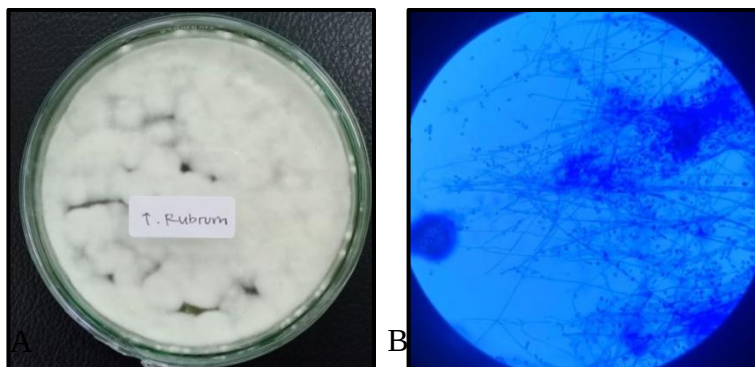
Keterangan: Banyak (+++), sedikit (+), tidak ada (-).

Sumber: Data Primer, 2020

Identifikasi Jamur Uji

Hasil pengamatan koloni pada medium *Saboraud Dextrose Agar* (SDA) didapatkan koloni berwarna putih, menumpuk dan permukaan tampak bulu halus seperti kapas. Hasil pemeriksaan karakterisasi dengan pewarnaan LPCB dengan pengamatan mikroskop perbesaran 10 x tampak mikrokonidia berbentuk lonjong yang bertumpuk di

sekitar sisi-sisi hifa, dan makrokonidia yang memanjang seperti pensil. Berdasarkan hasil karakterisasi yang dilakukan, diketahui bahwa jamur uji merupakan *Trichophyton rubrum*. Hasil karakterisasi jamur dapat dilihat pada Gambar 2 berikut.



Gambar 2. Hasil Karakterisasi *Trichophyton rubrum* (A) Morfologi Makroskopis pada Saboraud Dextrose Agar (B) Morfologi Mikroskopis (40×) dengan pewarnaan LPCB

Aktivitas Antijamur

Hasil pengujian aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dapat diamati dengan adanya diameter zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram pada media uji yang telah diletakkan bersama ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) sesuai konsentrasi. Kontrol positif merupakan pembanding dengan adanya zona hambat pada hasil uji antijamur. Hasil uji itrakonazol 8 µg pada penelitian ini tidak menunjukkan adanya zona hambat terhadap *Trichophyton rubrum*, oleh sebab itu digunakan antijamur ketokonazol 15 µg sebagai pengganti kontrol positif karena ketokonazol merupakan antijamur spektrum luas dengan efektivitas yang tinggi terhadap dermatofita dan berbagai spesies jamur lainnya, serta ketahanan stabilitas senyawa antijamur yang tinggi terhadap pengaruh dan perubahan kondisi lingkungan pada penelitian.³⁴

Hasil pengamatan uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Trichophyton rubrum* setelah diinkubasi selama 72 jam pada suhu 25°C dapat dilihat pada tabel 4.2 dan hasil uji kontrol positif (ketoconazole) pada tabel 2.

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Trichophyton rubrum*.

No	Konsentrasi (%)	Diameter Zona Hambat (mm)				Rata-rata (mm)	Keterangan
		Pengulangan ke-					
		I	II	III	IV		
1	1 %	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
2	1.5 %	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
3	2 %	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
4	2.5 %	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
5	3 %	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat

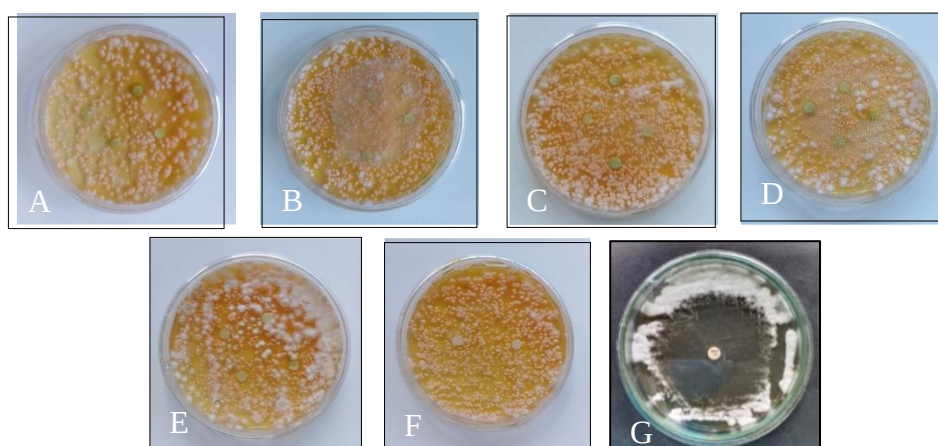
6	Kontrol (-)	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat
7	Kontrol (+)	0	0	0	0	0	Tidak ada zona hambat

Sumber: Data Primer, 2020

Tabel 3. Hasil Uji Kontrol Positif

Antijamur	Rata-Rata Diameter Zona Hambat (mm)			Interpretasi zona hambat
	Pengukuran Hari Ke-			
	3	4	5	
Ketokonazol 15 µg	52	50.3	47.8	Sensitif

Sumber: Data Primer, 2020



Gambar 3. Hasil Uji Aktivitas Antijamur dengan Variasi Konsentrasi (A)3%, (B)2.5%, (C) 2%, (D) 1.5%, (E) 1%, (F) Kontrol Negatif (G) Kontrol Positif (Ketokonazol 15 µg)

Analisis Metabolit Sekunder

Analisis metabolit sekunder merupakan tahapan awal untuk mendeteksi secara kualitatif golongan senyawa bioaktif tertentu dari ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) menggunakan berbagai pereaksi. Tahap ini dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Berdasarkan hasil skrining fitokimia didapatkan gambaran keberadaan kandungan beberapa senyawa metabolit sekunder yaitu flavonoid, alkaloid, terpenoid, steroid, dan fenol.

Senyawa flavonoid terdapat dalam ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) ditandai dengan terbentuknya warna kuning pekat saat direaksikan dengan FeCl_3 . Uji fitokimia secara kualitatif menunjukkan kandungan flavonoid yang banyak, hal ini dikarenakan senyawa golongan flavonoid larut dengan baik pada pelarut yang dapat melarutkan senyawa polar seperti etanol. Warna yang terbentuk pada hasil ini dikarenakan dalam serum sulfat terdapat asam sulfat yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromosfer dari zat aktif.⁹⁴ Flavonoid merupakan senyawa fenolik terbesar di alam. Flavonoid memiliki banyak jenis senyawa karena berbagai tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi sehingga memiliki keberagaman struktur dengan kerangka

utama C6-C3-C6. Flavonoid memiliki peran pada aktivitas biologis penting seperti antibakteri dan antijamur.³⁵⁻³⁷

Pemeriksaan sederhana juga menunjukkan adanya terpenoid yaitu dengan penambahan reaksi Lieberman Burchard yang merupakan campuran asam asetat anhidrida dan asam sulfat membentuk warna merah pada ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.), hal ini sesuai dengan referensi bahwa akan terbentuk cincin merah kecoklatan pada saat penambahan pereaksi tersebut. Pembentukan warna terjadi karena adanya oksidasi oleh H_2SO_4 pada golongan senyawa terpenoid melalui pembentukan ikatan rangkap terkonjugasi. Struktur senyawa terpenoid merupakan alil siklik yang mudah mengalami reaksi adisi dengan hidrogen dan mudah mengalami oksidasi. Metode yang sama juga dilakukan untuk mengetahui ada tidaknya steroid pada ekstrak. Uji yang sama menunjukkan hasil positif steroid ditandai dengan terbentuknya warna biru. Perbedaan warna terjadi karena adanya perbedaan gugus atom pada C-4.^{38,39}

Senyawa fenol ditemukan pada analisa ini ditandai dengan berubahnya warna larutan menjadi biru kehitaman setelah ditetesi larutan $FeCl_3$. Senyawa fenolik pada tumbuhan memiliki karakteristik struktur cincin aromatic yang mengandung gugus $-OH$. Ion Fe^{3+} akan bereaksi dengan senyawa fenolik dengan cara memutus satu rantai $-OH$ sehingga membentuk kompleks yang berwarna hitam. Senyawa fenol cenderung mudah larut dalam pelarut polar yang menjadi alasan banyaknya fenol pada penelitian ini.^{35,37}

Senyawa yang tergolong alkaloid juga terdapat pada ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) ditandai dengan terbentuknya endapan jingga. Hal ini sesuai dengan referensi bahwa hasil positif alkaloid pada uji Drandegroff ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Pada reaksi ini terjadi pembentukan ikatan kovalen koordinat antara pasangan elektron bebas pada alkaloid dengan ion K^+ dari tetraiodobismutat, berakhir dengan terbentuknya kompleks kalium-alkaloid yang mengendap.⁴⁰ Kandungan yang sedikit pada alkaloid dikarenakan tidak mudah mengidentifikasi alkaloid hanya dengan pereaksi tunggal serta kelarutan alkaloid yang luas. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder yang memiliki keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya. Alkaloid terdapat pada seluruh organ tumbuhan yang bertanggung jawab pada fisiologis dan bersifat basa yang memberikan perlindungan dari serangga.³⁷

Pengujian metabolit sekunder menggunakan uji Froth tidak memberikan gambaran adanya saponin ditandai dengan tidak terbentuknya busa pada larutan uji. Hasil ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) tidak mengandung glikosida dengan kadar yang cukup untuk terhidrolisis menjadi glukosa sehingga memberikan gambaran yang negatif. Saponin yang memiliki gugus polar dan nonpolar bersifat aktif di permukaan sehingga saat saponin dikocok dengan air dapat membentuk misel.⁴⁰

Karakteristik Jamur Uji

Hasil pemeriksaan morfologi secara makroskopis pada *media Saboraud Dextrose Agar* (SDA) setelah diinkubasi yaitu pada lapisan atas tampak adanya koloni berwarna putih menonjol ke permukaan dengan bulu-bulu halus seperti kapas, sedangkan bagian

bawah berwarna merah menempel pada lapisan cawan. Pemeriksaan secara mikroskopis yaitu dengan pewarnaan *Lactophenol Cotton Blue* (LPCB) terlihat mikrokonidia *Trichophyton rubrum* berbentuk *calvate* dan *pyriform* (*tear drops*) di sepanjang sisi hifa yang lurus, susunan tidak beraturan dan berdinding halus, serta makrokonidia yang tumpul dan memanjang. Dibandingkan dengan literatur, morfologi yang sama juga ditemukan pada pemeriksaan menggunakan larutan kalium hidroksida (KOH) 10% dan LPCB yang menunjukkan *Trichophyton rubrum* memiliki spora dan berhifa panjang, morfologi ini juga sesuai dengan pemeriksaan mikroskopis secara *laser irradiation*.^{41,42}

Terdapat dua jenis tipe *Trichophyton rubrum* yaitu tipe berbulu halus dan tipe granular. *Trichophyton rubrum* dalam penelitian ini memiliki karakteristik tipe granular ditandai dengan adanya produksi mikrokonidia dan makrokonidia yang banyak.⁴³ *Trichophyton rubrum* tipe granular merupakan penyebab paling mendominasi pada dermatofitosis tipe tinea korporis.⁴⁴

Uji Aktivitas Antijamur

Aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dilakukan menggunakan metode difusi cakram *Kirby-Bauer*. Penelitian ini menggunakan tujuh kelompok perlakuan yaitu konsentrasi ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) 3%, 2,5%, 2%, 1,5%, dan 1% serta dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif menggunakan itrakonazol 8 µg/disk dan kontrol negatif menggunakan DMSO 10%. Area jernih (*clear zone*) adalah hasil yang dapat diukur yang menandakan adanya aktifitas antijamur oleh senyawa antimikroba yang menghambat pertumbuhan jamur.⁴⁵

Itrakonazol 8 µg/disk tidak menunjukkan adanya aktivitas antijamur, ditandai dengan tidak adanya diameter zona hambat secara kuantitatif karena jamur tumbuh sampai di tepi disk, antijamur ini tergolong sensitif apabila diameter zona hambat ≥ 17 mm.⁴⁶ Tidak adanya zona hambat antijamur itrakonazol dapat disebabkan oleh berbagai faktor dari jamur itu sendiri yaitu jenis strain spesies atau galur terutama jamur dermatofita yang diisolasi dari penderita dermatofitosis kronis yang dapat mengubah efektivitas antijamur.⁴⁷ *Trichophyton rubrum* pada penelitian ini merupakan tipe granular yang memiliki makrokonidia yang berdinding tebal.⁴⁸ Struktur dinding sel dermaofita yang tebal diduga menyebabkan sulitnya senyawa antijamur berdifusi untuk menghambat biosintesis ergosterol pada intrasel sehingga gangguan permeabilitas membran tidak terjadi.⁴⁸ Faktor perkembangan resistensi oleh jamur itu sendiri dapat terjadi karena penggunaan obat antijamur yang tidak efektif terutama golongan azol yang menjadi prevalensi secara klinis.⁴⁸ Resistensi ini terjadi akibat adanya ekspresi berlebihan *efflux pumps* yang dapat mengeluarkan bahan toksik yang masuk ke intrasel termasuk antibiotik sehingga senyawa antijamur tidak dapat terakumulasi di dalam sel.⁴⁹ Adapun faktor teknis yang dapat menyebabkan resistensi itrakonazol pada penelitian ini adalah suhu penyimpanan antijamur yang tidak dapat disesuaikan sebesar -20°C sampai 8°C sehingga diduga memengaruhi stabilitas senyawa antijamur.⁵⁰

Antijamur ketokonazol 15 µg sebagai kontrol positif pada penelitian ini memberikan diameter zona hambat sebesar 52 mm, dengan interpretasi zona hambat sensitif (>28 mm) dan sangat kuat. Ketokonazol merupakan kelompok imidazol dengan

spektrum luas yang masih sensitif pada berbagai jenis jamur.⁵¹ Mekanisme kerja ketokonazol adalah menghambat enzim demethylase 14- α -sterol yang merupakan CYP mikrosomal yang merusak biosintesis ergosterol membran plasma dan menyebabkan akumulasi dari 14- α -metilsterol. Metilsterol menyebabkan kerusakan dan disfungsi enzim dan mengganggu rantai asil fosfolipid sehingga menghambat pertumbuhan jamur dan memberikan gambaran zona hambat.⁵²

Kontrol negatif menggunakan DMSO 10% memberikan hasil tidak adanya zona hambat yang terbentuk di sekitar kertas cakram. Hasil ini menunjukkan bahwa DMSO 10% tidak memberikan pengaruh dalam mekanisme uji antijamur ini. Larutan DMSO 10% merupakan pelarut universal serta larut dalam berbagai pelarut organik yang dapat melarutkan senyawa-senyawa dalam ekstrak daun daruju dengan tidak memengaruhi efek antimikroba, dan tidak bersifat mutagen pada mikroba.⁵³

Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dengan variasi konsentrasi 3%, 2,5%, 2%, 1,5%, dan 1% dalam 4 kali pengulangan dengan merendam disk pada variasi konsentrasi ekstrak tidak menghasilkan zona hambat pada semua konsentrasi yaitu diameter 0 mm. Hasil ini tidak sesuai dengan penelitian terdahulu yaitu ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dapat menghambat pertumbuhan *Trichophyton rubrum* dengan rata-rata zona hambat 4-4.5 mm dengan konsentrasi hambat minimum adalah 4.5 mg/ml (0.45%) dengan metode dilusi.²⁰

Data hasil uji aktivitas antijamur menggunakan ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) berupa tidak adanya zona hambat menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) pada penelitian ini tidak efektif menghambat pertumbuhan *Trichophyton rubrum*. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan tidak adanya zona hambat pada uji aktivitas ini diduga oleh 3 faktor yaitu faktor teknis selama pengerjaan penelitian seperti besar inokulum, kontaminasi, suhu inkubasi, dan kepadatan medium. Faktor kedua, yaitu faktor biologis berupa virulensi *Trichophyton rubrum* dan perkembangan resistensi *Trichophyton rubrum*. Faktor ketiga yaitu faktor dari ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) konsentrasi kandungan senyawa metabolit sekunder.

Hasil uji aktivitas antijamur pada *Saboraud Dextrose Agar* tidak ditemukan adanya kontaminasi medium pada semua konsentrasi. Besar inokulum jamur yang digunakan sudah diukur secara kualitatif dengan membuat suspensi jamur dan menyamakan kekeruhan sesuai standar Mc Farland 0,5. Inkubasi media pada inkubator sudah ditetapkan pada suhu 25°C dalam waktu 72 jam. Pembuatan media dilakukan sesuai dengan cara kerja pada petunjuk dan literatur.⁵⁰ Berdasarkan hal ini, faktor secara teknis memberikan kemungkinan kecil menjadi penyebab tidak adanya uji aktivitas pada penelitian ini.

Faktor biologi merupakan faktor yang tidak dapat dikendalikan yang memungkinkan menjadi penyebab tidak adanya zona hambat pada penelitian ini. Jamur dermatofita memiliki struktur dinding sel berlapis yang tersusun atas lebih dari 80% mannoprotein dan glukukan, sedangkan kitin kurang dari 2%. Mannoprotein mengandung lebih dari 90% mannan yang merupakan rantai karbohidrat ekstraseluler. Mannoprotein

terutama diekspresikan pada permukaan eksternal sel jamur. Struktur mannoprotein inilah yang diduga menjadi penyebab sulitnya senyawa antijamur berdifusi ke dalam membran sel sehingga aktivitas senyawa antijamur tidak terjadi.⁴⁸

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, koloni *Trichophyton rubrum* pada penelitian ini diduga telah memiliki kapasitas resistensi terhadap antijamur golongan azol yaitu itraconazole. Jamur ini memiliki kemampuan membentuk perlindungan fisik terhadap sistem imun, yang menjadi faktor rekurensi ketika penggunaan obat antijamur tidak efektif dan meningkatkan faktor resistensi. Berdasarkan penelitian Monod, *et al*, terdapat mekanisme kerja pompa efluks pada membran *Trichophyton rubrum* berupa *ATP Binding Cassette Transporters* (ABC Transporter) dan *Major Facilitator Superfamily* (MFS) yang diduga berhasil mengeluarkan senyawa antijamur.⁴⁸ Kerja *efflux pumps* yang berlebihan terjadi akibat mutasi yang menyebabkan overekspresi gen faktor transkripsi ABC transporter dan TruMFS1 yang memiliki target senyawa dengan struktur yang bervariasi. Pompa efluks yang berlebihan tidak hanya berakibat pada resistensi senyawa antijamur spesifik namun juga terjadi resistensi silang (*crossresistance*) serta mengeluarkan senyawa sitotoksik lainnya dari intrasel termasuk metabolit sekunder suatu tanaman.⁵⁴⁻⁵⁵

Faktor ketiga tidak adanya zona hambat aktivitas ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Trichophyton rubrum*, yaitu konsentrasi senyawa metabolit sekunder ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) tidak cukup efektif untuk memberikan efek antijamur. Ekstraksi pada penelitian ini berhasil menarik beberapa senyawa metabolit sekunder yang diperkirakan memiliki aktivitas antijamur yaitu alkaloid, flavonoid, fenolik, steroid, dan terpenoid yang sesuai dengan literature. Semua golongan metabolit sekunder yang diidentifikasi diketahui memiliki peran sebagai antijamur dengan berbagai mekanisme masing-masing. Terpenoid dan steroid menghambat pertumbuhan jamur dengan cara mengganggu kanal ion pada membran plasma dan mengganggu perkembangan spora; Fenol meningkatkan jumlah *reactive oxygen species* (ROS) sehingga memicu apoptosis sel jamur; Saponin membentuk kompleks dengan sterol (enzim penyusun dinding sel jamur) yang menyebabkan hilangnya permeabilitas dinding sel; Senyawa alkaloid menghambat sistem respirasi sel serta proliferasi pembentukan protein, dan berdampak pada kebocoran membran sel dan hilangnya beberapa bahan intrasel seperti elektrolit (terutama senyawa kalium) yang mengakibatkan kematian jamur; Flavonoid meningkatkan permeabilitas membran yang menyebabkan sel jamur terdenaturasi, menghambat pompa efluks, inhibisi pembelahan sel, inhibisi sintesis protein pada transkripsi RNA atau DNA, induksi kerusakan membran plasma, dan menghambat pembentukan dinding sel.⁵⁶⁻⁵⁹ Namun aktivitas antijamur tersebut tidak ditemukan pada penelitian ini.

Flavonoid adalah golongan metabolit sekunder yang mempunyai peran sebagai inhibitor pompa efluks sehingga berpotensi menurunkan pengeluaran senyawa sitotoksik dari dalam sel jamur dan membantu senyawa antijamur dapat berdifusi ke dalam intrasel untuk menghambat pertumbuhan sel jamur.⁵⁹ Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa dibutuhkan konsentrasi flavonoid kelas isoflavon 1000 µg/ml

(10%), flavone (luteolin) 3.9-83 µg/ml, dan flavone (wogonin) 60-230 µg/ml untuk memberikan efek antijamur terhadap *Trichophyton rubrum*.⁵⁸ Penelitian lain juga membuktikan kombinasi flukonazole dengan sebuah jenis flavonoid baicalein (5,6,7-trihydroxy flavone) 26 mg/ml meningkatkan aktivitas antijamur terhadap *Candida albicans*, demikian penelitian dengan inhibitor lainnya.⁶⁰ Diduga kadar flavonoid terutama kelas apigenin sebagai inhibitor pompa efluks pada ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) tidak adekuat untuk memberikan peran efek antijamur.⁵⁹

Senyawa metabolit sekunder lainnya yang diharapkan mendominasi pada ekstrak adalah saponin. Saponin berkerja dengan berbagai mekanisme, yaitu menghambat adhesi sel jamur dan menurunkan viabilitas, meningkatkan permeabilitas sel, produksi *Reactive Oxidative Species* (ROS), dan menghambat produksi fosfolipase.^{60,61} Berdasarkan penelitian sebelumnya diketahui bahwa saponin memiliki peran sebagai antijamur, pada konsentrasi 1.86 mg/100 g aktif menghambat infeksi *Trichophyton rubrum* dan *Trichophyton mentagrophytes* pada penderita dermatofitosis.⁶² Penelitian Khusnul tahun 2019 juga menunjukkan adanya aktivitas antijamur tergolong sangat kuat ekstrak etanol daun kapulaga (*Amomum compactum* Soland ex. Maton) terhadap *Trichophyton rubrum* dengan hasil analisa fitokimia yang dominan yaitu saponin, flavonoid, dan tanin.⁶³ Dibandingkan dengan penelitian Vijayaraj *et al* (2017)⁶⁴ analisa fitokimia secara kuantitatif ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang berasal dari Muthupet, India, memiliki senyawa metabolit sekunder yang didominasi oleh saponin dengan kadar 47%, berbeda pada penelitian ini analisis metabolit sekunder tidak menunjukkan hasil identifikasi saponin yang positif.⁶⁴ Penelitian ini tidak menganalisa kadar metabolit sekunder secara kuantitatif, namun perbedaan dominansi metabolit sekunder yang ditemukan pada ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dapat dipengaruhi oleh lingkungan tempat tumbuh tanaman, dimana pada penelitian ini tanaman daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) didapat dari Sambas, Kalimantan Barat, yang memiliki kondisi tanah bergambut yang berhubungan dengan kandungan asam-asam organik yang tinggi dan sumber hara yang rendah sehingga berpengaruh secara langsung pada kualitas tanaman dan kandungan metabolit sekunder tanaman.^{65,66}

Perbedaan kadar metabolit sekunder dapat menjelaskan bagaimana penelitian Govindasamy (2013)²⁰ yang mencakup ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang diambil dari Muthupet, India, dapat memberikan efek antijamur terhadap *Trichophyton rubrum*, tetapi tidak pada penelitian ini. Kadar metabolit sekunder yang tidak memadai menjadi faktor tidak efektifnya aktivitas antijamur ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) pada penelitian ini.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil skrining fitokimia dan uji aktivitas antijamur dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* Linn. mengandung senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, terpenoid, steroid, flavonoid, dan fenolat yang secara umum telah diketahui memiliki khasiat sebagai antijamur. Namun, pada konsentrasi yang diuji yaitu 1%, 1,5%, 2%, 2,5%, dan 3%, ekstrak tersebut tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap *Trichophyton rubrum*, yang dibuktikan dengan tidak adanya zona hambat yang jelas pada uji difusi cakram. Temuan ini menunjukkan bahwa meskipun tanaman tersebut mengandung senyawa yang berpotensi bioaktif, konsentrasi yang digunakan tidak cukup untuk menghambat pertumbuhan *T. rubrum*, atau ketersediaan hayati senyawa dan potensinya mungkin terbatas dalam kondisi yang diuji.

Penelitian lebih lanjut disarankan untuk mengeksplorasi konsentrasi ekstrak yang lebih tinggi atau metode ekstraksi alternatif (misalnya, fraksinasi atau penggunaan pelarut dengan kepolaran yang berbeda) untuk mengisolasi dan memekatkan senyawa antijamur tertentu. Selain itu, menguji aktivitas senyawa yang diisolasi dan mengevaluasi efek sinergis dengan agen antijamur konvensional dapat memberikan wawasan yang lebih dalam tentang potensi *Acanthus ilicifolius* Linn. sebagai sumber terapi antijamur. Penelitian di masa depan juga harus mempertimbangkan studi *in vivo* dan penilaian toksikologi untuk mendukung keamanan dan kemanjuran ekstrak dalam aplikasi klinis.

REFERENSI

1. Brooks GF, Morse SA, Mietzner T, Butel JS, Carroll KC. Mikrobiologi kedokteran Jawetz Melnick & Adelberg. 25th ed. Jakarta: EGC; 2014.
2. Yossela T. Diagnosis and treatment of tinea cruris. Jurnal Kedokteran Universitas Lampung. 2015; 6(7):122-128.
3. Inge AS. Efektivitas ekstrak kulit batang kayu manis (*Cinnamomum verum*) dalam menghambat pertumbuhan *Trichophyton rubrum* secara *in vitro*. Fakultas Kedokteran. Universitas Muhammadiyah Malang. 2016.
4. Kurnia, Cita RSP. Etiopatogenesis dermatofitosis. Berkala Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin. 2008; 20(3):198-204.
5. Sitohang I, Wasitmadja SM. Akne vulgaris. Ilmu penyakit kulit dan kelamin edisi VII. Jakarta: Badan Penerbit Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. 2015; 288-290.
6. Mutiawati VK. Pemeriksaan mikrobiologi pada *Candida albicans*. Jurnal Kedokteran Syiah Kuala. 2016; 16(1):156-170.
7. Indah YF, Marsono, Yusuf M. Efektifitas ekstrak lengkuas putih (*Alpinia galangal* L stuntz var. alba) dan kunyit (*Curcuma domestica* L) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* pada plat resin akrilik. Medali Jurnal. 2015; 2(1):37-41.
8. Fitzpatrick, James E, Joseph G. Dermatology secret plus. 5th edition. Elsevier. 2015.
9. Aala F, Nulit R, Yusuf UK, Rezaie S. Conventional and molecular characterization of *Trichophyton rubrum*. African Journal of Mycrobiology Research. 2012; 6(36):6502-6516.

10. Foster KW, Ghannoum MA, Elewski BE. Epidemiologic surveillance of cutaneous fungal infections in the United states from 1999 to 2002. *Journal American Academy Dermatology* . 2004; 50:748-752.
11. Havlickova B, Czaika VA, Friedrich M. Epidemiological trends in skin mycoses worldwide. *Mycoses*. 2008; 51:2-15.
12. Agarwal RK, Gupta S, Mittal G, Khan F, Roy S, Agarwal A. Antifungal susceptibility testing of dermatophytes by agar based disk diffusion method. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*. 2015; 4(3):430-436.
13. Wolverson SE. *Comprehensive dermatologic therapy* 2nd edition: systemic antifungal agents. Philadelphia: Elsevier. 2007; 5(4):75-99.
14. Rahardja K. Obat-obat penting: khasiat, penggunaan dan efek-efek sampingnya. Jakarta: Gramedia; 2007.
15. Sukmawati N, Yuniati, Pitopang R. Studi etnobotani tumbuhan obat pada masyarakat Suku Kaili Rai di Desa Toga Kecamatan Ampibabo Kabupaten Parigi Moutong Sulawesi Tengah. *Biocelbes*. 2013; 7(2):9-14.
16. Prabowo A, Teguh PB, Andriani D. Perbedaan efektivitas ekstrak daun mangrove *Acanthus ilicifolius* dengan bikarbonat 5% terhadap penurunan jumlah koloni *Candida albicans* pada perendaman nilon termoplastik. *Jurnal Kedokteran Gigi Denta*. 2015; 9(2):199-206.
17. Bose S, Bose A. *Acanthus ilicifolius* Linn. Antimicrobial activity. *Indian Journal Pharmaceutical Sciences*. 2008; 70(6):821-823.
18. Singh S, Thakral S, Chhabra A. *Acanthus ilicifolius* Linn.—traditional importance of lessknown medicinal plants. Gurukul College of Pharmacy, Suratgarh; 2009.
19. Purnobasuki. Potensi mangrove sebagai tanaman obat. *Biota IX*. 2004; 9(2):125-126.
20. Govindasamy, Arulpriya M. Antimicrobial activity of *Acanthus ilicifolius* Linn.: Skin infection pathogens. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*. 2013; 3(3):180–183.
21. Saridewi MN, Bahar M, Anisah. Uji efektivitas antibakteri perasan jus buah nanas (*Ananas comosus*) terhadap pertumbuhan isolat bakteri plak gigi di Puskesmas Kecamatan Tanah Abang periode April 2017. *Biogenesis Jurnal Ilmiah Biologi*. 2017; 5(2):104-110.
22. Purwatesna E. Aktivitas antidiabetes ekstrak air dan etanol daun sirih secara in vitro melalui inhibisi enzim α -glukosidase. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012.
23. Voight R. Buku pelajaran teknologi farmasi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 1995.
24. Adewole SO, Ojewole JA. Protective effects of *Annonamuricata* annonaceae Linn. leaf aqueous extract on serum lipid profiles and oxidative stress in hepatocytes of streptozotocin-treated diabetic rats. *African Journal Traditional, Complementary, and Alternative Medicines*. 2009; 6(1):30–41.
25. Mayasari U, Laoli MT. Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia daun jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). *Klorofil*. 2018; 2(1):7-13.

26. Lela LK, Kadarohman A, dan Eko R. Efektifitas biolarvasida ekstrak etanol limbah penyulingan minyak akar wangi (*Vetiveria zizanoides*) terhadap larva nyamuk *Aedes aegypti*, *Culex sp.*, dan *Anopheles sundaicus*. *Jurnal Sains dan Teknologi Kimia*. 2010; 1(1):59-65.
27. Atmoko T, Ma'ruf A. Uji toksisitas dan skrining fitokimia ekstrak tumbuhan sumber pakan orangutan terhadap larva *Artemia salina* L. *Jurnal Penelitian Hutan dan Konservasi Alam*. 2009; 6(1):37-45.
28. Sari ER, Nugraheni ER. Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun cabai jawa (*Piper retrofractum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. 2013; 11(2):36-42.
29. Bhise M, Gawande R, Ingole K, Chakote S. Isolation and identification of dermatophytes in a tertiary care hospital, Solapur. *International Journal of Applied Research*. 2018; 4(3):367-371.
30. Silvia, Arreneuz S, Wibowo MA. Aktivitas antimikroba ekstrak daun soma (*Ploiarium alternifolium* Melch.) terhadap jamur *Malassezia furfur* dan bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kimia Khatulistiwa*. 2015; 4(3):84-93.
31. Alfiah RR, Khotimah S, Turnip M. Efektivitas ekstrak metanol daun sembung rambat (*Mikania micrantha* Kunth) terhadap pertumbuhan jamur *Candida albicans*. *Jurnal Protobiont*. 2015; 4(1):52-57.
32. Marzuki A, Djide M, Sartika, T Rosany. Uji aktivitas ekstrak kulit batang benyuru (*Pterospermum celebicum* Miq.) dan ekstrak lengkuas (*Alpinia galanga* (L.) Wild.) sebagai antifungi terhadap *Trichophyton rubrum*, *Candida albicans*, dan *Aspegillus niger*. *Jurnal Ilmiah Farmasi-UNSRAT*. 2018; 7(3): 2302-2493.
33. Shofiyyatunnisa, Sholihah W, Firmansyah M, dan Damayanti DS. Efek pemberian minyak atsiri daun sirsak (*Annona muricata* Linn) terhadap penurunan kadar Tumor Necrosis Factor Alpha (TNF- α) hepar tikus wistar jantan yang diinduksi Rifampisin. *Jurnal Kesehatan Islam*. 2018; 7(1):25-30.
34. Tyle JHV. Ketoconazole: Mechanism of action, spectrum of activity, pharmacokinetics, drug interactions, adverse reactions and therapeutics use. *Pharmacotherapy*. 1984; 4(6):343-373.
35. Kristiani V, Halim FI. Pengaruh konsentrasi etanol dan waktu maserasi terhadap perolehan fenolik, flavonoid, dan aktivitas antioksidan ekstrak rambut jagung. *Journal of Pharmaceutical Care anwar Medika*. 2020; 2(2):1-14.
36. Hanani E. Analisis fitokimia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
37. Julianto TS. Fitokimia tinjauan metabolit sekunder dan skrining fitokimia. Yogyakarta: Penerbit Universitas Islam Indonesia; 2019.
38. Gunawan D, Mulyani S. Ilmu obat alam: farmakognosi, jilid I. Jakarta: Swadaya; 2004
39. Hanani E. Analisis fitokimia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
40. Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. Skrining fitokimia ekstrak n-heksan korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*. 2018; 7(1):1-4.

41. Aryani IA, Argentina F, Diba S, Darmawan H, Garfendo G. Isolasi dan identifikasi spesies dermatofita penyebab tinea kruris di pusat pelayanan kesehatan primer. *Jurnal Kedokteran dan Kesehatan Publikasi Ilmiah Fakultas Kedokteran Universitas Sriwijaya*. 2020; 7(1):17-21.
42. Zhang RN, Zhao JY, Li LF. Morphological and transcriptome analyses provide insight into growth inhibition of *Trichophyton rubrum* caused by laser irradiation. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2020; 2020:1-7.
43. Lailajasimshaebth, habeeb TA, Adnan N. Molecular characteristics of *Trichophyton rubrum* from strains isolated from Iraqi patients. *Biochemical and Cellular Archives*. 2020; 20(1):2.
44. Idris IS. Tinea corporis et causa *Trichophyton rubrum* tipe granular. *Jurnal Bionature*. 2013; 14(1):44-48.
45. Shalli FG, Taufikurohmah T, Suyatno, Apriyosa E. Preliminary studies on antifungal and antibacterial activity of alum as medicine preparation for vaginal discharge. *International Journal of Research*. 2020; 8(6):464.
46. Clinical and Laboratory Standard Institute. Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of filamentous fungi. CLSI Document M51-P: United States America. 2009.
47. Dogra S, Shaw D, Rudramurthy SM. Antifungal drug susceptibility testing of dermatophytes: laboratory findings to clinical implications. *Indian Dermatology Online Journal*. 2019; 10(3):225-233.
48. Nigam PK. Antifungal drugs and resistance: Current concepts. *Our Dermatology Online*. 2015;6(2):212-221.
49. Monod M., Feuermann M., Salamin K, et al. *Trichophyton rubrum* resistance mediated by a new ABC transporter TruMDR3 antimicrobial agents and chemotherapy. 2019; 63(11):863-19.
50. HiMedia Technical Data. Itraconazole 10 µg SD221. India. HiMedia Laboratories. 2019.
51. Rosco Diagnostica. Susceptibility testing of yeasts agar diffusion method with NEO-SENSITABS. Denmark: Rosco Diagnostica. 2011.
52. Siddik MB, et al. Perbandingan efektivitas antifungi antara ekstrak metanol kulit batang kasturi dengan ketokonazol 2% terhadap *Candida albicans* in vitro. *Berkala Kedokteran*. 2016; 12(2):271-278.
53. Gaylord Chemical Company. Dimethyl Sulfoxide (DMSO) health and safety information. Slidell: Information Buletin Galeria Blvd. 2014.
54. Gu D, Hatch M, Ghannoum M, Elewski B. Treatment-resistance dermatophytosis: A representative case highlighting an emerging public health threat. *American Academy of Microbiology*. 2020; 10(16):1-3.
55. Gwózdź HA, Kalinowska K, Niezgoda EP, Bielecki J, Jagielski T. Increase in resistance to fluconazole and itraconazole in *Trichophyton rubrum* clinical isolates by sequential passages in vitro under drug pressure. 2013; 17(1):49-55.

56. Artana IGS, Darmayasa IB, Proborini MW. Daya hambat ekstrak kasar daun kaliandra (*Calliandra calothyrsus* Meissn.) terhadap jamur kontaminan pada pakan konsentrat ayam ras pedaging. *Jurnal Simbiosis*. 2016; 4(2):31-38.
57. Hong LS, Ibrahim D, Kassim J, Sulaiman S. Gallic acid: An anticandidal compound in hydrolysable tannin extracted from the barks of *Rhizophora apiculata* Blume. *Journal Applied Pharmaceutical Science*. 2011; 1(6):75–9.
58. Arifin Z, Khotimah S, Rahmayanti S. Aktivitas antijamur ekstrak etil asetat daun mangga bacang (*Mangifera foetida* L.) terhadap *Candida albicans* secara In Vitro. *Jurnal Cerebellum*. 2018; 4(3):1-14.
59. Aboody SA, Mickymaray S. Anti-fungal efficacy and mechanism of flavonoids. *Antibiotics*. 2020; 9(45):1-42.
60. Huang S, Cao YY, Dai BD, Sun XR, Zhu ZY, Cao YB, Wang, Y, Gao PH, Jiang, YY. In vitro synergism of fluconazole and baicalein against clinical isolates of *Candida albicans* resistant to fluconazole. *Biological Pharmaceutical Bulletin*. 2008, 31, 2234–2236.
61. Yang L, Liu X, Zhuang X, Feng X, Zhong L, Ma T. Antifungal effect of saponin extract from rhizomes of *Dioscorea panthaica* prain et burk against *Candida albicans*.
62. Ajibade VA, Akinruli F, Ajenifuja F. Antifungal efficacy of saponin extracted from *Phyllanthus niruri*. 2018; 1(3):1-3.
63. Khusnul, Rahmah LA, Madintul D. Uji daya hambat ekstrak etanol daun kapulaga (*Amomum compactum* Soland ex. Maton) terhadap pertumbuhan *Trichopyton rubrum*. *Pharmacoscript*. 2019; 2(2):111-117.
64. Vijayaraj R, Kumaran NS, Swarnakala. Evaluation of anti-tumour potential of *Acanthus ilicifolius* (Linn.) in HepG2 cell line induced hepatocellular carcinoma in mice. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 2017; 9(6):892-897.
65. Fitra SJ, Prijono S, Maswar. Pengaruh pemupukan pada lahan gambut terhadap karakteristik tanah, emisi CO₂, dan produktivitas tanaman karet. *Jurnal tanah dan sumberdaya lahan*. 2019; 6(1):1145-1156.
66. Wahyunto, Sofyan R, Suparto, H S. Sebaran gambut dan kandungan karbon di pulau Sumatera dan Kalimantan. *WetlandsInternational-indonesia Programme*. 2005.
67. Rahayu, D., Susanti, H., & Rahmawati, D. (2020). Aktivitas antijamur beberapa tanaman herbal terhadap *Trichophyton rubrum*. *Jurnal Penelitian Sains dan Teknologi*, 21(2), 145–152. <https://doi.org/10.31227/osf.io/r3jqp>
68. Sivakumar, T., Velayutham, P., & Ramesh, P. (2014). Evaluation of antifungal activity of *Acanthus ilicifolius* against dermatophytes causing superficial mycoses. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 236–239. https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Evaluation+of+antifungal+activity+of+Acanthus+ilicifolius+against+dermatophytes+causing+superficial+mycoses&author=Sivakumar&publication_year=2014