

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

AKTIVITAS ANTIFUNGI EKSTRAK ETANOL DAUN DARUJU (*Acanthus ilicifolius* Linn.) TERHADAP *Malassezia furfur*

Arih Humairo

Universitas Tanjungpura Pontianak, Indonesia
arhumairo@gmail.com

Abstrak

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi aktivitas antifungi dari ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur*, jamur lipofilik yang dapat menyebabkan gangguan kulit seperti pityriasis versicolor dan dermatitis seboroik. Tanaman daruju dikenal sebagai tanaman obat tradisional yang telah digunakan untuk mengatasi berbagai gangguan kesehatan, termasuk infeksi kulit. Dalam penelitian ini, dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder dalam ekstrak etanol daun daruju, diikuti dengan uji aktivitas antifungi menggunakan metode difusi cakram pada berbagai konsentrasi (10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%) dengan pelarut etanol. Hasil skrining menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun daruju mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Namun, hasil uji aktivitas antifungi menunjukkan bahwa tidak terdapat zona hambat pertumbuhan *Malassezia furfur* pada semua konsentrasi yang diuji, yang mengindikasikan bahwa ekstrak ini tidak memiliki aktivitas antifungi terhadap jamur tersebut pada konsentrasi tersebut. Temuan ini menunjukkan bahwa meskipun ekstrak etanol daun daruju mengandung metabolit sekunder yang diketahui memiliki potensi bioaktif, namun belum efektif untuk menghambat pertumbuhan *Malassezia furfur* dalam kondisi dan konsentrasi yang digunakan. Penelitian lanjutan diperlukan untuk mengeksplorasi metode ekstraksi lain, konsentrasi yang lebih tinggi, atau formulasi tambahan untuk meningkatkan efektivitas antifungi ekstrak ini.

Kata Kunci: Antifungi, *Acanthus ilicifolius* Linn., *Malassezia furfur*.

Abstract

This study aimed to evaluate the antifungal activity of ethanol extract of *Acanthus ilicifolius* Linn. leaves against the growth of *Malassezia furfur*, a lipophilic fungus known to cause skin disorders such as pityriasis versicolor and seborrheic dermatitis. *Acanthus ilicifolius* Linn. is a traditional medicinal plant used to treat various ailments, including dermatological conditions. Phytochemical screening was conducted to identify the presence of secondary metabolites in the ethanol extract, followed by antifungal testing using the disk diffusion method at concentrations of 10%, 15%, 20%, 25%, and 30% with ethanol as a solvent. The phytochemical results indicated the presence of alkaloids, flavonoids, phenols, steroids, and terpenoids. However, no inhibition zones were observed at any concentration tested, indicating that the extract lacked antifungal activity against *Malassezia furfur* under these experimental conditions. These findings suggest that although the extract contains potentially bioactive compounds, it is not effective in inhibiting *Malassezia furfur* at the tested concentrations. Further research is recommended to explore alternative extraction techniques, higher concentrations, or enhanced formulations to potentially increase its antifungal efficacy.

Keywords: Antifungal, *Acanthus ilicifolius* Linn., *Malassezia furfur*

PENDAHULUAN

Penyakit infeksi disebabkan oleh mikroorganisme patogen, misalnya bakteri, parasit, virus, atau jamur.¹ Banyak permukaan tubuh manusia yang berkomunikasi dengan lingkungan eksternal mendukung flora normal, tetapi mikroorganisme ini biasanya tidak menyerang dan menyebabkan penyakit. Pada beberapa keadaan, flora normal ini dapat menyerang dan menghasilkan infeksi.² Penyakit infeksi banyak menyebabkan kematian di seluruh dunia, termasuk Indonesia. Penyakit infeksi di Indonesia meningkat setiap tahunnya dikarenakan kurangnya kesadaran masyarakat tentang pentingnya kebersihan, serta jumlah penduduk yang padat.³ Penyakit infeksi akibat fungi sering ditemukan di Indonesia. Penyakit infeksi fungi di Indonesia didukung oleh iklim yang tropis. Iklim tropis dengan kelembaban udara yang tinggi dapat mendorong pertumbuhan fungi.

Infeksi fungi yang memiliki insiden paling tinggi disebabkan oleh fungi anggota flora normal.⁴ Salah satu fungi anggota flora normal pada kulit manusia yaitu *Malassezia*. Pada waktu tertentu, *Malassezia* juga memiliki kemampuan untuk hidup sebagai patogen dan menyebabkan kelainan misalnya *pityriasis versicolor*, dermatitis seboroik atau ketombe.⁵ Fungi ini menyerang stratum korneum dari epidermis kulit, biasanya diderita oleh orang yang sudah mulai banyak beraktifitas dan mengeluarkan keringat.⁶ *Pityriasis versicolor* akibat dari infeksi *Malassezia furfur* di Indonesia masih sulit untuk diketahui, tetapi dari beberapa rumah sakit menunjukkan bahwa jumlah penderita *pityriasis versicolor* ini cukup tinggi yaitu 40%.⁷ Penatalaksanaan dari *pityriasis versicolor* biasanya dengan menggunakan obat antifungi.⁸

Perkembangan agen antifungi telah tertinggal dari agen antibakteri. Alasan dari lambatnya perkembangan antifungi ini karena fungi merupakan eukariotik yang memiliki hubungan evolusi dekat dengan manusia, sehingga mempersulit pencarian target antifungi.⁹ Fenomena resistensi antifungi masih menjadi pusat perhatian utama dalam praktik klinis walaupun adanya perbaikan terapi antifungi selama 30 tahun terakhir.¹⁰ Resistensi antifungi yang tersedia saat ini dapat mengembangkan mekanisme sekunder yang diperoleh setelah terpapar obat.¹¹

Indonesia telah lama menggunakan tumbuhan yang berkhasiat obat untuk menanggulangi masalah kesehatan. Penggunaan obat herbal dinilai lebih aman pemakaiannya dibandingkan dengan obat modern, dikarenakan efek samping yang relatif lebih kecil dibandingkan dengan obat modern.¹² Pengetahuan masyarakat tentang khasiat obat herbal dan keamanan tumbuhan obat hanya diperoleh dari informasi secara turun temurun dan belum semuanya teruji secara ilmiah. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian terhadap tumbuhan yang berkhasiat obat agar dapat digunakan dengan aman.

Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) merupakan salah satu tumbuhan yang memiliki khasiat sebagai obat dan dapat tumbuh di daerah tropis seperti Indonesia. Tumbuhan ini biasanya dapat ditemukan pada daerah di tepi sungai, daerah pasang surut, maupun hutan mangrove.¹³ Tanaman ini telah digunakan secara tradisional untuk dispepsia, kelumpuhan, asma, sakit kepala, rematik, dan penyakit kulit. Daruju ini kaya akan steroid, triterpenoid, saponin, flavonoid, alkaloid, dan tanin.¹⁴ Senyawa flavonoid ini memperlihatkan aktivitas antifungi, diuretik, antihistamin, antihipertensi, insektisida, bakterisida, antivirus, serta menghambat kerja enzim.¹⁵ Penelitian sebelumnya terkait tanaman daruju oleh Dharya Singh dan Vidhu Aeri didapatkan hasil bahwa ekstrak alkohol dan kloroform daun daruju memiliki aktivitas antifungi dengan penghambatan kuat pada *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Aspergillus niger*.¹⁴

Berdasarkan pemaparan tersebut, telah disebutkan bahwa daun daruju digunakan untuk mengobati penyakit kulit. *Malassezia furfur* merupakan fungi yang dapat

menyebabkan kelainan pada kulit sehingga perlu dilakukan penelitian untuk membuktikan aktivitas antifungi ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Malassezia furfur*.

Penelitian terdahulu oleh Singh dan Aeri (2017) menunjukkan bahwa ekstrak alkohol dan kloroform daun *Acanthus ilicifolius* memiliki aktivitas antifungi yang signifikan terhadap spesies *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, dan *Aspergillus niger* dengan zona hambat yang kuat. Namun, fokus penelitian ini hanya terbatas pada jamur non-lipofilik dan tidak menyertakan *Malassezia furfur*, padahal *Malassezia* merupakan bagian dari flora normal kulit yang juga berpotensi menjadi patogen oportunistik pada kondisi tertentu. Studi lain oleh Rameshkumar et al. (2011) mengidentifikasi kandungan senyawa aktif dalam *Acanthus ilicifolius*, seperti flavonoid dan tanin, yang diketahui memiliki potensi antimikroba, tetapi penelitian ini belum secara spesifik menguji efeknya terhadap *Malassezia furfur*, terutama dalam bentuk ekstrak etanol. Kelemahan umum dari kedua studi tersebut adalah belum adanya uji bioaktivitas terhadap *Malassezia furfur*, yang secara klinis relevan sebagai penyebab pityriasis versicolor.

Penelitian ini hadir untuk mengisi gap tersebut dengan menyelidiki secara spesifik efektivitas ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* Linn. terhadap *Malassezia furfur* menggunakan pendekatan fitokimia dan uji difusi cakram. Dengan demikian, penelitian ini tidak hanya memperluas cakupan spektrum jamur uji terhadap tanaman daruju, tetapi juga memberikan evaluasi empiris terhadap penggunaannya sebagai alternatif pengobatan penyakit kulit akibat *Malassezia furfur*.

Penelitian ini bertujuan untuk mengevaluasi potensi aktivitas antifungi ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* Linn. terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur*, yang merupakan penyebab umum pityriasis versicolor. Manfaat penelitian ini adalah memberikan bukti ilmiah mengenai efektivitas tanaman daruju sebagai alternatif pengobatan herbal, sekaligus memperkaya literatur ilmiah terkait tanaman obat tradisional Indonesia. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menjadi dasar bagi pengembangan fitofarmaka dan terapi topikal berbasis alam yang lebih aman dan ramah lingkungan dibandingkan antifungi sintetis yang sering menimbulkan resistensi dan efek samping.

METODE PENELITIAN

Penelitian yang dilakukan merupakan penelitian eksperimental murni secara *in vitro* dengan rancangan acak lengkap *posttest 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.), skrining fitokimia larutan uji, dan uji aktivitas antifungi larutan uji terhadap *Malassezia furfur*. Penelitian ini menguji daya hambat ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Malassezia furfur*.

Perhitungan dan Pengulangan Percobaan

Kelompok perlakuan dalam penelitian ini berjumlah lima kelompok dengan konsentrasi ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) 10%, 15%, 20%, 25%, 30%, serta dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif (ketokonazole 2%) dan kontrol negatif (DMSO 10%).

Banyaknya pengulangan yang akan dilakukan dalam penelitian ini dihitung dengan menggunakan rumus Federer dengan $t = \text{jumlah kelompok}$ dan $n = \text{jumlah pengulangan}$ sebagai berikut.¹⁶

$$(n-1)(t-1) \geq 15$$

$$(n-1)(7-1) \geq 15$$

$$6(n-1) \geq 15$$

$$6n - 6 \geq 15$$

$$6n \geq 15 + 6$$

$$6n \geq 21$$

$$n \geq 3,5 \text{ (Pembulatan 4)}$$

Dari perhitungan tersebut, maka penelitian dapat dilakukan dengan pengulangan sebanyak 4 kali menggunakan metode eksperimen Rancangan Acak Lengkap (RAL).

Pengambilan dan Persiapan Tumbuhan

Penelitian ini menggunakan tumbuhan daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang diambil dari Sambas, Kalimantan Barat. Adapun penelitian ini menggunakan sampel daun daruju yang akan diujikan pada *Malassezia furfur*.

Pembuatan Simplisia

Langkah-langkah dalam pembuatan simplisia yaitu bahan baku dipanen 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. Kemudian sortasi basah adalah pemilahan hasil panen ketika tanaman masih segar. Sortasi dilakukan terhadap tanah dan kerikil, rumput-rumputan, bahan tanaman lain atau bagian lain dari tanaman yang tidak digunakan, bagian tanaman yang rusak dimakan ulat dan sebagainya. Setelah itu dilakukan pencucian untuk membersihkan kotoran yang melekat dengan menggunakan air bersih yang mengalir sebanyak 3 kali. Bahan baku dirajang kasar menjadi potongan-potongan kecil. Perajangan dilakukan untuk mempermudah proses pengeringan, pengepakan, dan penggilingan. Bahan baku yang telah dirajang dikeringkan secara tidak langsung di bawah sinar matahari yaitu dengan cara diangin-anginkan untuk menghindari kerusakan senyawa aktifnya. Proses pengeringan ini dimaksudkan untuk mengurangi kadar air, menghentikan reaksi enzimatik dan mencegah tumbuhnya fungi sehingga dapat disimpan lebih lama. Bahan baku yang telah mengalami proses pengeringan dinamakan simplisia. Simplisia disortasi kering dengan cara memisahkannya dari simplisia yang gosong, rusak atau terkena kotoran. Simplisia yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender sehingga diperoleh serbuk simplisia daun daruju. Simplisia disimpan didalam wadah yang kedap, disimpan di tempat yang sering dan bersih serta dijauhkan dari sinar matahari secara langsung.^{17,18,19}

Ekstraksi Simplisia Daun Daruju

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun daruju dimasukkan kedalam bejana maserasi kemudian dilakukan maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% sampai serbuk simplisia terendam semua. Kemudian ditutup dan didiamkan sambil sesekali diaduk. Proses maserasi dilakukan dengan mengganti pelarut tiap 1x24 jam selama tiga hari. Hasil maserasi dikumpulkan dan disaring. Filtratnya kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol daun daruju. Pengentalan ekstrak dilanjutkan menggunakan *water bath*.²⁰

Pemeriksaan Susut Pengeringan Ekstrak

Penetapan susut pengeringan adalah pengukuran sisa zat setelah pengeringan pada temperatur 105°C selama 30 menit atau sampai berat konstan yaitu tidak terjadi lagi perubahan bobot atau tidak terjadi lagi perubahan yang signifikan (tidak lebih dari 5%).²¹ Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 gram dan dimasukkan kedalam botol timbang dangkal tertutup yang sebelumnya telah dipanaskan pada suhu penetapan 105°C selama 30 menit dan telah ditara. Sebelum ditimbang ekstrak diratakan dalam botol

timbang dengan menggoyangkan botol. Kemudian dimasukkan ke dalam lemari pengering, buka tutupnya, keringkan beserta tutup botolnya pada suhu 105°C hingga bobot tetap. Botol harus segera ditutup jika lemari pengering dibuka. Masukkan botol kedalam desikator, biarkan dingin. Kemudian lanjutkan pengeringan pada suhu 105°C sampai bobot tetap yakni pengeringan harus dilanjutkan hingga perbedaan dua kali penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,50 mg untuk tiap gram zat yang digunakan, penimbangan kedua dilakukan setelah dipanaskan lagi selama satu jam. Penetapan susut pengeringan ekstrak dapat dihitung dengan menggunakan rumus berikut:²²

$$\text{Susut Pengeringan} = \frac{a-b}{a} \times 100\%$$

Keterangan: a = berat awal ekstrak b = berat akhir ekstrak

Jenis ekstrak ditentukan dengan melihat % susut pengeringan. Jika % susut pengeringan berada dalam kisaran 0-5% berarti ekstrak kering, jika dalam kisaran 5-30% termasuk ekstrak kental dan apabila berada dalam kisaran > 30% termasuk dalam ekstrak cair.¹⁸

Analisis Fitokimia

Pemeriksaan Alkaloid

Beberapa mL ekstrak daun daruju dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 1 mL HCl 2 N, filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Kemudian ditambahkan 2 tetes pereaksi Dragendroff pada tabung reaksi. Hasil positif ditandai dengan adanya terbentuk endapan orange pada tabung reaksi.²³

Pemeriksaan Fenol

Sebanyak 1 mL ekstrak daun daruju dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes air panas dan beberapa tetes pereaksi besi (III) klorida 1%. Perubahan warna larutan menjadi warna hijau, biru, atau ungu menunjukkan adanya senyawa fenol.²⁴

Pemeriksaan Flavonoid

Ekstrak sebanyak 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan sedikit serbuk Mg dan beberapa tetes larutan HCl pekat. Hal positif jika warna larutan berubah menjadi merah, jingga atau kuning.²³

Pemeriksaan Saponin

Identifikasi senyawa saponin dilakukan dengan cara mencampurkan sebanyak 1 mL ekstrak daun daruju ditambah dengan 5 mL akuades, kemudian dipanaskan selama lima menit. Kemudian dikocok kuat secara vertikal selama sepuluh detik. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa yang stabil setinggi 1-10 cm selama sepuluh menit.²⁵

Pemeriksaan Steroid dan Triterpenoid

Uji steroid dan triterpenoid menggunakan metode Liebermann-Bouchard, ekstrak dilarutkan dalam kloroform kemudian ditambah pereaksi Liebermann-Bouchard (asam asetat anhidrat-H₂SO₄). Reaksi triterpenoid dengan pereaksi Liebermann menghasilkan warna merah-ungu sedangkan steroid memberikan warna hijau-biru.²⁶

Sterilisasi Alat

Sterilisasi alat dan bahan pengujian aktivitas antifungi yang tahan panas dibungkus menggunakan kertas coklat dan dimasukkan ke dalam autoklaf pada suhu 121°C dengan tekanan sebesar 15 psi selama 15 menit. Peralatan atau bahan yang tidak tahan panas disterilisasi dengan merendamnya dalam alkohol 70%.²⁷

Pembuatan Media

Pembuatan media dilakukan dengan mencampurkan 20 gram glukosa, 10 gram pepton, dan 15 gram agar, kemudian dilarutkan dalam 1 liter akuades. Setelah mendidih, ditambahkan 10 mL minyak zaitun (*olive oil*) dan 0,5 gram kloramfenikol. Media ini kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit.²⁵

Karakterisasi Fungi Uji

Pewarnaan *Malassezia furfur* dilakukan dengan meletakkan isolat fungi di atas kaca objek dilebarkan kemudian dilakukan fiksasi. Kemudian ditetaskan kristal violet sebanyak 3-5 tetes selama 5 menit lalu dicuci dengan air mengalir. Kemudian teteskan lugol selama 45-60 detik lalu bilas dengan air mengalir. Setelah itu teteskan alkohol selama 30 detik lalu bilas dengan air. Terakhir teteskan safranin sebanyak 2-3 tetes selama 1-2 menit lalu bilas dengan air mengalir dan dikeringkan. Lihat pada mikroskop dengan perbesaran 100x.²⁸

Penyiapan Fungi Uji

Peremajaan Fungi Uji

Fungi *Malassezia furfur* biakan murni yang diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia diambil satu ose lalu ditanam pada media SDA. Kemudian media SDA yang telah ditanam biakan fungi, diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam hingga didapatkan koloni fungi *Malassezia furfur*.²⁹

Pembuatan Suspensi Fungi

Koloni fungi *Malassezia furfur* diambil satu ose kemudian dimasukkan ke dalam NaCl 0,9% dan dikocok hingga homogen untuk disamakan kekeruhan dengan standar Mc Farland 0,5.²⁹

Kontrol Positif dan Kontrol Negatif

Kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini adalah ketokonazole 2%. Kontrol negatif yang digunakan dalam penelitian ini adalah DMSO 10%.

Uji Sensitivitas Antifungi Ketokonazole

Suspensi diambil dan diratakan pada media *Sabouraud Dextrose Agar*. Pada permukaan media diberi disk antifungi ketokonazole. Ketokonazole 2% dibuat dengan cara menimbang 0,02 gr ketokonazole kemudian dilarutkan dengan akuades steril sebanyak 1 mL.³⁰ Kemudian diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 37°C. Zona bening atau zona inhibisi yang terbentuk di sekitar disk menandakan adanya sensitivitas terhadap fungi uji.

Pengujian Antifungi

Pengujian daya hambat ekstrak etanol daun daruju terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur* dilakukan dengan metode difusi kertas cakram. Medium SDA yang diperkaya minyak zaitun dituangkan sebanyak 20 mL ke dalam cawan petri, kemudian dibiarkan membeku. Setelah media membeku, suspensi fungi diapus dengan menggunakan *cotton stick* steril. Setelah itu, masing-masing kertas cakram berukuran 6 mm sebanyak 4 buah diletakkan diatas media SDA tersebut dengan jarak tiap cakram sebesar 3 cm dan dari tepi lempeng sebesar 2 cm.³⁰

Kertas cakram yang sudah direndam dalam larutan ekstrak daun daruju dari berbagai konsentrasi, kontrol positif ketokonazole 2%, dan kontrol negatif DMSO 10% selama 15 menit, selanjutnya diletakkan pada biakan fungi *Malassezia furfur* yang sudah diapus pada media SDA. Patri uji diinkubasi selama 72 jam dengan suhu 37°C. Pengukuran zona hambat dilakukan setelah 72 jam. Perlakuan diulang empat kali untuk tiap konsentrasi.²⁵ Kemudian diameter zona hambat diukur menggunakan jangka sorong. Setelah itu klasifikasikan tingkat responnya berdasarkan tabel 3.5 sebagai berikut.²⁵

Tabel 1 Klasifikasi Zona Hambat Antifungi

Zona Hambat	Daya Hambat
≤ 5 mm	Lemah
6-10 mm	Sedang
11-20 mm	Kuat
> 20 mm	Sangat kuat

Analisis Data

Data hasil penelitian yang diperoleh selanjutnya akan diuji 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 *Malassezia furfur*. 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.³¹

HASIL DAN PEMBAHASAN

Determinasi Tanaman

Tanaman daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari tanaman yang tumbuh di Kabupaten Sambas, Kalimantan Barat. Daun yang diperoleh diambil sebagai sampel untuk dideterminasi. Proses determinasi dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Bagian tanaman yang digunakan untuk determinasi adalah semua organ tumbuhan yaitu daun, akar, batang, bunga, dan biji. Berdasarkan hasil determinasi diketahui bahwa tanaman daruju berasal dari famili *Acanthaceae*, genus *Acanthus*, dan spesies *Acanthus ilicifolius* Linn.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia daun daruju dilakukan di Laboratorium Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura. Proses ini bertujuan untuk melihat kadar senyawa metabolit sekunder secara kualitatif yang terkandung dalam ekstrak. Adapun metabolit sekunder yang diujikan pada penelitian ini diantaranya yaitu alkaloid, flavonoid, steroid/terpenoid, saponin dan fenol.

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 reagen FeCl_3 . Identifikasi saponin dilakukan dengan menggunakan teknik uji Froth. Senyawa saponin akan memberikan hasil positif berupa buih karena adanya glikosida yang terhidrolisis menjadi glukosa dalam air. Hasil uji saponin terhadap ekstrak etanol daun daruju terlihat pada gambar berikut.



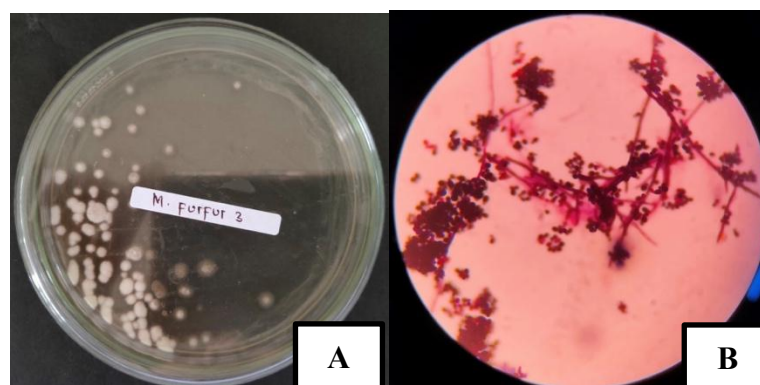
Gambar 1. Hasil Uji Saponin Ekstrak Etanol Daun Daruju
Sumber: Data Primer, 2020

Hasil uji fitokimia ekstrak etanol daun daruju dipresentasikan dalam kadar kualitatif dengan pengamatan secara visual mata. Adapun hasil ujinya disajikan pada tabel berikut.

Tabel 2 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Daruju	
Metabolit Sekunder	Keterangan
Alkaloid	+
Flavonoid	+++
Fenol	+++
Steroid	+
Terpenoid	+++
Saponin	-
Keterangan: Banyak (+++), Sedikit (+), Tidak Ada (-)	
Sumber: Data Primer, 2020	

Karakteristik Fungi Uji

Pada penelitian ini menggunakan fungi uji yaitu *Malassezia furfur* yang diperoleh dari Laboratorium Parasitologi Universitas Indonesia. Kemudian peremajaan fungi uji tersebut dilakukan di Laboratorium Mikroskopik Fakultas Kedokteran Universitas Tanjungpura. Hasil karakterisasi fungi uji berupa pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis dapat dilihat pada gambar berikut.



Gambar 2. Hasil pemeriksaan *Malassezia furfur*
Sumber: Data Primer, 2020

A. Pada Media SDA Hari Ke-2 B. Pemeriksaan Mikroskopis Perbesaran 100x

Pada pemeriksaan makroskopis terlihat koloni seperti bakteri berwarna krem dalam media SDA. Pada pemeriksaan mikroskopis dengan menggunakan mikroskop perbesaran 100x terlihat koloni fungi *Malassezia furfur* dengan hifa pendek, makrokonidia, dan mikrokonidia.

Aktivitas Antifungi

Hasil pengamatan aktivitas antifungi ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap *Malassezia furfur* setelah diinkubasi pada suhu 37°C selama 3 hari dapat dilihat dalam tabel berikut.

Tabel 3 Hasil Aktivitas Antifungi

No	Konsentrasi dalam persen (mg/100mL)	Diameter Zona Hambat				Rata-rata Hasil Aktivitas (mm)
		Pengulangan ke-				
		I	II	III	IV	
1	10	0	0	0	0	0
2	15	0	0	0	0	0
3	20	0	0	0	0	0
4	25	0	0	0	0	0
5	30	0	0	0	0	0
6	Kontrol Positif	48,4	48,6	48,2	48,4	48,4
7	Kontrol Negatif	0	0	0	0	0

Sumber: Data Primer, 2020

Analisis Metabolit Sekunder

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang telah dilakukan, metabolit sekunder yang terdapat pada ekstrak etanol daun daruju yaitu alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Pada penelitian ini, didapatkan bahwa ekstrak etanol daun daruju mengandung alkaloid yang ditunjukkan dengan endapan orange pada tabung reaksi. Alkaloid merupakan senyawa metabolit sekunder terbanyak yang memiliki atom nitrogen, yang ada pada jaringan tumbuhan dan hewan. Sebagian besar alkaloid bersumber dari tumbuh-tumbuhan terutama angiosperm. Alkaloid banyak terdapat pada tanaman baik bagian akar, batang, daun, maupun biji yang berfungsi sebagai racun untuk melindunginya dari serangga dan herbivora. Alkaloid berkhasiat sebagai anti-diare, anti-diabetes, dan antimikroba.³²

Kemudian ekstrak etanol daun daruju juga mengandung flavonoid. Hal ini ditunjukkan dengan terbentuknya warna kuning pekat yang dikarenakan dalam serum sulfat terdapat asam sulfat yang bersifat reduktor dalam merusak gugus kromosfer dari zat aktif.³³ Flavonoid merupakan metabolit sekunder dari polifenol yang ditemukan secara luas pada tanaman dan juga makanan serta memiliki efek bioaktif seperti antivirus, antiinflamasi, antidiabetes, anti kanker, dan lain sebagainya. Efek bioaktif pada flavonoid dianggap sebagai fitokimia terpenting dalam makanan yang memiliki manfaat biologis bagi manusia.³⁴ Senyawa flavonoid memiliki aktivitas antifungi, yaitu dengan cara

mengikat fosfolipid pada membran sel fungi sehingga mengganggu permeabilitas membran sehingga menyebabkan terjadinya kerusakan dinding sel fungi.³⁵

Steroid dan terpenoid masing-masing secara berurutan menghasilkan warna biru dan merah kecoklatan. Hal ini dikarenakan kemampuan senyawa triterpenoid dan steroid membentuk warna oleh H₂SO₄ dalam pelarut asam asetat aldehyd dan perbedaan warna yang terjadi dikarenakan perbedaan gugus atom pada C-4.²⁶ Senyawa golongan terpenoid juga memiliki potensi aktivitas antimikroba.

Pada ekstrak etanol daun daruju tidak mengandung saponin, karena tidak terbentuk busa setelah dikocok kuat. Saponin mempunyai gugus glikosil serta gugus steroid dan triterpenoid. Gugus glikosil sebagai gugus polar dan gugus steroid dan triterpenoid sebagai gugus nonpolar sehingga bersifat aktif permukaan dan membentuk misel saat dikocok. Struktur misel gugus polar menghadap luar sedangkan gugus nonpolar menghadap dalam, sehingga tampak sebagai busa.²⁶

Analisis Karakteristik Fungi

Fungi uji *Malassezia furfur* dalam penelitian ini didapatkan dari Laboratorium Parasitologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia. Analisis fungi dilakukan dengan pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis. Pada pemeriksaan makroskopis didapatkan koloni berwarna krem pada media SDA yang menyerupai koloni bakteri. Kemudian pada pemeriksaan mikroskopis dengan menggunakan pewarnaan gram, tampak sel yang berbentuk bulat dengan hifa yang pendek dan tidak bercabang, serta spora yang berbentuk oval. Selain itu, tampak bentuk seperti *spagetti and meatball*. Hasil dari pemeriksaan makroskopis dan pemeriksaan mikroskopis pada *Malassezia furfur* ini ditemukan sesuai dengan literatur.^{25,36}

Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Daun Daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.)

Aktivitas antifungi ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dilakukan dengan metode difusi kertas cakram. Penelitian dilakukan dengan lima kelompok variasi konsentrasi ekstrak etanol daun daruju yaitu 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30%, serta dua kelompok kontrol yaitu kontrol positif (ketokonazol 15µg) dan kelompok negatif (DMSO 10%).

Hasil aktivitas antifungi pada kontrol positif (ketokonazol 15µg) didapatkan rata-rata diameter zona hambat sebesar 48,4 mm. Rata-rata diameter tersebut menunjukkan bahwa ketokonazol memiliki daya hambat yang sangat kuat. Ketokonazol merupakan obat antifungi golongan imidazol. Ketokonazol merupakan salah satu antifungi sintetik yang memiliki spektrum luas dan bersifat fungistatik.¹⁷ Ketokonazol bekerja dengan menghambat ergosterol yang merupakan komponen penting dari membran fungi.

Hasil dari kontrol negatif pada penelitian ini menggunakan DMSO 10% tidak menunjukkan adanya zona hambat pada sekitar cakram. Hal ini membuktikan bahwa pelarut yang digunakan dalam penelitian ini tidak mempengaruhi aktivitas antifungi. DMSO merupakan pelarut untuk bahan uji ataupun ekstrak. Selain sebagai pelarut, DMSO juga merupakan senyawa kimia yang memiliki toksisitas rendah.³⁷

Pengujian aktivitas antifungi dengan ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) dengan variasi konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% tidak ditemukan adanya zona hambat pada sekitar cakram. Hal yang perlu diperhatikan yaitu fungi *Malassezia furfur* dan juga ekstrak etanol daun daruju. Faktor yang dapat mempengaruhinya yaitu faktor teknis, faktor biologis, dan ekstrak.³⁸

Perlekatan senyawa pada permukaan sel atau berdifusinya senyawa tersebut ke dalam sel fungi menyebabkan penghambatan antifungal.³⁹ Antifungi dapat bekerja dengan menghambat pembentukan membran sel, yaitu dengan menghambat

pembentukan ergosterol, berikatan dengan ergosterol dan mengganggu keutuhan membran sel, serta menghambat *squalene epoxide* yang mengubah *squalene* menjadi ergosterol.⁵ Ergosterol merupakan sterol yang paling banyak terdapat pada membran sel fungi yang berperan mengatur permeabilitas dan fluiditas. Karena fungsinya yang sangat penting, sifat struktural yang unik, serta langkah biosintetik yang khas, sehingga ergosterol menjadi target dari sebagian besar antifungi yang tersedia secara klinis.⁴⁰

Berdasarkan hasil dari skrining fitokimia ekstrak etanol daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Senyawa-senyawa tersebut memiliki mekanisme antifungi yang berbeda-beda. Alkaloid merupakan zat aktif dari tanaman yang memiliki aktivitas antifungi dengan menghambat esterase serta DNA dan RNA polimerase, menghambat respirasi sel dan berperan dalam interkalasi DNA.⁴¹ Senyawa fenol, flavonoid, saponin, tanin, steroid, dan terpenoid memiliki aktivitas antifungi dengan mengganggu permeabilitas membran sel fungi.⁴²

Senyawa golongan fenolik, seperti flavonoid, tanin, dan juga polifenol memiliki aksi antifungi dengan mengganggu membran sel, disfungsi mitokondria, menghambat pembentukan dinding sel, serta menghambat pembelahan sel. Flavonoid mampu mengganggu hemostasis mitokondria tanpa menyebabkan meningkatnya level ROS intraseluler dan tidak melibatkan apoptosis. Senyawa flavonoid juga menunjukkan kemampuan mengganggu integritas membran sel fungi. Selain itu, ada senyawa alkaloid yang melakukan mekanisme antifungi dengan mengganggu membran sel, terutama dengan menghambat biosintesis ergosterol atau membentuk kompleks dengan ergosterol.⁴³

Senyawa fenol bekerja dengan berinteraksi dengan protein membran sel melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen dengan cara berikatan pada bagian hidrofilik dari membran sel. Kompleks protein dan senyawa fenolik terbentuk dengan ikatan yang lemah sehingga akan mengalami penguraian diikuti dengan penetrasi senyawa fenolik ke dalam membran sel sehingga terjadi presipitasi dan denaturasi protein membran sel. Kerusakan pada membran sel menyebabkan terjadinya perubahan permeabilitas membran sehingga membran sel fungi lisis. Terpenoid, termasuk triterpenoid dan steroid, merupakan senyawa bioaktif yang memiliki fungsi sebagai antifungi. Senyawa-senyawa ini dapat menghambat pertumbuhan fungi melalui dua cara yaitu dengan mengganggu membran sitoplasma fungi serta mengganggu pertumbuhan dan perkembangan spora fungi.⁴⁴

Pada penelitian ini, ekstrak etanol daun daruju tidak mampu memberikan efek antifungi terhadap *Malassezia furfur* diduga karena kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun daruju tidak dapat berikatan secara spesifik dengan ergosterol serta jumlah kandungan dari metabolit sekunder yang dimiliki oleh ekstrak etanol daun daruju tidak adekuat untuk memberikan efek antifungi terhadap *Malassezia furfur*. Dalam penelitian ini hanya diketahui kandungan metabolit sekunder yang ada ditemukan pada ekstrak etanol daun daruju, namun untuk jumlah kandungan yang terdapat pada ekstrak etanol daun daruju tidak dapat ditentukan.

Malassezia furfur pada penelitian ini dipilih karena dapat menyebabkan *pityriasis versicolor* dengan faktor predisposisi kelembaban udara, keringat, malnutrisi dan sebagainya.⁴⁵ Iklim tropis di Indonesia menyebabkan seseorang mudah terinfeksi fungi yang merupakan flora normal pada tubuh manusia ini. Infeksi *Malassezia furfur* ditandai dengan adanya makula hipopigmentasi atau hiperpigmentasi berbatas tegas, skuama halus disertai gatal, dan serpentin.⁴⁶ *Malassezia furfur* merupakan fungi lipofilik dimorfik yang dapat membentuk morfologi yang berbeda pada keadaan atau suhu yang berbeda.

Perubahan morfologi fungi dari kapang menjadi khamir diperlukan dalam virulensi. Perubahan tersebut tidak hanya dalam bentuk sel namun juga komposisi dinding sel, adanya molekul antigenik serta ekspresi sifat virulensi.⁴⁷

Malassezia furfur memiliki dinding sel yang tebal. Hal ini juga dapat menyebabkan kandungan senyawa metabolit sekunder dari ekstrak etanol daun daruju tidak dapat berdifusi ke dalam sel fungi. Selain itu, fungi yang diremajakan berulang dapat menyebabkan adanya peningkatan jumlah sel fungi sehingga ekstrak etanol daun daruju yang diberikan tidak dapat berdifusi ke dalam sel fungi dan mengganggu permeabilitas membran sel fungi sehingga pertumbuhan fungi tidak terhenti karena terjadinya mutasi yang menimbulkan ekspresi berlebihan dari sel fungi.⁴⁸

Beberapa fungi dapat menunjukkan mekanisme *switch phenotypes* sehingga memiliki beberapa morfologi yang berubah-ubah agar dapat beradaptasi dengan lingkungan penjamu. Beberapa fungi juga mempunyai *biofilm* yang dapat menyebabkan fungi tersebut kurang suseptibel terhadap antifungi.⁴⁹ *Malassezia furfur* dapat memproduksi *biofilm* dikarenakan amiloid membentuk infrastruktur *biofilm*. Imunosupresi, hiperhidrosis, meningkatkan risiko patogenesis. Keringat juga telah terbukti dapat menjadi pemicu penting produksi *biofilm* dikarenakan mengandung komponen air dan garam.⁵⁰

Penelitian ini jika dibandingkan dengan penelitian oleh Tuti Alawiyah tahun 2016 dengan fungi yang sama, namun dengan menggunakan ekstrak teripang darah didapatkan hasil adanya zona hambat ekstrak terhadap *Malassezia furfur*. Pada penelitian tersebut menggunakan ekstrak teripang darah yang merupakan ekstrak hewan sehingga memiliki kandungan metabolit sekunder yang berbeda dengan ekstrak daun daruju. Pada penelitian tersebut terdapat metabolit sekunder yaitu alkaloid, triterpenoid, dan saponin. Interaksi antara saponin dan alkaloid diduga menimbulkan efek antifungi. Jika dibandingkan dengan penelitian ini, kandungan metabolit sekunder pada ekstrak etanol daun daruju mengandung alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, terpenoid namun tidak mengandung saponin.

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun *Acanthus ilicifolius* Linn. mengandung metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, fenol, steroid, dan terpenoid. Meskipun terdapat senyawa bioaktif yang dikenal sebagai antimikroba, ekstrak etanol pada konsentrasi 10%, 15%, 20%, 25%, dan 30% tidak menunjukkan aktivitas antijamur terhadap *Malassezia furfur*, yang ditunjukkan dengan tidak adanya zona hambat pada semua kelompok yang diuji. Hal ini menunjukkan bahwa kisaran konsentrasi yang diuji tidak cukup untuk mendapatkan respon bioaktif, atau bahwa senyawa yang ada tidak efektif terhadap jamur lipofilik seperti *M. furfur*. Untuk penelitian selanjutnya, disarankan untuk mengeksplorasi metode ekstraksi lain (misalnya, menggunakan pelarut non-polar), mengisolasi senyawa aktif tertentu, atau menguji kombinasi sinergis dengan agen antijamur yang dikenal untuk meningkatkan kemanjuran. Selain itu, pengujian pada strain lain dari *Malassezia* dan dermatofita dengan spektrum yang lebih luas dapat memberikan lebih banyak wawasan tentang aplikasi antijamur potensial dari *A. ilicifolius*.

REFERENSI

1. World Health Organization. Infectious disease; 2019. Available from: https://www.who.int/topics/infectious_diseases/en/
2. Baron S. Medical microbiology. 4th edition. Galveston, Texas: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996.
3. Nursidika P, Saptarini O, Rafiqua N. Aktivitas antimikrob fraksi ekstrak etanol buah pinang (*Areca catechu L.*) pada bakteri methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. Bandung: Majalah Kedokteran Bandung. 2014; 46(2):94-99.
4. Jawetz, Melnick, Adelberg. Jawetz, Melnick, & Adelberg's medical microbiology. 23th edition. Alih bahasa: dr. Huriawati Hartanto dkk. Jakarta: EGC; 2008.
5. Thayikkannu AB, Kindo AJ, Mahalakshmi V. *Malassezia*: Can it be ignored?. Indian Journal of Dermatology. 2015; 60(4):332-339.
6. Hayati I, Handayani ZP. Identifikasi jamur *Malassezia furfur* pada nelayan penderita penyakit kulit di RT 09 Kelurahan Malabro Kota Bengkulu. Jurnal Gradien. 2014; 10(1):972-975.
7. Mustofa A, Budiastuti A, Farida H. Prevalensi dan faktor resiko terjadinya *Pityriasis versicolor* pada polisi lalu lintas Kota Semarang. Jurnal Media Medika Muda. 2014; 3(1):1-13.
8. Gupta AK, Foley KA. Antifungal treatment for *pityriasis versicolor*. Journal of Fungi. 2015; 1(1):13-29.
9. Scorzoni L, de Paula ESAC, Marcos CM, Assato PA, de Melo WC, de Oliveira HC, et al. Antifungal therapy: new advances in the understanding and treatment of mycosis. Frontiers in Microbiology. 2017; 8:36.
10. Vandeputte P, Ferrari S, Coste AT. Antifungal resistance and new strategies to control fungal infections. International Journal of Microbiology. 2012; 2012:713687.
11. Wiederhold NP. Antifungal resistance: current trends and future strategies to combat. Infection and Drug Resistance. 2017; 10:249-259.
12. Sari L. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. Majalah Ilmu Kefarmasian. 2006; 3(1):1-7.
13. Suhatri M, Ardiningsih P, Widiyantoro A. Senyawa sitotoksik dari fraksi diklorometana daun daruju (*Acanthus ilicifolius* Linn.) terhadap sel HeLa. Jurnal Kimia Khatulistiwa. 2018; 7(2):75-81.
14. Singh D, Aeri V. Phytochemical and pharmacological potential of *Acanthus ilicifolius*. Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences. 2013; 5(1):17-20.
15. Akrom AI. Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol 70% daun benalu alpukat (*Scurrula philippensis*) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*. Surakarta: Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2010.
16. 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.
17. Purwatresna E. Aktivitas antidiabetes ekstrak air dan etanol daun sirsak secara *in vitro* melalui inhibisi enzim α -glukosidase. Bogor: Institut Pertanian Bogor; 2012.
18. Voight R. Buku pelajaran teknologi farmasi. Yogyakarta: Universitas Gadjah Mada; 1995.
19. Adewole SO, Ojewole JA. Protective effects of *Annona muricata* Linn.(*annonaceae*) 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.
20. Poorna CA, Maney SK, R Santhoshkumar T, Soniya EV. Phytochemical analysis and *in vitro* screening for biological activities of *Acanthus ilicifolius*. *Journal of Pharmacy Research*. 2011; 4(7):1977-1981.
 21. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat. 2000.
 22. Mayasari U, Laoli MT. Karakterisasi simplisia dan skrining fitokimia daun jeruk lemon (*Citrus limon* (L.) Burm.f.). *Klorofil*. 2018; 2(1):7-13.
 23. 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.
 24. Atmoko T dan 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.
 25. Alawiyah T, Khotimah S, Mulyadi A. Aktivitas antijamur ekstrak teripang darah (*Holothuria atra* Jeager.) terhadap pertumbuhan jamur *Malassezia furfur* penyebab panu. *Jurnal Protobiont*. 2016; 5(1):59-67.
 26. Habibi AI, Firmansyah RA, Setyawati SM. Skrining fitokimia ekstrak n-Hensen korteks batang salam (*Syzygium polyanthum*). *Indonesian Journal of Chemical Science*. 2018; 7(1):1-4.
 27. Sari ER, Nugraheni ER. Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun cabai jawa (*Piper retrofractum*) terhadap pertumbuhan *Candida albicans*. 2013; 11(2):36-42.
 28. Hidayat H. Identifikasi dan uji aktivitas antimikroba terhadap bakteri *Escherichia coli* dari fermentasi buah markisa (*Passiflora sp.*). *Jurnal Ilmu-Ilmu MIPA*. 2015; 15(1-2):76-85.
 29. 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.
 30. 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.
 31. Shofiyyatunnisa, Sholihah W, Firmansyah M, 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.
 32. Ningrum R, Purwanti E, Sukarsono. Identifikasi senyawa alkaloid dari batang karimunting (*Rhodomyrtus tomentosa*) sebagai bahan ajar biologi untuk SMA kelas X. *Jurnal Pendidikan Biologi Indonesia*. 2016; 2(3):231-236.
 33. Hanani E. Analisis fitokimia. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC; 2014.
 34. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, bioaktivitas, dan antioksidan flavonoid. *Jurnal Zarah*. 2018; 6(1):21-29.
 35. Bhat SV, Nagasampagi BA, Meenakshi S. Natural products: Chemistry an applications. New Delhi: Narosa Publishing House; 2014.
 36. Adiyati PN, Pribadi ES. *Malassezia spp.* dan peranannya sebagai penyebab dermatitis pada hewan peliharaan. *Jurnal Veteriner*. 2014; 15(4):570-581.

37. Suwandi JF. Pengaruh pemberian DMSO sebagai pelarut bahan uji pada uji aktivitas antiplasmodium *in vivo* terhadap pertumbuhan *Plasmodium berghei* pada mencit. Jurnal Sains MIPA. 2009; 15(3):207-210.
38. Sheehan DJ, Brown SD, Pfaller MA, Warnock DW, Rex JH, Chaturvedi V, *et al.* Method for antifungal disk diffusion susceptibility testing of yeasts; approved guideline. NCCLS. 2004;24(15):4-5.
39. Kanazawa A, Ikeda T, dan Endo TA. Approach to mode of action of cationic biocides morphological effect on antibacterial activity. J Appl Bacteriol. 1995; 78(1):55-60.
40. Rodrigues ML. The multifunctional fungal ergosterol. mBIO American Society for Microbiology. 2018; 9(5):e01755-18.
41. Megawati EP, Khotimah S, Bangsawan PI. Uji aktivitas antifungi ekstrak etanol daun karamunting (*Rhodomirtus tomentosa* (Aiton) Hassk) terhadap pertumbuhan *Candida albicans* secara *in vitro*. Jurnal Mahasiswa Fakultas Kedokteran Untan. 2016; 2(4):1-18.
42. Wijayanti ED, Susilowati E. Eksplorasi ekstrak etanol beberapa tumbuhan berpotensi sebagai antiketombe. Jurnal Riset Sains dan Teknologi. 2017; 1(2):75-81.
43. Wijayanti ED, Susilowati E. Eksplorasi ekstrak etanol beberapa tumbuhan berpotensi sebagai antiketombe. Jurnal Riset Sains dan Teknologi. 2017; 1(2):75-81.
44. Prayitno YH, Khotimah S, Bangsawan PI. Uji aktivitas antifungal ekstrak metanol mentah rimpang jeringau merah (*Acorus calamus* Linn.) terhadap pertumbuhan *Malassezia furfur* secara *in vitro*. Jurnal Mahasiswa PSPD FK UNTAN. 2015; 3(1): 1-25.
45. Partogi D. *Pityriasis versicolor* dan diagnosis bandingnya (ruam-ruam bercak putih pada kulit). Medan: Departemen Ilmu Kesehatan Kulit dan Kelamin FK USU; 2008.
46. Mandal BK, Wilkins EGL, Dunbar EM, dan Mayon-White RT. Penyakit infeksi. Edisi keenam. Jakarta: Erlangga; 2008.
47. Klein BS, Tebbets B. Dimorphism and virulence in fungi. Current Opinion in Microbiology. 2007; 10(4):314-319.
48. Sulistyawati LRN, Natalia D, Mahyarudin. Uji aktivitas antijamur ekstrak etanol *Eleutherine americana* merr. terhadap *Trichophyton tonsurans* secara *in vitro*. Majalah Kedokteran Andalas; 2018; 41(1):22-31.
49. Apsari AS, Adiguna MS. Resistensi antijamur dan strategi untuk mengatasi. Media Dermato-Venereologica Indonesiana. 2013; 40(2):89-95.
50. Allen HB, Goyal K, Ogrich L, Joshi S. biofilm formation by *Malassezia furfur*/Ovale as a possible mechanism of pathogenesis in *Tinea versicolor*. Journal of Clinical and Experimental Dermatology Research. 2015; 6(6):1-4.