

Potensi Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Gatal (*Urticastrum decumanum* (Roxb.) Kuntze) Terhadap Pertumbuhan *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*

Subaryanti^{1*}, Durkas Sabat Dwi Meianti¹, Rosario Trijuliamos Manalu¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas Farmasi, ISTN, Jl. Moh. Kahfi II, Srengseng Sawah, Jagakarsa, Jakarta 12640

*Corresponding author: subaryanti@istn.ac.id

ABSTRAK

Daun gatal (*Urticastrum decumanum*) merupakan tanaman asli Papua yang banyak digunakan sebagai obat pereda nyeri. Penelitian bertujuan untuk mengetahui aktivitas antimikroba daun gatal terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Candida albicans*. Daun gatal diambil dari Kabupaten Mimika, Kota Timika, Provinsi Papua, Indonesia. Daun gatal segar sebanyak 2 kg yang telah bersih dikeringkan dengan cahaya matahari tidak langsung. Serbuk daun gatal dimaserasi menggunakan etanol 96% dan dipekatkan pada suhu 40 oC hingga menjadi ekstrak kental. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid. Ekstrak daun gatal dibuat empat konsentrasi yaitu 1,0; 1,5; 2,0, dan 2,5% dengan kontrol positif kloramfenikol untuk *S. aureus* dan ketokonazol untuk *C. albicans*, serta DMSO 10% sebagai kontrol negatif. Uji aktivitas antimikroba dilakukan dengan metode difusi cakram dan dilusi padat. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun gatal mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid. Ekstrak etanol daun gatal pada konsentrasi 2,5% memiliki daya hambat paling tinggi terhadap *S. aureus* dengan diameter 12,7 mm dan 10,7 mm untuk *C. albicans*. Respon pertumbuhan *S. aureus* dan *C. albicans* dalam kategori lemah sampai sedang. Konsentrasi ekstrak etanol daun gatal yang ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* adalah 0,6%.

Kata kunci: Antimikroba, *Candida albicans*, daun gatal, *Staphylococcus aureus*

Antimicrobial Potential of Ethanol Extract of Daun Gatal (Urticastrum Decumanum (Roxb.) Kuntze) Against Growth Staphylococcus Aureus and Candida Albicans

ABSTRACT

Daun gatal (*Urticastrum decumanum*) is a plant native to Papua which is widely used as a pain reliever. The aim of the study was to determine the antimicrobial activity of daun gatal against *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans*. Daun gatal were taken from Mimika Regency, Timika City, Papua Province, Indonesia. Daun gatal of fresh 2 kg that have been cleaned and dried in indirect sunlight. Daun gatal powder was macerated using 96% ethanol and concentrated at 40 oC to become a thick extract. Phytochemical screening was carried out on alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, and steroids/triterpenoids. Daun gatal extract was made in four concentrations, namely 1.0; 1.5; 2.0, and 2.5% with positive control chloramphenicol for *S. aureus* and ketoconazole for *C. albicans*, and DMSO 10% as negative control. Antimicrobial activity tests were carried out by disc diffusion and solid dilution methods. The results showed that the ethanol extract of daun gatal contained alkaloids, tannins, flavonoids, saponins, and steroids/triterpenoids. Ethanol extract of daun gatal at a concentration of 2.5% had the highest inhibition against *S. aureus* with a diameter of 12.7 mm and 10.7 mm for *C. albicans*. The growth response of *S. aureus* and *C. albicans* was in the weak to moderate category. The concentration of ethanol extract of daun gatal which was determined as the minimum inhibitory concentration (MIC) against *S. aureus* and *C. albicans* was 0.6%.

Keywords: Antimicrobial, *Candida albicans*, daun gatal, *Staphylococcus aureus*

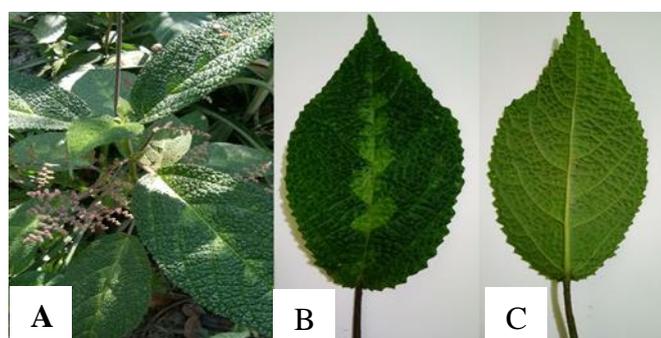
PENDAHULUAN

Indonesia dengan keanekaragaman etnis yang ada menyebabkan pemanfaatan tumbuhan sebagai obat juga semakin beraneka ragam (Zuhud, 2011). Akan tetapi,

jumlah jenis tumbuhan berkhasiat obat yang ada di Indonesia sampai saat ini belum diketahui secara pasti, sehingga diperlukan pendokumentasian secara menyeluruh terhadap penggunaan tumbuhan sebagai bahan baku pengobatan (Hidayat & Hardiansyah, 2012). Jumlah tumbuhan obat di Indonesia ±30.000 jenis, baru

ada 1.000 jenis yang ditemukan dan sekitar 180 jenis sebagai bahan sediaan baru. Meskipun 76,5% dari 9.000 macam sediaan jamu telah terdaftar di BPOM merupakan produk nusantara, tetapi kalangan masyarakat menengah ke atas dan kalangan medis masih belum dapat menerimanya. Sangat penting upaya mengeksplorasi berbagai bahan alam alternatif lain untuk bahan industri farmasi yang akan datang mengantisipasi terjadinya kebutuhan bahan obat yang lebih banyak lagi. Salah satu bahan alam tersebut adalah daun gatal (*Urticastrum decumanum*) yang mengandung senyawa metabolit sekunder berpotensi sebagai analgetik, antiinflamasi, dan antikoagulan (Simaremare et al., 2018; Simaremare et al., 2019), juga sebagai antibakteri, sitotoksik, antioksidan, dan aplikasi teknologi farmasi daun gatal menjadi sediaan salep dan bedak (Simaremare et al., 2016; Simaremare et al., 2017). Daun gatal masuk ke dalam Kingdom Plantae dari Divisi Magnoliophyta, Kelas Magnoliopsida, Ordo Urticales, Suku Urticaceae, Marga *Laportea*, dan Spesies *Urticastrum decumanum* (Roxb.) Kuntze (Chew, 1965).

Daun gatal merupakan tanaman asli Papua yang telah digunakan secara turun-temurun oleh masyarakat lokal sebagai obat antinyeri (Heyne, 1987; Simaremare et al., 2014). Daun gatal tersebar luas di Papua mulai dari daerah pantai hingga pegunungan (Simaremare et al., 2019). Daun gatal tersebar luas di hutan primer, hutan sekunder atau *disturbed areas* mulai dari Kalimantan, Sulawesi, Maluku, dan Papua Nugini. Selain itu, tanaman ini dibudidayakan di India dan Jawa, serta penggunaannya meluas di seluruh Papua Nugini (Winduo, 2003) dan Maluku (Heyne, 1987). Tanaman ini memiliki batang yang banyak dan lunak, rapuh, bercabang dengan baik (*well branched*) dan memiliki senjata berupa rambut panjang dan kaku (*trichoma*) yang tersusun rapat serta bersifat iritan (**Gambar 1**). Habitat tumbuhan ini pada tempat yang teduh dan tumbuh baik pada daerah basah tapi dengan tanah yang kering (WHO, 2009).



Gambar 1. Tanaman daun gatal (*Urticastrum decumanum* (Roxb.) Kuntze). A: habitus; B: Daun tampak atas; C: Daun tampak bawah (dokumen pribadi)

Praktek penggunaan tanaman ini dilakukan dengan menggosokkan sehelai daun gatal dengan lembut pada bagian yang terasa sakit. Sensasi menyengat akan dirasakan saat pertama kali daun digosokkan. Pada tahap selanjutnya akan timbul mati rasa pada bagian tersebut atau efek anestesi. Selain itu, pada penderita asma, daun dapat digosokkan pada bagian dada (WHO, 2009). Penggunaan daun ini telah banyak dilakukan oleh masyarakat Maluku (Heyne, 1987) dan penduduk Provinsi Morobe (Papua Nugini) (Winduo, 2003). Pemanfaatan eksternal daun gatal pada tubuh dilakukan untuk mengurangi rasa sakit, kelelahan, sakit kepala, sakit perut, nyeri otot dan sendi, serta memar (WHO, 2009). Hasil penelitian menunjukkan bahwa daun gatal mengandung asam (karbonat, kafeat, kafeolmalat, klorogenat, format, silikat, fumarat, gliserat, malat, oksalat, posporat, quinat, suksinat, dan treonat), amina (asetilkolin, betain, kolin, lesitin, histamin, serotonin, dan glikoprotein), flavonoid (flavonol glikosida), anorganik (20% mineral termasuk di dalamnya kalsium, potassium, dan silikon) serta lignan. Daun dan herbal tanaman ini telah terdaftar di Eropa sebagai perisa alami dan telah digunakan pada *soup* dan teh herbal (Barnes et al., 2002).

Bakteri *Staphylococcus aureus* adalah spesies patogen paling umum dari genus *Staphylococcus* yang terlibat dalam infeksi nosokomial. Secara asimtomatik

menyerang kulit dan selaput lendir individu sehat. Akibatnya, diperkirakan sekitar 20-30% populasi dapat terkena infeksi bakteri ini (Costa et al., 2013). Infeksi akibat *S. aureus*, diawali dengan masuknya bakteri ini ke dalam kulit melalui goresan luka. Infeksi ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai dengan abses bernanah. Abses lokal seperti bisul atau jerawat merupakan infeksi kulit yang terjadi di daerah folikel rambut dan kelenjar keringat (Hawley et al., 2013). Bila dibiarkan terus, infeksi ini akan berkembang ke bagian paru-paru dan jantung karena penyebarannya bisa melalui pembuluh darah atau pembuluh getah bening (Wilson et al., 2011). Spesies *Candida*, salah satunya *Candida albicans*, merupakan flora normal yang hidup pada mukosa oral, saluran pencernaan dan vagina (Sardi et al., 2013). Infeksi vagina dan oral kandidiasis diperkirakan terjadi sebanyak 40 juta infeksi per tahunnya (Naglik et al., 2014). Salah satu obat antijamur golongan triazole adalah ketokonazol yang memiliki spektrum luas, digunakan pada infeksi topikal dan sistemik yang disebabkan oleh jamur. Mekanisme kerjanya dengan merusak membran sel jamur yang menyebabkan sel-sel kehilangan unsur esensial yang penting (Acosta, 2010).

Resistensi terhadap antimikroba merupakan fenomena biologis yang berdampak bagi kesehatan manusia. Resistensi tersebut tidak hanya terjadi pada

bakteri namun juga pada jamur patogen (Cannon et al., 2007). Ketidakpekaan *S. aureus* menyebabkan resistensi terhadap antibiotik golongan β -laktam, termasuk golongan *penicillinase-resistant penicillins* (oxacillin, methicillin, nafcillin, cloxacillin, dicloxacillin), cephalosporin, dan carbapenem. Selain itu, resistensi silang juga terjadi pada antibiotik non- β -laktam seperti eritromisin, klindamisin, gentamisin, kotrimoksazol, dan siprofloksasin (Afifurrahman et al., 2014). Penggunaan agen antijamur mengalami peningkatan sejalan dengan semakin banyaknya infeksi *C. albicans*. Hal tersebut dapat menimbulkan konsekuensi klinis tertentu seperti penggunaan azole secara luas dengan ditemukannya isolat yang bersifat resisten terhadap azole (Li-Juan et al., 2010). Penelitian ini bertujuan untuk mengidentifikasi aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun gatal (*U. decumanum*) yang berasal dari Papua terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* secara *in-vitro*. Hasil penelitian ini diharapkan dapat menambah data ilmiah tentang senyawa-senyawa bioaktif potensial dari tanaman daun gatal spesies *Urticastrum decumanum* sebagai kandidat antimikroba.

METODOLOGI PENELITIAN

Rancangan dan Jenis Penelitian. Metode yang digunakan adalah eksperimental, meliputi pengumpulan dan pengolahan daun gatal, pembuatan ekstrak etanol, penapisan senyawa fitokimia, pengujian aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* dengan metode difusi cakram dan dilusi padat untuk mengukur Diameter Daya Hambat (DDH) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Bahan dan Alat. Bahan yang digunakan adalah daun gatal (*U. decumanum*) berwarna hijau muda dan hijau tua, diperoleh dari Kota Timika, Kabupaten Mimika, Provinsi Papua, Indonesia dan telah dideterminasi di LIPI Cibinong, Bogor, Jawa Barat. Biakan *S. aureus* murni diperoleh dari Bogoriense, Bidang Mikrobiologi LIPI, Cibinong, Bogor, Jawa Barat dan *C. albicans* dari Departemen Parasitologi FKUI, Salemba Raya, Jakarta Pusat. Alat-alat yang digunakan antara lain timbangan analitik (CHQ), *blender* (Cosmos), toples kaca (proses maserasi), alumunium foil, *vacuum rotary evaporator* (Buchi), *water bath* (Memmert), corong kaca (Pyrex), gelas ukur, tabung reaksi (Pyrex), batang pengaduk, erlenmayer (Pyrex), pipet tetes, kaca objek, api bunsen, autoklaf, mikro pipet 100-1000 μ L (VWR & Peqpetter), mikro pipet 2-20 μ L (Peqpettf), *oven* (Memmert), cawan petri, kertas cakram, inkubator (Memmert), *hot plate*, jangka sorong (Vernier Caliper), pinset, kawat ose, penggaris, *Laminar Air Flow* (LAF) (Messgerate), *vortex* (Maxi Mix), *Analog Stirring Hot Plate* (B-ONE), lemari pendingin (Aqua), dan mikroskop (Leica).

Tahapan Penelitian

Pengambilan dan Pembuatan Simplisia. Sampel yang digunakan adalah daun gatal spesies *Urticastrum decumanum* (Roxb.) Kuntze berasal dari Kabupaten

Mimika, Kota Timika, Provinsi Papua, Indonesia. Daun gatal segar berwarna hijau muda dan hijau tua diambil sebanyak 2 kg. Masing-masing daun dipisahkan dari tangkai daun, pengotor dan bahan asing lainnya, kemudian dicuci dengan air mengalir dan dikeringkan selama 5 hari dengan sinar matahari tidak langsung, selanjutnya dilakukan sortasi kering dan siap diserbuk menggunakan *blender* serta diayak menggunakan pengayak mesh ukuran 40.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Gatal. Serbuk sebanyak 200 g ditimbang lalu direndam dengan 2 L etanol 96% selama 2x24 jam sambil sesekali diaduk, selanjutnya disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang dihasilkan kemudian ditampung. Hal ini diulangi 3 kali sampai filtrat yang tertampung jernih kemudian dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* pada suhu 40 °C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak yang diperoleh dianalisis kandungan senyawa fitokimianya dan diuji efek antimikrobanya (Asih et al., 2018).

Penapisan Fitokimia

Uji Alkaloid. Ekstrak daun gatal diambil sebanyak 0,5 g menggunakan spatula ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan 1 mL HCl 2 N dan 9 mL akuades, dipanaskan di atas *waterbath* selama 2 menit, didinginkan dan disaring menggunakan kertas saring. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji alkaloid dibagi ke dalam 3 tabung reaksi dengan sama rata. Tabung 1 dimasukkan 2 tetes pereaksi Mayer, tabung 2 dimasukkan 2 tetes pereaksi Bourchardat dan tabung 3 dimasukkan 2 tetes pereaksi Dragendorff. Alkaloid positif jika terdapat kekeruhan atau endapan berwarna minimal dua dari tiga perlakuan di atas (Depkes, 1995).

Uji Tanin. Ekstrak daun gatal diambil sebanyak 1 g menggunakan spatula ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 100 mL akuades lalu dididihkan selama 3 menit, setelah itu didinginkan dan disaring dengan kertas saring. Filtrat kemudian ditambahkan 1-3 tetes pereaksi $FeCl_3$ 1%. Jika terdapat warna hijau kehitaman atau biru kehitaman menunjukkan adanya tanin (Farnsworth, 1966).

Uji Flavonoid. Ekstrak daun gatal diambil sebanyak 10 g menggunakan spatula ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas, dididihkan selama 5 menit kemudian disaring menggunakan kertas saring. Selanjutnya tabung reaksi yang berisi 5 mL filtrat ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 2 mL amilalkohol dan 1 mL HCl pekat, dikocok dan dibiarkan memisah. Flavonoid dinyatakan positif jika terbentuk warna merah, jingga atau kuning pada lapisan amilalkohol (Depkes, 1995).

Uji Saponin. Ekstrak daun gatal diambil sebanyak 0,5 g menggunakan spatula ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 mL air panas. Didinginkan dan dikocok kuat-kuat selama 10 detik. Jika terlihat busa setinggi 1–10 cm yang stabil selama lebih dari 10 menit dan tidak hilang

dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N berarti menunjukkan adanya saponin (Depkes, 1995).

Uji Steroida/Triterpenoida. Ekstrak daun gatal diambil sebanyak 1 g menggunakan spatula ke dalam tabung reaksi, kemudian dimaserasi dengan 20 mL n-heksana selama 2 jam dan di tutup dengan *plastic wrap* lalu disaring dengan kertas saring dan filtrat dipindahkan dari tabung reaksi ke cawan porselain untuk proses penguapan. Selanjutnya, setelah sisa filtrat mengering ditetesi dengan beberapa tetes pereaksi Liebermann Bouchart. Timbulnya warna biru atau biru hijau menunjukkan adanya steroid, sedangkan timbulnya warna merah, merah muda atau ungu menunjukkan adanya triterpenoid (Harborne, 1987).

Uji Aktivitas Antimikroba

Pembuatan Media.

Nutrient Agar (NA). Sebanyak 6 g serbuk NA ditimbang dan dilarutkan dalam 300 mL akuades dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* sampai mendidih. Media yang sudah homogen disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121 °C selama ±15 menit. Media NA sebanyak 15–20 mL dituang ke dalam cawan petri, dibiarkan sampai memadat, dan siap digunakan.

Sabouraud Dextrose Agar (SDA). Sebanyak 19,5 g serbuk SDA ditimbang dan dilarutkan dalam 300 mL akuades dan dihomogenkan dengan *magnetic stirrer* di atas *hot plate* sampai mendidih. Media yang sudah homogen disterilisasi dalam autoklaf pada suhu 121 °C selama ±15 menit. Media SDA sebanyak 15–20 mL dituang ke dalam cawan petri, dibiarkan sampai memadat, dan siap digunakan.

Peremajaan Mikroba. Peremajaan bakteri *S. aureus* dilakukan pada media *nutrient agar* (NA) yang sudah dimiringkan dan dibiarkan hingga memadat. Bakteri diambil satu *ose* dan digoreskan di media agar miring, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Peremajaan *C. albicans* dilakukan pada media *sabouraud dextrose agar* (SDA) yang sudah dimiringkan dan dibiarkan hingga memadat. Jamur diambil satu *ose* dan digoreskan di media agar miring, lalu diinkubasi pada suhu ruangan selama 48 jam.

Pembuatan Larutan Uji. Pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) digunakan ekstrak etanol daun gatal yang diencerkan dengan pelarut dimetilsulfoksida 10% (DMSO). Larutan uji dibuat 4 seri konsentrasi yaitu 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%. Kloramfenikol 30 µg digunakan sebagai kontrol positif untuk *S. aureus* dan ketokonazol 15 µg untuk *C. albicans*.

Pembuatan Suspensi Mikroba. Pembuatan suspensi uji dilakukan dengan cara biakan mikroba uji yang telah diremajakan, diambil sebanyak 1–2 *ose*, kemudian diencerkan ke dalam 5 mL larutan NaCl 0,9%, kekeruhan suspensi mikroba dibandingkan dengan standar *Mc*.

Farland sehingga dihasilkan mikroba dengan jumlah 10⁸ CFU/mL. Suspensi mikroba selanjutnya diencerkan hingga konsentrasi 10⁶ CFU/mL dengan cara diambil 1 mL larutan uji konsentrasi 10⁸ dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang berisi NaCl 0,9% sebanyak 9 mL, suspensi tersebut dihomogenkan menggunakan *vortex*, sehingga didapatkan larutan uji 10⁷ CFU/mL, selanjutnya dilakukan proses yang sama hingga diperoleh larutan uji sejumlah 10⁶ CFU/mL. Suspensi yang telah disesuaikan digunakan sebagai inokulum (Balouiri et al., 2016).

Penentuan Diameter Daya Hambat (DDH). Pengujian DDH dilakukan dengan metode difusi cakram. Sebanyak 100 µL suspensi mikroba uji (*S. aureus* dan *C. albicans*) disebarkan ke dalam masing-masing media (NA dan SDA) yang telah padat dan diratakan menggunakan batang L kaca, selanjutnya diletakkan cakram yang berisi 20 µL larutan ekstrak dengan konsentrasi 1,0; 1,5; 2,0, dan 2,5%. Cakram untuk kontrol positif digunakan kloramfenikol dengan konsentrasi 30 µg (*S. aureus*) dan ketokonazol dengan konsentrasi 15 µg (*C. albicans*), serta cakram untuk kontrol negatif DMSO 10% dengan konsentrasi 20 µL, diletakkan di atas permukaan media padat yang sudah diinokulasi mikroba, kemudian diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam untuk *S. aureus* dan 48 jam untuk *C. albicans* pada suhu ruangan. Selanjutnya diukur DDH yang terbentuk menggunakan jangka sorong.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

Uji KHM dilakukan dengan metode dilusi padat, yaitu diamati pertumbuhan mikroba uji dari konsentrasi ekstrak terendah yang dihasilkan dari DDH. Mikroba uji dimasukkan ke dalam cawan petri steril sebanyak 100 µL dari inokulum 10⁶ CFU/mL, ditambahkan 100 µL ekstrak daun gatal dengan konsentrasi terendah yang dihasilkan dari DDH, lalu ditambahkan 15 mL media kemudian disebar dengan cara diputar seperti angka delapan hingga tercampur rata dan didiamkan sampai memadat, selanjutnya diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam pada *S. aureus* dan *C. albicans* pada suhu ruangan selama 48 jam. Kontrol negatif yang digunakan pada *S. aureus* adalah media NA dan pada *C. albicans* adalah media SDA tanpa ada penambahan zat apapun, sedangkan kontrol positif pada bakteri digunakan media NA yang telah ditambahkan inokulum *S. aureus* dan pada jamur digunakan media SDA yang telah ditambahkan dengan inokulum *C. albicans*. Konsentrasi terendah dari ekstrak yang didapat memberikan hambatan terhadap pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstrak Etanol Daun Gatal

Pembuatan ekstrak etanol daun gatal dilakukan dengan metode maserasi. Metode ini dipilih karena baik untuk menarik senyawa yang tidak tahan panas sehingga komponen senyawa tidak terurai atau rusak, pengerjaan dan peralatan yang digunakan juga sederhana (Susanty & Bachmid, 2016). Senyawa bioaktif seperti flavonoid

memiliki sifat tidak tahan terhadap pemanasan (Mubarak et al., 2018). Senyawa alkaloid, saponin, steroid, dan tanin cenderung bersifat polar (Rahmadani et al., 2015). Hal ini sejalan dengan Dewitasari (2020), bahwa pemisahan zat aktif pada simplisia menggunakan pelarut tertentu berdasarkan prinsip *like dissolved like*, dimana suatu senyawa yang bersifat polar akan larut dalam pelarut polar, senyawa non polar akan larut dalam pelarut non polar. Pelarut yang digunakan dalam maserasi yaitu etanol 96% karena mudah berpenetrasi ke dalam membran sel tanaman. Pemilihan pelarut didasarkan pada polaritasnya agar memudahkan pemisahan senyawa aktif pada sampel. Etanol merupakan pelarut yang dapat melarutkan senyawa yang bersifat polar maupun non polar (Depkes, 2000). Selain itu, etanol juga lebih selektif, kapang serta kuman sulit tumbuh, tidak toksik, dan netral. Jika konsentrasi pelarut lebih tinggi, maka daya merusak sel tanaman lebih besar sehingga zat aktif mudah tertarik dan hasil ekstraksi lebih maksimal (Egra et al., 2019). Hasil ekstraksi daun gatal menghasilkan ekstrak kental sebanyak 22,47 g dengan rendemen 11,24%. Menurut Hasnaeni & Wisdawati (2019), bahwa hasil rendemen dari suatu sampel diperlukan untuk mengetahui banyaknya ekstrak yang diperoleh selama proses ekstraksi. Hasil rendemen juga berhubungan dengan senyawa aktif dari suatu sampel, apabila nilai rendemen tinggi maka komponen senyawa aktif yang terkandung di dalamnya juga tinggi. Hal ini didukung oleh pernyataan Harborne (1987), bahwa tingginya senyawa aktif ditunjukkan dengan tingginya rendemen yang dihasilkan. Rendemen dikatakan baik jika nilainya lebih dari 10% (Wardaningrum et al., 2019).

Penapisan Fitokimia

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder di dalam ekstrak etanol daun gatal. Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan berpotensi sebagai antimikroba dan dapat dimanfaatkan sebagai kandidat obat-obat baru (Anggraito et al., 2021). Metode penapisan fitokimia dilakukan dengan identifikasi warna atau endapan menggunakan suatu pereaksi. Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun gatal dapat dilihat pada **Tabel 1**. Penapisan fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran mengenai kandungan senyawa tertentu yang ada di dalam bahan alam. Aktivitas antimikroba diduga disebabkan adanya efek sinergisme dari setiap metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak etanol daun gatal. Metabolit sekunder tersebut adalah alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid yang memiliki potensi sebagai senyawa antimikroba (Tian et al., 2012; Futuro et al., 2014). Hasil penelitian Simaremare (2017) melaporkan bahwa, komponen metabolit sekunder daun gatal jenis *Laportea decumana* mengandung senyawa alkaloid, glikosida dan steroid/triterpenoid, sedangkan pada *Laportea aestuans* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan kuinon. Hasil positif pada penapisan fitokimia dapat dijadikan dasar atas kemampuan ekstrak etanol daun gatal dalam memberikan sifat antimikroba.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia ekstrak etanol daun gatal

Uji Fitokimia	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer	+	Endapan putih/krem
	Wagner	+	Endapan coklat
	Dragendorff	+	Endapan merah bata
Tanin	FeCl ₃ 3%	+	Warna hijau kehitaman
	Gelatin 2%	+	Endapan putih
Flavonoid	Mg + HCl pekat	+	Warna kuning
Saponin	Akuades panas	+	Terbentuk busa stabil
Steroid	n-Heksan + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk warna biru/biru hijau
	+ Liebermann Bouchart		
Triterpenoid	n-Heksan + CH ₃ COOH + H ₂ SO ₄ pekat	+	Terbentuk warna merah, merah muda/ungu
	+ Liebermann Bouchart		
Keterangan:	+	= Positif, ada kandungan senyawa fitokimia	
	-	= Negatif, tidak ada kandungan senyawa fitokimia	

Uji Aktivitas Antimikroba Ekstrak Etanol Daun Gatal Terhadap *S. aureus* dan *C. albicans*

Uji aktivitas antimikroba bertujuan untuk mengetahui respon pertumbuhan mikroba terhadap suatu media agen antimikroba. Menurut Pratiwi (2008), bahwa metode pengujian antimikroba dapat menentukan kepekaan setiap mikroba terhadap suatu obat sehingga akan diperoleh suatu sistem pengobatan yang efektif dan efisien. Hasil tersebut dapat dilihat dengan cara membandingkan konsentrasi ekstrak etanol daun gatal dengan kontrol positifnya yaitu kloramfenikol untuk *S. aureus* dan ketokonazole untuk *C. albicans* serta DMSO sebagai kontrol negatif. Kloramfenikol merupakan

antibiotik berspektrum luas dengan indikasi anaerob Gram positif dan ketokonazole adalah obat antijamur yang digunakan untuk terapi lokal kandidiasis vagina dan infeksi dermatofit/infeksi jamur pada kulit. Ketokonazole adalah obat yang termasuk golongan imidazole sintetik, seperti semua agen antijamur azole, ketokonazole bekerja terutama dengan menghambat enzim sitokrom P-450, C-14- α -demethylase (P-45014DM). Enzim ini berperan dalam jalur biosintesis sterol yang bertanggungjawab merubah lanosterol menjadi ergosterol. Hal ini akan mengakibatkan dinding sel jamur menjadi permeabel dan terjadi penghancuran jamur (Chairunnisa et al., 2015).

Dimetilsulfoksida (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif dan pelarut karena tidak memberikan efek antimikroba, seperti yang dilaporkan oleh Reapina (2007), bahwa daya hambat DMSO terhadap bakteri *S. aureus* adalah nol sehingga dapat dikatakan bahwa DMSO tidak berpengaruh terhadap mikroba uji. Hasil pengamatan terhadap kertas cakram yang berisi konsentrasi berbeda menunjukkan adanya zona bening di

sekitar kertas cakram, hal ini dapat diartikan adanya aktivitas antimikroba. Pengamatan selanjutnya dilakukan pengukuran pada zona bening di sekitar kertas cakram untuk mengetahui DDH pada masing-masing konsentrasi dan larutan kontrol. Hasil pengukuran DDH ekstrak etanol daun gatal terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Hasil pengukuran Diameter Daya Hambat (DDH) ekstrak etanol daun gatal terhadap *S. aureus* dan *C. albicans*

Ekstrak etanol daun gatal (%)	Nilai Diameter Daya Hambat (DDH) (mm)		
	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>	Kategori
1,0	8,76 ± 0,38	8,59 ± 0,50	Lemah
1,5	9,90 ± 0,46	9,02 ± 0,55	Lemah
2,0	11,0 ± 0,46	10,0 ± 0,81	Sedang
2,5	12,7 ± 0,69	10,7 ± 0,94	Sedang
Kloramfenikol (30 µg)	23,4 ± 0,64	–	Sangat kuat
Ketokonazol (15 µg)	–	33,6 ± 0,39	Sangat kuat
DMSO (10%)	0	0	–

Keterangan: – = Negatif, tidak ada aktivitas antimikroba

Berdasarkan hasil uji aktivitas antimikroba ekstrak etanol daun gatal terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* menunjukkan adanya daya hambat bersifat lemah sampai sedang. Daya hambat dengan konsentrasi 1,0; 1,5; 2,0; dan 2,5% untuk *S. aureus* berturut-turut adalah 8,76 mm; 9,90 mm; 11,0 mm; dan 12,7 mm dan untuk *C. albicans* adalah 8,59 mm; 9,02 mm; 10,0 mm; dan 10,7 mm.

Menurut Izquierdo *et al.* (2015), bahwa respon antimikroba dikatakan sensitif apabila memiliki daya hambat ≥ 28 mm, intermediet 21-27 mm, dan resisten ≤ 20 mm. Sedangkan menurut Puthera *et al.* (2013), bahwa respon kloramfenikol dan ketokonazol masuk dalam kategori sangat kuat karena memiliki daya hambat >20 mm (**Tabel 3**).

Tabel 3. Klasifikasi respon hambatan pertumbuhan mikroba

Diameter Daya Hambat (DDH)	Respon hambatan pertumbuhan
> 20 mm	Sangat kuat
16 – 20 mm	Kuat
10 – 15 mm	Sedang
< 10 mm	Lemah

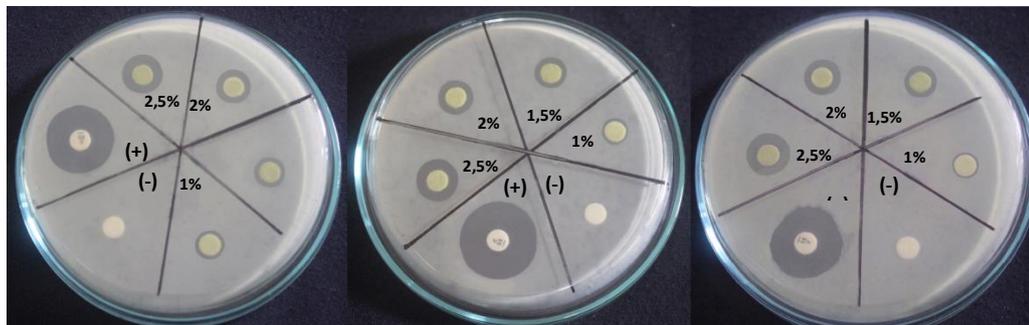
Adanya perbedaan ukuran daya hambat yang terbentuk berhubungan dengan konsentrasi ekstrak yang diberikan, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar pula DDH yang dihasilkan (Yulianingsih & Arwie, 2019). Pada konsentrasi 2,5% memberikan daya hambat paling besar dibandingkan dengan konsentrasi lainnya yaitu 12,7 mm untuk *S. aureus* dan 10,7 mm untuk *C. albicans* yang dikategorikan sedang dalam menghambat pertumbuhan mikroba tersebut. Senyawa metabolit sekunder yang terkandung di dalam ekstrak daun gatal diduga ikut berperan dalam aktivitas antimikroba. Senyawa alkaloid bekerja dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel mikroba sehingga lapisan dinding sel tidak dapat terbentuk dan menyebabkan kematian sel (Kurama *et al.*, 2020). Senyawa tanin bekerja dengan cara menginaktivkan enzim dan mengganggu transpor protein di dalam sel sehingga pembentukan dinding sel kurang sempurna, membran sel akan rusak dan menghambat fungsi selaput sel, mengganggu transpor zat dari sel satu ke sel lain, serta menghambat sintesis asam nukleat sehingga pertumbuhan mikroba menjadi terhambat (Azaldin *et al.*, 2020). Senyawa flavonoid memiliki gugus –OH yang berguna sebagai antiseptik karena dapat merusak dinding sel mikroba (Ginting, 2021). Mekanisme

kerja flavonoid dengan cara merusak susunan dan permeabilitas dinding sel mikroba, serta menghambat metabolisme energi dalam asupan oksigen (Heliawati, 2018). Zat aktif permukaan pada senyawa saponin mirip dengan deterjen yaitu bekerja dengan cara menurunkan permeabilitas dinding sel dan merusak membran sel mikroba (Baura *et al.*, 2021). Mekanisme senyawa steroid/triterpenoid dengan merusak plasma sel mikroba sehingga menyebabkan kematian sel karena bocornya sitoplasma (Kurama *et al.*, 2020).

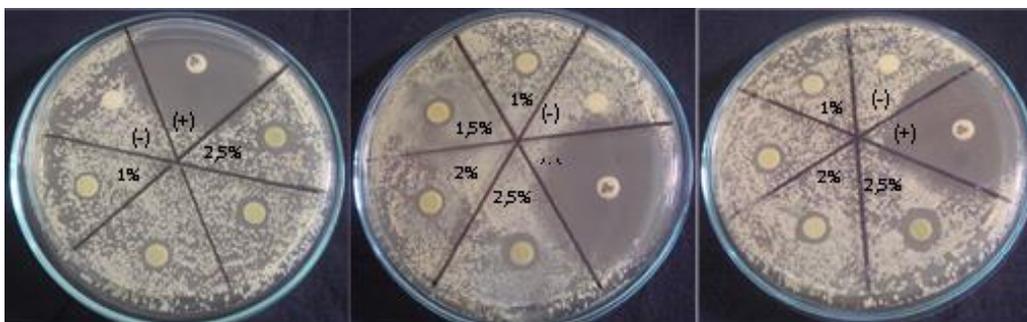
Gambar 2 dan **Gambar 3** menunjukkan bahwa pada konsentrasi 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5% ekstrak etanol daun gatal memiliki aktivitas antimikroba terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* dengan konsentrasi terendah yaitu 1,0%. Pada *S. aureus* dan *C. albicans* memiliki kemampuan aktivitas antimikroba kategori lemah dengan diameter daerah hambat masing-masing sebesar 8,76 mm dan 8,59 mm. Adanya perbedaan tersebut menunjukkan bahwa ada daya sensitivitas pada mikroba uji. Mekanisme penghambatan terhadap mikroba uji di antaranya adalah penghambatan terhadap sintesis dinding sel. Komposisi dinding sel dari mikroba uji yang digunakan berbeda sehingga menyebabkan kepekaan yang berbeda pula terhadap senyawa yang diberikan. *S. aureus* merupakan bakteri Gram positif yang mempunyai komponen dinding

sel peptidoglikan yang tebal, asam teikoat, protein, dan polisakarida (Jawetz *et al.*, 2013), sedangkan komposisi dinding sel *C. albicans* terdiri dari kitin, selulosa, β -glukan, manan, kitosan, protein, lemak dan ion anorganik.

Senyawa antimikroba yang dapat menghambat biosintesis dinding sel jamur pada umumnya adalah menghambat biosintesis kitin (Garraway & Evans, 1984; Griffin, 1994).



Gambar 2. Pertumbuhan *S. aureus* pada dilusi padat dengan ekstrak etanol daun gatal pada konsentrasi 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%



Gambar 3. Pertumbuhan *C. albicans* pada dilusi padat dengan ekstrak etanol daun gatal pada konsentrasi 1,0; 1,5; 2,0 dan 2,5%

Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dilakukan dengan metode dilusi padat, metode ini sering digunakan untuk menentukan dan menetapkan konsentrasi penghambat terkecil dari suatu senyawa antimikroba (Tortora *et al.*, 2010). Konsentrasi yang digunakan pada uji KHM merupakan konsentrasi yang dirujuk dari uji DDH dengan konsentrasi terendah yang menghasilkan diameter daya hambat yaitu 1,0%. Konsentrasi 1,0% merupakan konsentrasi tertinggi yang digunakan pada uji KHM, konsentrasi yang digunakan

adalah 1,0; 0,8; 0,6; 0,4; dan 0,2%. Kontrol negatif yang digunakan pada *S. aureus* adalah media NA dan pada *C. albicans* adalah media SDA tanpa ada penambahan zat apapun. Kontrol positif digunakan media NA dan SDA yang masing-masing ditambahkan inokulum mikroba uji. Konsentrasi terendah dari ekstrak yang didapat memberikan hambatan terhadap pertumbuhan mikroba ditetapkan sebagai konsentrasi hambat minimum (KHM) (**Tabel 4**).

Tabel 4. Uji Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) ekstrak etanol daun gatal terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *C. albicans*

Konsentrasi ekstrak etanol daun gatal (%)	Pertumbuhan mikroba	
	<i>S. aureus</i>	<i>C. albicans</i>
1,0	-	-
0,8	-	-
0,6	-	-
0,4	+	+
0,2	+	+
Kontrol positif (media + mikroba)	+	+
Kontrol negatif (media)	-	-

Keterangan: + = Positif, terdapat pertumbuhan mikroba uji
- = Negatif, tidak terdapat pertumbuhan mikroba uji

Tabel 4 menunjukkan bahwa, ekstrak etanol daun gatal dapat menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan *C. albicans* pada konsentrasi 0,6%. Pada kontrol negatif tidak terdapat pertumbuhan mikroba, sebaliknya pada kontrol positif masih terdapat pertumbuhan mikroba. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) perlu diketahui

pada suatu ekstrak tanaman obat karena seperti dilaporkan oleh Harmita & Radji (2008), bahwa KHM adalah konsentrasi antibiotik terendah yang masih dapat menghambat pertumbuhan organisme tertentu. Nilai KHM ekstrak etanol daun gatal diketahui pada konsentrasi 0,6% terhadap *S. aureus* dan *C. albicans*.

Maka dapat dikatakan bahwa ekstrak etanol daun gatal dapat digunakan sebagai antimikroba yang tergolong lemah sampai sedang terhadap *S. aureus* dan *C. albicans*. Hal ini dapat dibandingkan dengan nilai KHM ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* Jack.) memiliki konsentrasi 1,6% dalam menghambat pertumbuhan *S. aureus* dan 0,8% terhadap *C. albicans* (Efendi & Hertianti, 2013). Nilai KHM ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *C. albicans* terdapat pada konsentrasi 12,5% (Ramschie et al., 2017).

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun gatal mengandung senyawa alkaloid, tanin, flavonoid, saponin, dan steroid/triterpenoid. Ekstrak etanol daun gatal pada konsentrasi 2,5% memiliki daya hambat paling tinggi terhadap *S. aureus* sebesar 12,7 mm dan *C. albicans* sebesar 10,7 mm. Respon pertumbuhan terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* dalam kategori lemah sampai sedang. Konsentrasi ekstrak etanol daun gatal yang ditetapkan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) terhadap *S. aureus* dan *C. albicans* adalah 0,6%.

DAFTAR PUSTAKA

- Acosta, W. R. (2010). *Pharmacology for Pharmacy Technicians*. 1st ed, Baltimore MD: Lippincott Williams & Wilkins, 329p. ISBN: 078 1766 249
- Angraito, Y. U., Susanti, R., Iswari, R. S., Yuniastuti, A., Lisdiana., Nugrahaningsih, W. H., Habibah, N. A., Bintari, S. H., & Dafip, M. (2018). *Metabolit Sekunder dari Tanaman: Aplikasi dan Produksi*. Semarang: FMIPA UNS
- Asih, I. A. R. A., Rita, W. S., Ananta, I. G. B. T., & Wahyuni, N. K. D. M. S. (2018). Aktivitas antibakteri ekstrak kulit pisang (*Musa* sp.) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* serta identifikasi golongan senyawa aktifnya. *Cakra Kimia*, 6(1), 56-63
- Azaldin, M., Syawal, H., & Lukistyowati, I. (2020). Sensitivity of pineapple peel (*Ananas comosus*) extract against *Wardsiella tarda* bacteria. *Jurnal Ruaya: Jurnal Penelitian dan Kajian Ilmu Perikanan dan Kelautan*, 8(1), 53-59. <https://doi.org/10.29406/jr.v8i1.1847>
- Balouiri, M., Sadiki, M., & Ibsouda, S. K. (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 6, 71-79.
- Barnes, J., Anderson, L. A., & Philipson, J. D. (2002). *Herbal Medicines, A Guide for Healthcare Professionals*. 2nd Ed. London : Pharmaceutical Press
- Baura, V. A., Pareta, D. N., & Tulandi, S. S. (2021). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kangkung air (*Ipomoea aquatica* Forsk) terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 4(1), 10-20.
- <https://journal.fmipaukit.ac.id/index.php/jbt/article/view/303>
- Cannon, R.D., Lamping E., Holmes, A.R., Niimi, K., Tanabe, K., Niimi, M., & Monk, B.C. (2007). *Candida albicans* drug resistance-another way to cope with stress. *Microbiology*, 153, 3211-3217
- Chairunnisa, S., Setyawati, T., & Nursyamsi. (2015). *Inhibition of Betel Leaf Extract (Piper betle Linn) Against Candida albicans*. Sulawesi Tengah: Medical Student, Faculty of Medicine and Health Science, Tadulako University.
- Chew, W. L. (1965). Laportea and allied genera (*Urticaceae*). *Botanic Gardens Bulletin Singapore*, XXI, 195-208
- Costa, S. S., Viveiros, M., Amaral, L., & Couto, I. (2013). Multidrug efflux pumps in *Staphylococcus aureus*: an update. *The Open Microbiology Journal*, 7, 59-71
- Depkes. (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Depkes. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Dewitasari, W. F. (2020). Perbandingan pelarut kloroform dan etanol terhadap rendemen ekstrak daun lidah mertua (*Sansevieria trifasciata* Prain.) menggunakan metode maserasi. *Journal Uin-Alauddin*, 9, 127-132. <https://journal.uin-alauddin.ac.id/index.php/psb>
- Efendi, Y. N., & Hertiani, T. (2013). Potensi antimikroba ekstrak etanol sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* Jack.) terhadap *Candida albicans*, *E. coli*, dan *Staphylococcus aureus*. *Traditional Medicine Journal*, 18(1), 53-58
- Egra, S., Mardiana, Roffin, M., Adiwena, M., Jannah, N., Kuspradini, H., & Mitsunaga, T. (2019). Aktivitas antimikroba ekstrak bakau (*Rhizophora mucronata*) dalam menghambat pertumbuhan *Ralstonia solanacearum* penyebab penyakit layu. *Agrovigor: Jurnal Agroteknologi*, 12(1), 26-31. <https://doi.org/10.21 107/agrovigor.v12i1.5143>
- Farnsworth, N. R. (1966). Biological and phytochemical screening of plants. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 55(3), 225-276. doi: 10.1002/jps.2600550302
- Futuro, D. O., Ferreira, P. G., Nicoletti, C. D., Borbasantos, L. P., Da Silva, F. C., Rozental, S., & Ferreira, V. F. (2018). The antifungal activity of naphthoquinones: An integrative review. *Annals of The Brazilian Academy of Sciences*, 90(1), 1187-1214 <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201820170815>
- Garraway, M.O., & Evans, R. C. (1984). *Fungal Nutrition and Physiology*. NY: John Wiley & Sons
- Ginting, O. S. B. (2021). Perbandingan aktivitas antibakteri ekstrak etanol biji pepaya (*Carica papaya* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Forte Journal*, 1(1), 19-25. ISSN 2774-4655
- Griffin, D.H. (1994). *Fungal Physiology*. NY: John Wiley & Sons

- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan* (Penerjemah Padmawita, K & Iwang, S). Bandung: ITB Press
- Harmita, & Radji, M. (2008). *Buku Ajar Analisis Hayati*, Program Studi Farmasi Universitas Indonesia. Jakarta : EGC
- Hasnaeni, Wisdawati, & Usman, S. (2019). Pengaruh metode ekstraksi terhadap rendemen dan kadar fenolik ekstrak tanaman kayu beta-beta (*Lunasia amara* Blanco). *Jurnal Farmasi Galenika (Galenika Journal of Pharmacy)*, 5(2): 175–182. ISSN:2442-8744. DOI: 10.22487/j24428744.2019.v5.i2.13149
- Hawley, L., Ziegler, R.J., & Clarke, B. L. (2013). *Microbiology and Immunology*. Sixth Ed. Washington D.C: Lippincott Williams & Wilkins.
- Heliawati, L. (2018). *Kimia Organik Bahan Alam*. Bogor: Universitas Pakuan
- Heyne, K. (1987). *Tumbuhan Berguna Indonesia II*. Jakarta: Yayasan Sarana Wana Jaya
- Hidayat, D., & Hardiansyah, G. (2012). Studi keanekaragaman jenis tumbuhan obat di kawasan PT. Sari Bumi Kusuma Camp Tontang Kabupaten Sintang. *Vokasi*, 8(2), 61-68 ISSN 1693-9085
- Jawetz, Melnick, & Adelberg. (2013). *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi 25. Jakarta: EGC.
- Kurama, G. M., Maarisit, W., Karundeng, E. Z., & Potalangi, N. O. (2020). Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun benalu langsung (*Dendrophthoe* sp.) terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*. *Jurnal Biofarmasetikal Tropis*, 3(2), 27-33
- Li-Juan, F., Zhe, W., Xia-hong, W., Ruo-Yu, L., & Wei, L. (2010). Relationship between antifungal resistance of fluconazole resistant *Candida albicans* and mutations in ERG11 gene. *China Medicine Journal*, 123(5), 544-548
- Mubarak, F., Sartini, S., & Purnawati, D. (2018). Effect of ethanol concentration on antibacterial activity of bligo fruit extract (*Benincasa hispida* Tumb) to *Salmonella typhi*. *Indonesian Journal of Pharmaceutical Sciences and Technology*, 5(3), 76-81. <https://doi.org/10.24198/ijpst.v5i3.16444>
- Naglik, J.R., Richardson, J.P., & Moyes, D. L. (2014). *Candida albicans* pathogenicity and epithelial immunity, *PLOS Pathogens*, 10(8), 1-4
- Pratiwi, S.T. (2008). *Mikrobiologi Farmasi*. Jakarta: Erlangga
- Puthera, A. A. M. D., Agung, I. G. N., & Duniaji, A. S. (2013). Mempelajari pengaruh konsentrasi ekstrak rimpang lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada kacang tanah. *ITEPA: Jurnal Ilmu Teknologi Pangan*, 2(1), 1-9 ISSN 2527-8010
- Rahmadani, S., Sa'diah, S., & Wardatun, S. (2015). Optimasi ekstraksi jahe merah (*Zingiber officinale* Roscoe) dengan metode maserasi. *Jurnal Online Mahasiswa (JOM) Bidang Farmasi*, 1(1), 1-10
- Ramschie, L. M. L., Suling, P. L., & Siagian, K. V. (2017). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap *Candida albicans* secara *In vitro*. *Jurnal e-GIGI (eG)*, 5(2), 184-189
- Reapina E. (2007). *Kajian Aktivitas Antimikroba Ekstrak Kulit Kayu Mesoyi (Cryptocaria massoia) Terhadap Bakteri Patogen dan Pembusuk Makanan*. [Skripsi], Fakultas Teknologi Pertanian, Bogor: IPB
- Sardi, J.C.O., Scorzoni, L., Bernardi, T., Fusco Almeida, A. M., & Mendes Giannini, M. J. S. (2013). *Candida* species: current epidemiology, pathogenicity, biofilm formation, natural antifungal products and new therapeutic options. *Journal of Medical Microbiology*, 62, 10-24.
- Simaremare, E.S., Ruban, A., Nainggolan, M.T., Yenusi, C., Wabiser, G., & Gunawan, E. (2014). Pemanfaatan daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) varietas biak sebagai antinyeri. *Prosiding Seminar Nasional Biologi*, 5(1), 190-195
- Simaremare, E.S., Yabansabra, Y.R., Gunawan, E., & Ruban, A. (2016). Uji mutu fisik sediaan salep daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) sebagai kandidat antinyeri. *Galenika*, 3(2), 55-60
- Simaremare, E. S., Ruban, A., & Runtuboi, D. Y. P. (2017). Aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun gatal (*Laportea aestuans* (L.) Chew). *Jurnal Biologi Papua*, 9 (1), 1-7. ISSN: 2503-0450
- Simaremare, E.S., Holle, E., Gunawan, E., Yabansabra, Y.R., Octavia, F., & Pratiwi, R.D. (2018). Toxicity, antioxidant, analgesic, and anti-inflammatory of ethanol extract of *Laportea aestuans* (Linn.) Chew. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 10(5), 16-23
- Simaremare, E.S., Pratiwi, R.D., Rusnaeni, Gunawan, E., & Dirgantara, S. (2019). Pemanfaatan tanaman daun gatal (*Laportea decumana* (Roxb.) Wedd) sebagai obat anti capek. *Jurnal pengabdian dan Pemberdayaan Masyarakat*, 3(1), 97-101. DOI: 10.30595/jppm.v3i1.3027
- Susanty & Bachmid, F. (2016). Perbandingan metode ekstraksi maserasi dan refluks terhadap kadar fenolik dari ekstrak tongkol jagung (*Zea mays* L.). *Jurnal Konversi*, 5(2), 87-93. <https://doi.org/10.24853/konversi.5.2.87-93>
- Tian, J., Huang, B., Luo, X., Zeng, H., & Ban, X. (2012). The control of *Aspergillus flavus* with *Cinnamomum jensenianum* Hand-Mazz essential oil and its potential use as a food preservative. *Food Chemistry*, 130, 520-527
- Tortora, G.J., Funke, B. R., & Case, C. L. (2010). *Microbiology an Introduction*. San Francisco: Benjamin Cummings
- Wardaningrum, R. Y., Susilo, J., & Dyahariesti. (2019). *Perbandingan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Terpurifikasi Ubi Jalar Ungu (Ipomoea batatas L.) dengan Vitamin E*. Program Studi Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan. Ungaran: Universitas Ngudi Waluyo
- WHO. (2009). *Medicinal Plants in Papua New Guinea*. World Health Organization. Manila: WHO Press

- Wilson, B. A., Salyers, A. A., Whitt, D. D. & Winkler, M. E. (2011). *Bacterial Pathogenesis: A Molecular Approach*. Washington, DC: ASM Press, 540p. ISBN 9781 5558 16162
- Winduo, S. E. (2003). *Indigenous Knowledge Of Medicinal Plants In Papua New Guinea*. Canterbury: University of Canterbury
- Yulianingsih, A., & Arwie, D. (2019). Uji bioaktivitas ekstrak daun bidara bidara (*Ziziphus mauritiana* Lam.) terhadap pertumbuhan *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Kesehatan Panrita Husada*. 4(1), 49-57. <https://doi.org/10.37362/jkph.v4i1.181>
- Zuhud, E. A. M. 2012. *Buku Acuan Khusus Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid IX. Jakarta: Dian Rakyat