

**SHORT COMMUNICATION****PERBANDINGAN AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK KASAR RESIN DAN DAUN GAHARU (*Gyrinops versteegii*)****Comparison of Antibacterial Activities of Agarwood (*Gyrinops versteegii*) Resin and Leaf Crude Extract****I Gde Adi Suryawan Wangiyana*, Akram, Farouq Isbulloh**

Program Studi Kehutanan, Universitas Pendidikan Mandalika, Jl Pemuda No 59A Dasan Agung Baru, Mataram

*Email: dede.consultant@gmail.com

ABSTRACT

This research aim is to compare antibacterial activities of leaves extract and resin extract of Gyrinops versteegii with different extraction solvent and concentration. Leaves and resin had been prepared by drying and grinding then were extracted by maceration method. Factorial experiment design was used for extract application to Staphylococcus aureus ATCC25923. First factor was extract ingredient, second factor was extraction solvent, third factor was extract concentration. Inhibition zone as main parameter for antibacterial assay were analysed by ANOVA, HSD test and standard error. The inhibition zone of resin was higher than inhibition zone of leaves. The extraction solvent and extract concentration were not significantly resulted in different inhibition zone diameter. However, there were unique interaction between extraction solvent and extraction concentration that affected inhibition zone diameter. It could be concluded that the inhibition zone of resin was higher than that of leaves while no significant result from extraction solvent and extract concentration factors.

Keywords: antibacterial, agarwood, extract, leaves, resin**ABSTRAK**

Penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakteri daun gaharu dan resin gaharu *G. versteegii* menggunakan beberapa pelarut pengekstrak dan konsentrasi ekstrak yang berbeda. Bahan daun dan resin gaharu dikeringkan dan dicacah, kemudian diekstrak menggunakan metode maserasi. Uji aplikasi ekstrak pada *Staphylococcus aureus* ATCC25923 dilakukan menggunakan rancangan faktorial, yaitu faktor pertama bahan ekstrak (resin, daun), faktor kedua pelarut pengekstrak (etanol, metanol), dan faktor ketiga konsentrasi ekstrak (0,25; 0,5; dan 1 g mL⁻¹). Data zona hambat terhadap bakteri uji dianalisis menggunakan ANOVA, BNJ dan *standard error*. Rerata zona hambat ekstrak daun gaharu (7 mm) lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan rerata zona hambat ekstrak resin (6,5 mm). Faktor pelarut pengekstrak dan konsentrasi ekstrak tidak berpengaruh signifikan terhadap zona hambat. Pelarut pengekstrak dan konsentrasi ekstrak memberikan pengaruh interaksi berbeda-beda terhadap zona hambat. Dapat disimpulkan bahwa bahan ekstrak daun gaharu memiliki aktivitas antibakteri lebih bagus dibandingkan dengan ekstrak resin gaharu dengan konsentrasi ekstrak efisien sebesar 0,25 g mL⁻¹.

Kata Kunci: antibakteri, daun, ekstrak, gaharu, resin

PENDAHULUAN

Gyrinops versteegii merupakan salah satu spesies tanaman penghasil gaharu endemik pulau Lombok. Spesies ini dapat ditemukan hampir di seluruh wilayah Pulau Lombok, mulai dari Lombok Barat (Iswantari et al. 2017), Lombok Utara (Wangiyana dan Malik 2018) dan Lombok Timur (Wangiyana dan Wanitaningsih 2018). Pengembangan spesies ini tengah gencar dilakukan melalui peningkatan produktivitas biomassa (Anggadhanika et al. 2019).

Batang dan daun merupakan organ utama yang menjadi fokus pemanfaatan dari komoditas tanaman gaharu sehingga pengembangan komoditas gaharu difokuskan pada kedua organ ini. Batang pohon gaharu yang telah mendapatkan perlakuan bio-induksi mampu memproduksi resin yang beraroma harum (Turjaman et al. 2016). Sementara itu, organ daun dapat dimanfaatkan untuk diolah menjadi minuman teh herbal (Wangiyana et al. 2019). Selama ini, petani gaharu Lombok sebagian besar hanya menjual batang dan daun gaharu dalam bentuk bahan baku mentah sehingga nilai jualnya menjadi tidak stabil. Padahal kedua organ tersebut sangat potensial untuk diolah terutama sebagai bahan baku obat (Hasim et al. 2016).

Hilirisasi produk batang dan daun gaharu dalam bidang medis tidak terlepas dari aktivitas antibiotik dari kedua organ tersebut. Secara farmakologis, spesies penghasil gaharu kelompok *Aquilaria* memiliki banyak kandungan senyawa yang berpotensi sebagai antibiotik (Wang et al. 2018). Minyak esensial yang merupakan pengolahan resin dari gaharu diketahui memiliki banyak khasiat (Abidin et al. 2015). Minyak esensial *Aquilaria sinensis* memiliki efek antibakteri terhadap bakteri gram positif *Bacillus subtilis* (Chen et al. 2011) dan juga memiliki efek antifungi terhadap *Lasiodiplodia theobromae* (Zhang et al. 2014). Sementara itu ekstrak daun *Aquilaria crassna* memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus epidermidis* (Kamonwannasit et al. 2013) serta bakteri urease positif *S. aureus*, *Clostridium difficile* dan *Bacteroides* spp. (Kakino et al. 2012).

Penelitian terkait aktivitas antibakteri daun dan resin gaharu sampai saat ini

masih terbatas pada tananam penghasil gaharu kelompok *Aquilaria* (Jok et al. 2015). Sementara itu penelitian serupa pada kelompok *Gyrinops*, terutama *G. versteegii* yang merupakan spesies penghasil gaharu endemik pulau Lombok masih sangat jarang dilakukan. Penelitian tersebut diharapkan mampu memberikan informasi pengolahan resin dan daun gaharu *G. versteegii* beserta khasiat medisnya sehingga menjadi referensi bagi petani gaharu Lombok untuk meningkatkan kualitas hasil panen mereka. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk membandingkan aktivitas antibakteri daun gaharu dan resin gaharu spesies *G. versteegii* dengan pelarut pengekstrak dan konsentrasi ekstrak yang berbeda-beda. Hasil penelitian ini diharapkan memberikan manfaat berupa informasi potensi antibiotik dari daun gaharu dan resin gaharu spesies *G. versteegii* sehingga mampu mendorong peningkatan budidaya gaharu spesies ini di pulau Lombok.

BAHAN DAN METODE

Tempat dan waktu penelitian

Pengambilan daun dan resin gaharu dilakukan di perkebunan gaharu Desa Pejaring Timur Kabupaten Lombok Timur Nusa Tenggara Barat (08° 42' 24.9" S, 116° 27' 14.6" E). Proses ekstraksi dan uji antibakteri dilakukan di laboratorium terpadu Fakultas Ilmu Kehutanan Universitas Nusa Tenggara Barat. Penelitian ini dilakukan dari bulan April–Agustus 2019.

Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian antara lain: resin gaharu, daun gaharu, isolat *S. aureus* ATCC 25923, etanol 95% (Merck), metanol 95% (Merck), nutrient agar (Hi Media), akuades, kertas saring Whatman no. 1, *cotton swab*, standard McFarland 0,5, cakram disk diameter 6 mm (Merck), ekstrak bawang putih.

Metode

Penelitian ini menggunakan rancangan acak lengkap faktorial dengan 3 kali ulangan. Sampel resin diambil dari pohon gaharu di Desa Pejaring, Kabupaten Lombok Timur Nusa Tenggara Barat yang telah mendapatkan perlakuan bio-induksi.

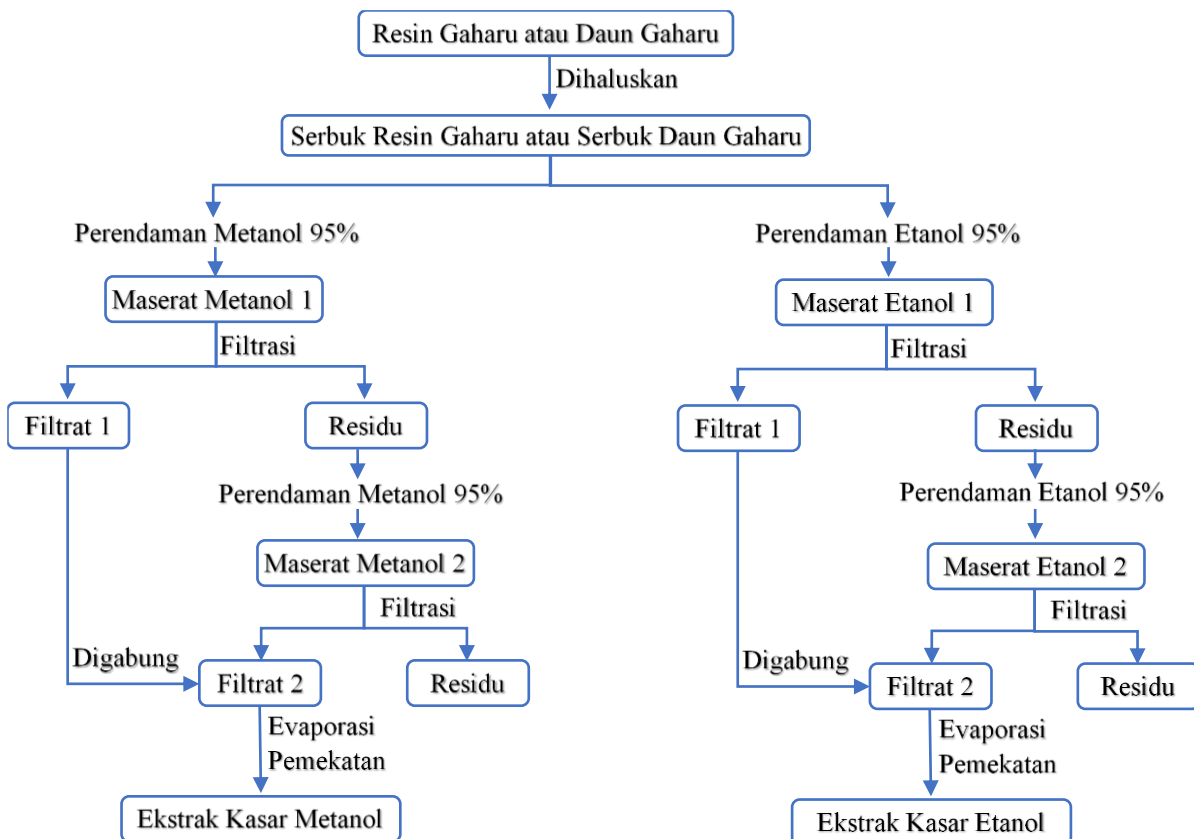
Perlakuan bio-induksi berupa injeksi miselum *Fusarium* sp. pada batang pohon gaharu untuk menginduksi terbentuknya resin. Pohon yang telah menghasilkan resin menunjukkan gejala pembentukan resin yaitu perubahan warna cokelat kehitaman (Tan et al. 2019). Pemanenan resin dilakukan sesuai metode Wangiyana dan Wanitaningsih (2018) dengan beberapa modifikasi. Kulit batang pada area inokulasi disayat secara membujur menggunakan *cutter*. Bagian resin yang berwarna cokelat kehitaman dipisahkan dari bagian kayu pada batang, kemudian dikering-anginkan selama 3 hari pada suhu ruang. Daun gaharu diambil dari 3 cabang teratas pohon gaharu yang belum mendapatkan perlakuan bio-induksi. Ukuran daun yang dijadikan sampel adalah antara 5–15 cm. Daun dikering-anginkan selama 3 hari hingga bobotnya berkurang 70% (Wangiyana dan Sami'un 2018). Daun dan resin yang sudah kering dicacah halus dengan alat penggiling sampai menjadi partikel berukuran 0,5–1 mm.

Ekstraksi daun dan resin gaharu dilakukan secara maserasi menggunakan metode Febrina et al. (2015) dengan

beberapa modifikasi. Masing-masing sebanyak 10 g resin gaharu dan daun gaharu dalam bentuk serbuk direndam dalam etanol 95% dan metanol 95%, dengan menggunakan wadah tertutup aluminium foil. Maserasi dilakukan selama 5 hari. Maserat disaring dengan menggunakan kertas saring Whatman No. 1, kemudian bagian residu dapat dimaserasi kembali selama 2 hari. Pada tahap akhir, maserat dievaporasi dan dipekatkan sehingga terbentuk ekstrak kasar (Gambar 1).

Isolat *S. aureus* ATCC 25923 diremajakan terlebih dahulu pada medium nutrisi agar (Hi Media) konsentrasi 2,8% w/v. Peremajaan dilakukan dengan metode agar gores 3 kuadran kemudian diinkubasi pada suhu 35°C selama 24 jam. Semua peralatan dan bahan yang digunakan untuk mengkultur selalu disterilisasi dengan autoklaf pada temperatur 121°C, tekanan 2 atm selama 15 menit (Camargo et al. 2016).

Rancangan aplikasi ekstrak resin gaharu dan ekstrak daun gaharu pada bakteri uji menggunakan rancangan acak lengkap percobaan faktorial dengan 3 faktor perlakuan yaitu:



Gambar 1. Proses ekstraksi resin dan daun gaharu dengan metode maserasi

Tabel 1. Persentase ekstrak resin gaharu dan daun gaharu

Bahan	Pelarut	Bobot Bahan Baku (g)	Bobot Ekstrak Kasar (g)	Persentase Ekstrak Kasar
resin	etanol	10	0,26	2,6%
resin	metanol	10	0,21	2,1%
daun	etanol	10	1,42	14,2%
daun	metanol	10	2,03	20,3%

Faktor pertama: bahan ekstrak

E₁ : Resin gaharu

E₂ : Daun gaharu

Faktor kedua: pelarut pengekstrak

P₁ : Pelarut pengekstrak etanol 95%

P₂ : Pelarut pengekstrak metanol 95%

Faktor ketiga: konsentrasi ekstrak

K₁ : Konsentrasi ekstrak 0,25 g mL⁻¹

K₂ : Konsentrasi ekstrak 0,5 g mL⁻¹

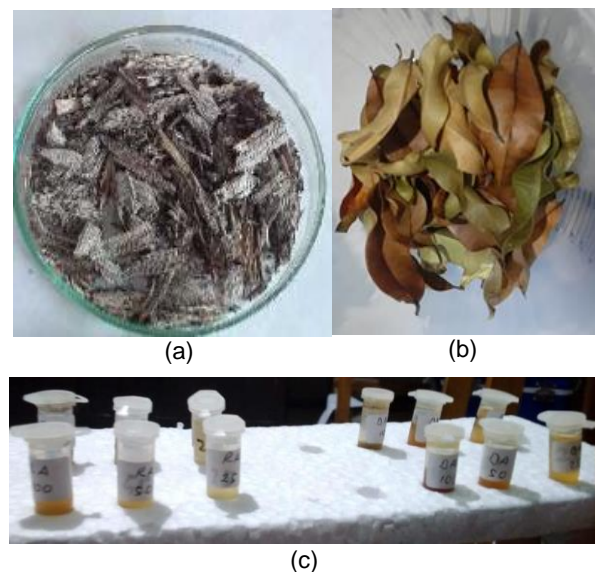
K₃ : Konsentrasi ekstrak 1 g mL⁻¹

Ekstrak kasar metanol dan etanol resin gaharu serta daun gaharu dibuat menjadi konsentrasi 1; 0,5; dan 0,25 g mL⁻¹ dengan metode dilusi menggunakan akuades. Isolat bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923 disuspensikan pada akuades kemudian distandarisasi turbiditasnya dengan standar McFarland 0,5. Suspensi isolat *S. aureus* ATCC 25923 disebar pada permukaan nutrisi agar dengan menggunakan *cotton swab*. Uji aktivitas antibakteri ekstrak resin gaharu dilakukan dengan metode difusi cakram Kirby-Bauer (Iqbal et al. 2013). Sebanyak 50 µL ekstrak resin gaharu dengan konsentrasi berbeda-beda (0,25; 0,5; dan 1 g mL⁻¹) diinjeksikan pada permukaan cakram disk yang diletakkan di atas kultur *S. aureus* ATCC 25923 pada permukaan nutrisi agar. Ekstrak bawang putih konsentrasi 1 g mL⁻¹ dijadikan sebagai kontrol positif (Wolde et al. 2018). Ekstrak bahan alam dipilih sebagai kontrol positif untuk menyeragamkan zona hambat perlakuan ekstrak dan kontrol positif menjadi sepadan sehingga dalam penelitian ini tidak digunakan antibiotik sebagai kontrol positif. Kultur diinkubasi pada temperatur 35°C selama 24 jam. Daya hambat ekstrak resin gaharu dan daun gaharu diamati melalui pengukuran zona hambat pada area sekitar cakram disk dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan secara vertikal, horizontal dan diagonal (Arifin dan Bhuiyan 2018). Data diameter zona hambat setiap kombinasi

perlakuan dianalisis secara ANOVA pada α = 0,05 menggunakan program Co-stat for windows. Jika ada perbedaan yang signifikan pada perlakuan, maka dilanjutkan dengan uji Beda Nyata Jujur (α = 0,05). Selain itu, untuk menilai lebih lanjut faktor interaksi antar perlakuan, dilakukan analisis standar error (α = 0,05).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Proses ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol dan metanol menghasilkan bobot ekstrak kasar yang berbeda-beda. Secara keseluruhan bobot ekstrak kasar daun gaharu lebih besar dibandingkan dengan bobot ekstrak kasar resin gaharu. Bobot ekstrak resin gaharu sebesar 2,1–2,6% dari bobot awal sementara itu bobot ekstrak daun gaharu sebesar 14,2–20,3% dari bobot awal. Dengan demikian bobot ekstrak daun gaharu rata-rata 7–10 kali lebih banyak dibandingkan dengan bobot ekstrak resin. Hal ini menunjukkan bahwa daun gaharu lebih banyak mengandung senyawa yang larut pada alkohol



Gambar 2. Bahan baku resin gaharu (a), bahan baku daun gaharu kering (b), ekstrak kasar resin gaharu, dan daun gaharu (c)

Tabel 2. Data diameter zona hambat

Konsentrasi (g mL ⁻¹)	Ulangan	Diameter Zona Hambat (mm)			
		Bahan Resin		Bahan Daun	
		Etanol	Metanol	Etanol	Metanol
0,25	1	7,7	6	6	6
	2	6	6	6	8,3
	3	8,3	6	6	6
	rerata	7,3	6	6	6,8
0,5	1	6	10	6	6
	2	6	6	6	10,7
	3	6	7	8,3	6
	rerata	6	7,7	6,8	7,6
1	1	6	6	7	6
	2	6	6	6	8
	3	6	6	11,7	6
	rerata	6	6	8,2	6,7

dibandingkan dengan resin gaharu. Selain itu, konstituen resin gaharu didominasi oleh senyawa seskuiterpen yang bersifat non-polar sehingga kurang larut pada pelarut polar seperti alkohol (Kristanti et al. 2018).

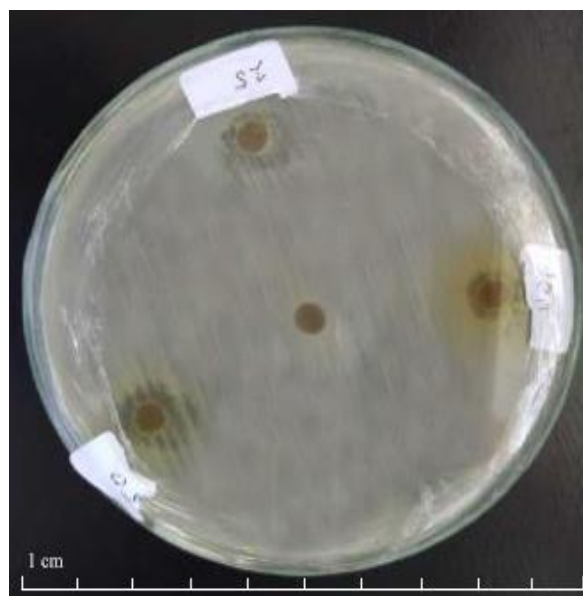
Berdasarkan Tabel 1, ekstraksi dengan pelarut etanol dan metanol memiliki pengaruh berbeda terhadap bobot ekstrak resin dan daun. Pada resin gaharu bobot ekstrak etanol lebih besar dibandingkan bobot ekstrak metanol. Sebaliknya pada daun gaharu bobot ekstrak etanol lebih kecil dibandingkan dengan ekstrak metanol. Hal ini mengindikasikan bahwa antara pelarut dengan bahan yang diekstrak memiliki interaksi tertentu yang menentukan efektivitas proses ekstraksi (Thouri et al. 2017). Pemilihan pelarut pengekstrak sendiri merupakan bagian paling penting dalam proses ekstraksi bahan obat dari tanaman dengan menggunakan metode maserasi (Azwanida 2015).

Ekstrak resin dan ekstrak daun memiliki zona hambat berbeda-beda terhadap bakteri uji *S. aureus* ATCC 25923. Zona hambat terendah yang teramati pada kultur bakteri uji adalah 6 mm. Sementara itu zona hambat tertinggi sebesar 11,7 mm (Tabel 2).

Meskipun zona hambat tiap faktor berbeda-beda, namun berdasarkan hasil ANOVA hanya faktor bahan ekstrak saja yang berbeda signifikan pada $\alpha = 0,05$. Faktor pelarut pengekstrak dan faktor konsentrasi ekstrak tidak berbeda signifikan pada $\alpha = 0,05$. Artinya bahan ekstrak berbeda memberikan pengaruh zona hambat berbeda terhadap bakteri uji. Berdasarkan uji BNJ

terlihat bahwa zona hambat ekstrak resin gaharu lebih tinggi dibandingkan dengan zona hambat daun gaharu. Sementara itu zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak dengan pelarut berbeda (etanol dan metanol) tidak berbeda signifikan secara statistik. Demikian pula halnya dengan zona hambat yang dihasilkan dari ekstrak dengan konsentrasi berbeda tidak berbeda nyata secara statistik.

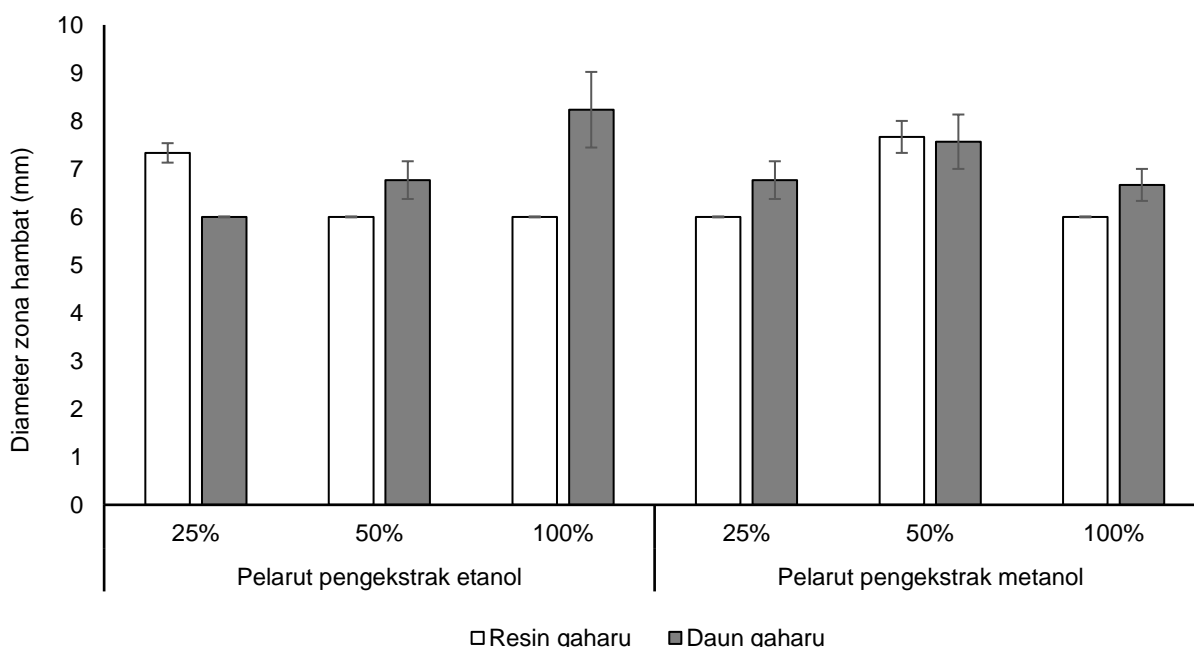
Meskipun dari 3 faktor utama hanya 1 faktor yang berbeda nyata, namun interaksi antarfaktor utama terbukti bersifat sangat nyata. Terdapat interaksi yang signifikan antara faktor ekstrak dan konsentrasi, pelarut dan konsentrasi, serta ekstrak, pelarut dan konsentrasi (Tabel 3). Hal ini

**Gambar 3.** Contoh zona hambat dari ekstrak kasar

Tabel 3. Hasil ANOVA dan BNJ Faktor Utama

Hasil ANOVA		Hasil BNJ					
Faktor Utama	Interaksi Faktor	Faktor Bahan Ekstrak		Faktor Pelarut Ekstrak		Faktor Konsentrasi Ekstrak	
		Aras	Rerata Zona Hambat (mm)	Aras	Rerata Zona Hambat (mm)	Aras	Rerata Zona Hambat (mm)
ekstrak (*)	esktrak x pelarut (ns)	E1 (resin)	7 ^a	P1 (etanol)	6,78 ^a	K1 (0,25 g mL ⁻¹)	7 ^a
pelarut (ns)	esktrak x konsentrasi (**)	E2 (daun)	6,5 ^b	P2 (metanol)	6,72 ^a	K2 (0,5 g mL ⁻¹)	6,73 ^a
konsentrasi (ns)	pelarut x konsentrasi (**)					K3 (1 g mL ⁻¹)	6,53 ^a
	esktrak x pelarut x konsentrasi (**)						

Keterangan: Untuk uji ANOVA: ns = non-signifikan, * = signifikan, ** = sangat signifikan pada $\alpha = 0,05$; Untuk uji BNJ, notasi berbeda pada tiap kolom menunjukkan berbeda nyata pada $\alpha = 0,05$



Gambar 4. Diameter zona hambat ekstrak daun dan resin gaharu menggunakan pelarut pengeksrak etanol dan metanol pada berbagai konsentrasi

mengindikasikan konsentrasi ekstrak berbeda dapat mempengaruhi zona hambat bahan ekstrak tertentu. Sementara itu konsentrasi ekstrak berbeda juga akan mempengaruhi zona hambat pelarut pengeksrak tertentu. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa zona hambat yang dihasilkan oleh bahan ekstrak berbeda, pelarut pengeksrak berbeda, dan konsentrasi ekstrak berbeda bersifat unik karena ketiga faktor tersebut saling mempengaruhi satu sama lain. Dalam studi klinis, analisis interaksi antarfaktor merupakan hal yang penting untuk dilakukan

terutama untuk pengembangan jenis obat baru (Kim 2014).

Interaksi antarfaktor utama perlu dianalisis lanjut untuk mengetahui jenis interaksi antarfaktor tersebut. Salah satu analisis yang dapat digunakan adalah analisis *standard error* (Altman dan Bland 2005). Berdasarkan analisis *standard error*, ekstrak etanol resin dan daun gaharu mempunyai efek berbanding terbalik seiring dengan penambahan konsentrasi ekstrak. Pada ekstrak etanol resin gaharu, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin rendah diameter zona hambat yang

dihasilkan. Sebaliknya pada ekstrak metanol daun gaharu, semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin tinggi pula diameter zona hambatnya. Hal ini mengindikasikan bahwa etanol dan metanol memiliki karakteristik yang unik sebagai pelarut pengeksrak daun yang digunakan untuk uji antibakteri sehingga memungkinkan dihasilkannya zona hambat berbeda dari bahan baku ekstrak yang sama (Silva et al. 2016). Sementara itu ekstrak metanol daun dan resin gaharu memiliki pola hambat yang sama seiring dengan penambahan konsentrasi. Konsentrasi ekstrak 0,5 g mL⁻¹ memiliki diameter zona hambat paling besar. Zona hambat pada konsentrasi 0,25 dan 1 g mL⁻¹ lebih rendah dibandingkan dengan konsentrasi 0,5 g mL⁻¹. Konsentrasi ekstrak metanol yang berbeda mempengaruhi kemampuan difusinya pada agar yang digunakan sebagai medium uji antibakteri (Apiah et al. 2017). Konsentrasi 0,5 g mL⁻¹ merupakan konsentrasi dengan tingkat kepekatan sedang (dibandingkan dengan 0,25 dan 1 g mL⁻¹). Tingkat kepekatan sedang ini memiliki daya difusi terbaik (Gambar 4).

Konsentrasi ideal untuk menghasilkan daya hambat terhadap bakteri uji merupakan hal yang penting dalam pengembangan tanaman obat. Konsentrasi tersebut diharapkan merupakan konsentrasi minimal yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji (Saquib et al. 2019). Untuk ekstrak metanol konsentrasi 0,5 g mL⁻¹ memiliki daya hambat lebih baik dibandingkan dengan 1 g mL⁻¹. Meskipun demikian, secara keseluruhan konsentrasi ekstrak 0,25 g mL⁻¹ memiliki zona hambat tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi lainnya (Tabel 3). Konsentrasi ekstrak lebih rendah membutuhkan bahan baku lebih sedikit. Dalam dunia industri penggunaan bahan baku yang efisien merupakan hal yang penting. Dengan demikian jika konsentrasi 0,25 g mL⁻¹ memiliki daya hambat lebih baik dibandingkan dengan 0,5 dan 1 g mL⁻¹, maka konsentrasi 0,25 g mL⁻¹ merupakan takaran yang ideal untuk mengembangkan produk ekstrak metanol resin dan daun gaharu.

KESIMPULAN

Ekstrak daun gaharu memiliki aktivitas antibakteri lebih bagus dibandingkan dengan

ekstrak resin gaharu. Pelarut pengeksrak dan bahan ekstrak memiliki interaksi berbanding terbalik terhadap zona hambat yang dihasilkan pada bakteri uji. Konsentrasi ekstrak 0,25 g mL⁻¹ merupakan konsentrasi efektif untuk menghasilkan zona hambat terbaik.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih diucapkan kepada segenap staf laboratorium terpadu Fakultas Ilmu Kehutanan Universitas Pendidikan Mandalika atas dukungan fasilitas dalam kegiatan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad ZA, Yusoff Z, Awang AF, Mohd Nor Rudin MAF, Mohd Zait MSH, Roslan MH, Mat Zaid MZI (2015) Hydro-distillation process in extracting of agarwood essential oil. In: Abd. Wahab Dul Ahad NB, Said NAB, Razali NB, Atan SB, Mat Salleh NB (eds) Technology and Innovation National Conference Proceedings (TECHON 2015). Politeknik Mukah, Serawak, pp 203–211 doi: 10.13140/RG.2.1.2091.0168
- Altman DG, Bland JM (2005) Statistic notes: Standard deviation and standard errors. *Br Med J* 331:903. doi: 10.1136/bmj.331.7521.903
- Anggadhania L, Anita Nugraheni YMM, Wangiyana IGAS, Nawawi M, Soetarto ES (2019) Biomass enhancement of agarwood formation on *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke in Lombok. *Int J Sustain Biomass Bioenerg* 2:1–5
- Appiah T, Boakye YD, Agyare C (2017) Antimicrobial activities and time-kill kinetics of extract of selected Ghanaian mushrooms. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017:4534350. doi: 10.1155/2017/4534350
- Arifin S, Bhuiyan MZI (2019) Antagonistic activity of *Bacillus amyloliquefaciens* subsp. *amyloliquefaciens* against multidrug resistant *Serratia rubidaea*. *BioRxiv the Reprint Server for Biology*. doi: 10.1101/818054
- Azwanida NN (2015) A Review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation.

- Med Aromat Plants 4:1000196. doi: 10.4172/2167-0412.1000196
- Camargo TCD, Graziano KU, Almeida AGDS, Suzuki K, da Silva CB, Pinto FMG (2016) Microbiological evaluation of the steam sterilization of assembled laparoscopic instruments. Rev Lat Am Enfermagem 24:e2830. doi: 10.1590/1518-8345.1431.2830
- Chen H, Yang Y, Xue J, Wei J, Zhang Z, Chen H (2011) Comparison of compositions and antimicrobial activities of essential oils from chemically stimulated agarwood, wild agarwood and healthy *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg trees. Molecule 16:4884–4896. doi: 10.3390/molecules16064884
- Febrina L, Rusli R, Muflihah F (2015) Optimalisasi ekstraksi dan uji metabolit sekunder tumbuhan libo (*Ficus variegata* Blume). J Trop Pharm Chem 3:74–81. doi: 10.25026/jtpc.v3i2.153
- Hasim YZ, Kerr PG, Abbas P, Mohd Salleh H (2016) *Aquilaria* spp. (agarwood) as source of health beneficial compounds: A review of traditional use, phytochemistry and pharmacology. J Ethnopharmacol 189:331–360. doi: 10.1016/j.jep.2016.06.055
- Iswantari W, Mulyaningish T, Muspiah A (2017) Karyomorfologi dan jumlah kromosom empat grup *Gyrinops versteegii* (Gilg.) Domke. di Lombok. J Ilmu Kehutan 11:205–211. doi: 10.22146/jik.28284
- Iqbal J, Siddiqui R, Kazmi SU, Kahn NA (2013) A simple assay to screen antimicrobial compounds potentiating the activity of current antibiotics. BioMed Res Int 2013:927323. doi: 10.1155/2013/927323
- Jok VA, Che Radzi N, Ku Hamid KH (2015) A review: Pharmacological properties of *Aquilaria* spp. Adv Mater Res 1113:193–197. doi: 10.4028/www.scientific.net/AMR.1113.193
- Kakino M, Sugiyama T, Kunieda H, Tazawa S, Maruyama H, Tsuruma K, Araki Y, Shimazawa M, Ichihara K, Mori H, Hara H (2012) Agarwood (*Aquilaria crassna*) extracts decrease high-protein high-fat diet-induced intestinal putrefaction toxins in mice. Pharm Anal Acta 3:1000152. doi: 10.4172/2153-2435.1000152
- Kamonwannasit S, Nantapong N, Kumkrai P, Luecha P, Kupittayanant S, Chudapongse N (2013) Antibacterial activity of *Aquilaria crassna* leaf extract against *Staphylococcus epidermidis* by disruption of cell wall. Ann Clin Microbiol Antimicrob 12:20. doi: 10.1186/1476-0711-12-20
- Kim HY (2014) Statistical notes for clinical researchers: Two-way analysis of variance (ANOVA)-exploring possible interaction between factors. Restor Dent Endod 39:143–147. doi: 10.5395/rde.2014.39.2.143
- Kristanti AN, Tanjung M, Aminah NS (2018) Review: Secondary metabolites of *Aquilaria*, a Thymelaeaceae Genus. Mini Rev Org Chem. 15:36–55. doi: 10.2174/1570193X14666170721143041
- Saqib SA, Al-Qahtani NA, Ahmad I, Kader MA, Al Shahrani SS, Asiri EA (2019) Evaluation and comparison of antibacterial efficacy of herbal extract in combination with antibiotics on periodontal pathobionts: An in vitro microbiological study. Antibiotics 8:E89. doi: 10.3390/antibiotics8030089
- Silva E, Fernandes S, Bacelar E, Sampaio A (2016) Antimicrobial activity of aqueous, ethanolic and methanolic leaf extracts from *Acacia* spp. and *Eucalyptus nicholii*. Afr J Tradit Complement Altern Med 13:130–134. doi: 10.21010/ajtcam.v13i6.18
- Tan CS, Isa NM, Ismail I, Zainal Z (2019) Agarwood induction: current developments and future perspectives. Front Plant Sci 10:122. doi: 10.3389/fpls.2019.00122
- Turjaman M, Hidayat A, Santoso E (2016) Development of agarwood induction technology using endophytic fungi. In: Mohamed R (ed) Agarwood: Tropical forestry – Science behind the fragrance. Springer, Singapore, pp 57–71. doi: 10.1007/978-981-10-0833-7_4
- Thouri A, Chahdoura H, El Arem A, Hichri AO, Hassin RB, Achour L (2017) Effect of solvents extraction on phytochemical components and biological activities of Tunisian date seeds (var. Korkobbi and Arechti). BMC Complement Altern Med 17:248. doi: 10.1186/s12906-017-1751-y

- Wang S, Yu Z, Wang C, Wu C, Guo P, Wei J (2018) Chemical constituent and pharmacological activity of agarwood and *Aquilaria* plants. *Molecules* 23:342. doi: 10.3390/molecules23020342
- Wangiyana IGAS, Malik S (2018) Application of arbuscular mycorrhiza from Senaru Forest rhizosphere for *Gyrinops versteegii* germination and growth. *Biosaintifika* 10:432–438. doi: 10.15294/biosaintifika.v10i2.14396
- Wangiyana IGAS, Sami'un (2018) Characteristic of agarwood tea from *Gyrinops versteegii* fresh and dry leaves. *J Sangkareang Mataram* 4:41–44
- Wangiyana IGAS, Sawaludin, Nizar WY, Wangiyana W (2019) Tannin concentrations of *Gyrinops* tea with different leaf processing methods and addition of herbal medicine ingredients. *AIP Conf Proc* 2199: 070012. doi: 10.1063/1.5141326
- Wangiyana IGAS, Wanitaningsih SK (2018) Pembuatan inokulan gaharu berbasis bahan baku tauge untuk masyarakat Desa Pejaring Timur. *J Abdi Insani* 5:85–91
- Wolde T, Kuma H, Trueha K, Yabeker A (2018) Anti-bacterial activity of garlic extract against human pathogenic bacteria. *J Pharmacovigil* 6:1000253. doi: 10.4172/2329-6887.1000253
- Zhang Z, Han X, Wei J, Xue J, Yang Y, Liang L, Li X, Guo Q, Xu Y, Gao Z (2014) Compositions and antifungal activities of essential oils from agarwood of *Aquilaria sinensis* (Lour.) Gilg induced by *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon. & Maubl. *J Braz Chem Soc* 25:20–26. doi: 10.5935/0103-5053.20130263