

ARTIKEL PENELITIAN**Efek Antimikroba Ekstrak Air Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* Secara *In Vitro***Qyana Al Farisi,¹ Yuke Andriane,² Miranti Kania Dewi³¹Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung ²Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung ³Departemen Farmakologi, Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung**Abstrak**

Kematian akibat infeksi *Shigella*, terutama *Shigella dysenteriae* dapat mencapai lebih dari 10% terutama pada anak dan lanjut usia pada kondisi tanpa pemberian terapi yang efektif. Siprofloksasin merupakan lini pertama untuk pengobatan infeksi *Shigella*, akan tetapi obat ini memiliki beberapa kekurangan di antaranya harga yang mahal dan resistensi. Daun mengkudu merupakan tanaman tradisional yang diduga memiliki efek antimikroba dan diharapkan dapat menjadi alternatif terapi antibiotik bagi *Shigella dysenteriae* yang saat ini sudah banyak mengalami resistensi. Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek antimikroba ekstrak air daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Penelitian ini bersifat eksperimental laboratorium murni. Zona hambat ditentukan melalui metode difusi cakram. Objek penelitian yang digunakan adalah *Shigella dysenteriae* ATCC nomor 13313. Sampel uji berupa ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100%, kontrol positif (siprofloksasin) dan kontrol negatif (*aquadest*) dengan 9 kali pengulangan. Hasil uji antimikroba dengan metode difusi cakram menunjukkan tidak terbentuk zona hambat pada ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100%. Hal tersebut menunjukkan ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Kadar flavonoid, tanin, dan alkaloid yang terdapat dalam ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% pada penelitian ini kemungkinan belum cukup untuk menghasilkan efek yang diharapkan.

Kata kunci: Daun mengkudu, *Morinda citrifolia* L, *Shigella dysenteriae*, *Shigellosis****Antimicrobial Effect of Water Extract of Noni (*Morinda citrifolia* L.) Leaves against *Shigella dysenteriae* In Vitro*****Abstract**

Death due to infection with *Shigella*, especially *Shigella dysenteriae*, can reach more than 10%, especially in children and the elderly in conditions without effective therapy. Ciprofloxacin is the first line for the treatment of *Shigella* infection, however this drug has several disadvantages including high price and resistance. Noni leaf is a traditional plant that is thought to have antimicrobial effects and is expected to be an alternative antibiotic therapy for *Shigella dysenteriae* which is currently experiencing a lot of resistance. The purpose of this study was to determine the antimicrobial effect of the water extract of noni leaves (*Morinda citrifolia* L.) on *Shigella dysenteriae* bacteria. This research is a pure laboratory experimental study. The zone of inhibition is determined by the disc diffusion method. The research object used was *Shigella dysenteriae* ATCC number 13313. The test sample was a water extract of noni leaves with a concentration of 100%, positive control (ciprofloxacin) and negative control (*aquadest*) with 9 repetitions. The results of the antimicrobial test using the disc diffusion method showed no inhibition zone was formed in the water extract of noni leaves with a concentration of 100%. This shows that a water extract of noni leaves with a concentration of 100% did not have an antimicrobial effect against the *Shigella dysenteriae* bacteria. The levels of flavonoids, tannins, and alkaloids contained in the water extract of noni leaves with a concentration of 100% in this study may not be sufficient to produce the expected effect.

Keywords: Noni leaves, *morinda citrifolia* L, *shigella dysenteriae*, *shigellosis*

Received: 8 ...; Revised: ...; Accepted: ...; Published: ...

Koresponden: Qyana Al Farisi, Program Studi Pendidikan Dokter, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Bandung Jl. Tamansari No.22, 40116, Kota Bandung 40116, Provinsi Jawa Barat, Hp. 082118235320, E-mail: qyanaalfarisi@gmail.com

Pendahuluan

Shigellosis merupakan infeksi yang disebabkan oleh *Shigella*.¹ *Shigella* merupakan penyebab kematian kedua terbanyak akibat diare pada semua usia di tahun 2016.² *Shigella* juga merupakan penyebab terbanyak diare sedang-berat di negara berkembang pada anak usia 24-59 bulan.³ Diantara 4 spesies *Shigella*, *Shigella dysenteriae* dapat memproduksi Shiga toksin sehingga dapat menyebabkan diare dengan derajat yang lebih parah.⁴

Tanpa pemberian antibiotik yang efektif, kematian akibat infeksi *Shigella*, terutama *Shigella dysenteriae* tipe 1, dapat mencapai lebih dari 10% terutama pada anak-anak dan lanjut usia.¹ World Health Organization (WHO) menetapkan siprofloksasin sebagai lini pertama untuk pengobatan shigellosis, akan tetapi obat ini memiliki beberapa kekurangan diantaranya harga yang mahal dan adanya resistensi, sehingga perlu dicari alternatif lain.⁵ Salah satu tanaman yang diduga memiliki efek antibakteri terhadap *Shigella dysenteriae* adalah mengkudu.⁶

Daun dan buah mengkudu diketahui memiliki efek antimikroba.⁶ Penelitian yang dilakukan oleh David pada tahun 2018 menunjukkan bahwa bagian daun mengkudu mengandung senyawa flavonoid yang lebih tinggi dibandingkan dengan bagian buah mengkudu.⁷ Senyawa flavonoid tersebut diketahui memiliki efek sebagai antimikroba.⁸ Daun mengkudu juga mengandung senyawa alkaloid, tannin, dan steroid yang juga memiliki efek sebagai antimikroba.⁹⁻¹² Penelitian Devy, dkk pada tahun 2019 menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu memiliki efek antibakteri terhadap *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*,¹³ sedangkan penelitian Kakad, dkk pada tahun 2015 menunjukkan bahwa ekstrak metanol mengkudu memiliki efek antibakteri terhadap *B. subtilis*, *S. typhi*, *E. coli*, *P. fluorescens*.⁹

Saat ini penggunaan metanol sebagai pelarut sudah mulai ditinggalkan karena adanya efek toksik dari metanol.¹⁴ Etanol dapat menarik zat aktif lebih baik dibanding air, akan tetapi secara harga pelarut etanol masih lebih mahal dibandingkan pelarut air.¹⁵ Ditinjau dari segi kehalalan, suatu produk dikatakan halal jika bahan yang digunakan bersifat halal.¹⁶ Selain itu, dalam prosesnya juga harus bersifat halal.¹⁶ Oleh karena itu pada penelitian ini, air dipilih sebagai pelarut dalam pembuatan ekstraknya. Pelarut air juga bersifat polar sehingga dapat menarik senyawa flavonoid, alkaloid, dan tanin dalam daun mengkudu yang juga bersifat polar.^{17,18}

Tujuan penelitian ini adalah mengetahui efek antimikroba ekstrak air daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.

Metode

Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorium murni untuk menguji efek ekstrak air daun mengkudu dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Shigella dysenteriae* yang dilakukan dengan metode difusi cakram dan dilusi. Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran pada bulan

Desember 2019 hingga Desember 2020.

Daun mengkudu pada penelitian ini didapatkan dari perkebunan di daerah Mohammad Toha, Kota Bandung. Daun mengkudu diidentifikasi melalui uji determinasi di Laboratorium Taksonomi, Departemen Biologi, FMIPA UNPAD. Pembuatan ekstrak air daun mengkudu dilakukan di Laboratorium Sentral UNPAD. Objek penelitian yang digunakan adalah bakteri *Shigella dysenteriae* ATCC (American Type Culture Collection) nomor 13313 yang dibiakan di Laboratorium Politeknik Kesehatan Bandung.

Penelitian menggunakan metode difusi cakram dilakukan dengan sembilan kali pengulangan. Penelitian dengan metode difusi cakram menggunakan tiga kelompok perlakuan yaitu ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100%, kontrol positif yang digunakan adalah siprofloksasin disk 5 µg dan kontrol negatif yang digunakan adalah aquadest. Penelitian dengan metode dilusi menggunakan enam kelompok perlakuan. Ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100%, 50%, 25%, dan 12,5%. Kontrol positif yang digunakan adalah NaCl fisiologis yang ditambah suspensi *Shigella dysenteriae* dengan standar kekeruhan McFarland 0,5 dan kontrol negatif yang digunakan adalah sisa pengenceran ekstrak yang ditambah NaCl fisiologis.

Kertas cakram yang akan digunakan disterilisasi menggunakan autoklaf. Kertas cakram kemudian direndam dengan ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% dan aquadest. Kertas cakram ditempelkan pada media Mueller Hinton Agar yang telah diinokulasi dengan suspensi bakteri *Shigella dysenteriae*. Pengujian efek antimikroba dilakukan menggunakan metode difusi cakram dengan menilai keberadaan zona hambat di sekitar kertas cakram yang tidak ditumbuhi bakteri. Pengukuran diameter zona hambat menggunakan jangka sorong.

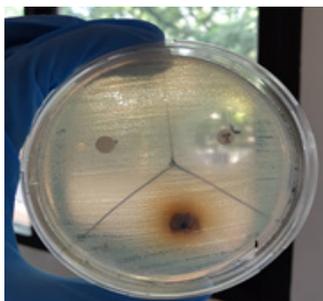
Pengujian dilanjutkan dengan metode dilusi untuk menilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM). Dilakukan metode dilusi pada enam kelompok perlakuan dengan cara diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi dari setiap tabung kelompok perlakuan yang telah diinkubasi dengan menggunakan ose lalu goreskan (streak) pada Mueller Hinton Agar dan inkubasi dengan suhu 37°C selama 24 jam. KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang memperlihatkan gambaran tabung yang bening, sedangkan KBM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang memperlihatkan gambaran tidak adanya koloni bakteri pada media Mueller Hinton Agar.

Data hasil uji metode difusi didapatkan dengan melihat distribusi rata-rata dari zona hambat. Data hasil uji dilusi didapatkan dengan melihat nilai KHM dan KBM. Data penelitian ini diolah dengan bantuan aplikasi microsoft excel.

Penelitian ini telah mendapat persetujuan etik oleh Komite Etik Penelitian Kesehatan Fakultas Kedokteran Universitas Islam Bandung dengan nomor: 022/KEPK-Unisba/X/2020.

Hasil

Hasil penelitian menunjukkan bahwa zona hambat tidak terbentuk pada pemberian ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% dan kontrol negatif yaitu aquadest, akan tetapi zona hambat terlihat pada kontrol positif yaitu siprofloksasin. Hasil penelitian dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1 Hasil Pengujian Zona Hambat dengan Metode Difusi Cakram Ekstrak Air Daun Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae*

Hasil uji zona hambat antibakteri ekstrak air daun mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) terhadap *Shigella dysenteriae* pada konsentrasi 100%, kontrol positif, dan kontrol negatif dapat dilihat pada tabel 1 di bawah ini.

Tabel 1 Hasil Uji Efek Antimikroba Ekstrak Air Daun Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) terhadap Bakteri *Shigella dysenteriae* dengan Metode Difusi Cakram

Pengulangan	Diameter zona hambat (mm)		
	Ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100 %	Kontrol positif	Kontrol negatif
1	0	21,17	0
2	0	21,09	0
3	0	21,47	0
4	0	21,02	0
5	0	21,14	0
6	0	21,30	0
7	0	21,34	0
8	0	21,18	0
9	0	21,09	0
Rata-rata	0	21,20	0

Tabel 1 menunjukkan bahwa zona hambat tidak terbentuk pada ekstrak ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% dan kontrol negatif, akan tetapi zona hambat terlihat pada kontrol positif dengan diameter rata-rata zona hambat sebesar 21,20 mm. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak air daun mengkudu tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hasil uji sensitivitas dengan metode difusi cakram tidak menunjukkan adanya zona hambat, sehingga penentuan KHM dan KBM melalui metode dilusi tidak dapat dilakukan.

Pembahasan

Hasil uji efek antimikroba dengan pemberian ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% melalui metode difusi cakram menunjukkan bahwa ekstrak air daun mengkudu tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hasil penelitian ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Zhang, dkk.¹⁹ Penelitian tersebut menunjukkan hasil berupa tidak terbentuknya zona hambat dari ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 50% terhadap bakteri *Proteus vulgaris* yang menunjukkan bahwa ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 50% tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Proteus vulgaris*.¹⁹ Akan tetapi pengujian dengan menggunakan ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 50% memperlihatkan terbentuknya zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli*.¹⁹ Zona hambat juga terlihat pada pemberian ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 200% terhadap bakteri *Proteus vulgaris*.¹⁹ Zona hambat yang terbentuk dari ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 200% pada bakteri *Escherichia coli* diameternya lebih besar dibanding ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 50%.¹⁹ Hal tersebut diakibatkan karena semakin besar konsentrasi suatu zat maka semakin besar zat aktif yang terkandung didalamnya sehingga zona hambat yang terbentuk akan berbeda tiap konsentrasi.²⁰ Selain itu, setiap strain bakteri memiliki kepekaan yang berbeda terhadap suatu zat antimikroba.^{21,22} Ketidaksiharian hasil penelitian ini dengan penelitian sebelumnya dapat pula disebabkan adanya perbedaan target kerja obat terkait struktur bakteri yang berbeda.²¹

Penelitian yang dilakukan oleh Elkins menunjukkan bahwa ekstrak buah daun mengkudu memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*.⁶ Hasil penelitian tersebut berbeda dengan hasil yang ditunjukkan pada penelitian ini. Adanya perbedaan tersebut kemungkinan disebabkan karena adanya perbedaan bagian mengkudu yang digunakan, yang menyebabkan adanya perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang terkandung didalamnya. Buah mengkudu mengandung aucubin yang bersifat sebagai antimikroba.⁶ Aucubin kemungkinan lebih efektif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*, sehingga efek antimikroba ekstrak buah mengkudu terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* lebih baik dibanding ekstrak daun mengkudu. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Dittmar, bagian buah mengkudu juga memiliki senyawa yang bersifat sebagai antimikroba yaitu caprylic acid.⁶ Senyawa aktif yang bersifat sebagai antimikroba juga terdapat pada bagian tanaman mengkudu lainnya dengan jenis dan jumlah senyawa aktif yang berbeda pada setiap bagian dari tanaman mengkudu.⁶ Daun mengkudu mengandung senyawa aktif yang bersifat sebagai antimikroba yaitu flavonoid, alkaloid, dan tanin.^{9-11,23} Berdasarkan penelitian yang dilakukan Soetan, dkk, dalam daun mengkudu terdapat sejumlah besar alkaloid dan tanin.⁶ Tanin pada tanaman mengkudu terdapat paling banyak pada bagian biji dan flavonoid terdapat lebih banyak pada akar.⁶ Kulit kayu mengkudu mengandung

anthraquinone yang bersifat antimikroba.⁶ Penelitian yang menguji efek antimikroba isolat senyawa aktif flavonoid, alkaloid, tanin, aucubin, caprylic acid, caprylic acid atau anthraquinone dalam tanaman mengkudu terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* belum pernah dilakukan, sehingga senyawa antimikroba yang secara pasti terbukti lebih efektif terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* belum dapat ditentukan.

Penelitian Hafni, dkk menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun mengkudu memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Salmonella typhirum* yang dibuktikan dengan terbentuknya zona hambat.¹⁷ Adanya perbedaan hasil penelitian tersebut dengan penelitian ini kemungkinan terjadi akibat penggunaan pelarut yang berbeda. Afinitas etanol terhadap senyawa aktif yang terkandung dalam daun mengkudu lebih baik dibanding air disebabkan karena perbedaan polaritas etanol dan air.¹⁹ Pelarut etanol memiliki polaritas yang lebih baik terhadap senyawa flavonoid, tanin, dan alkaloid dibandingkan dengan air, sehingga pelarut etanol dapat menarik senyawa-senyawa tersebut dalam jumlah yang lebih banyak.^{19,24} Penelitian Hafni, dkk juga menunjukkan bahwa ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 10% tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Salmonella typhirum* yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona hambat.¹⁷ Hal ini kemungkinan diakibatkan kadar flavonoid, tanin, dan alkaloid yang terdapat dalam ekstrak air daun mengkudu konsentrasi 100% belum cukup untuk dapat menghasilkan efek yang diharapkan, sehingga dibutuhkan konsentrasi ekstrak yang lebih besar untuk dapat menghasilkan efek yang diharapkan. Penelitian yang dilakukan oleh Zhang, dkk menunjukkan adanya efek antimikroba ekstrak air daun mengkudu pada konsentrasi minimal 200%.¹⁹ Meskipun etanol dapat menarik zat aktif lebih baik, akan tetapi pelarut etanol kemungkinan dapat meninggalkan residu pada ekstrak yang dihasilkan, sehingga berpengaruh terhadap kehalalan produknya dibandingkan dengan pelarut air.²⁵

Optimasi ekstrak dapat dilakukan untuk meningkatkan penarikan senyawa aktif.²⁶ Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Svetlana, senyawa flavonoid pada ekstrak air terbesar didapatkan pada ekstraksi dengan metode microwave-assisted extraction (MAE) yang menggunakan radiasi gelombang elektromagnetik dengan prosedur berupa 3 detik daya hidup dan 60 detik daya mati.²⁷ Prosedur tersebut diulangi sebanyak 3 kali untuk mencapai suhu sebesar 70 °C.²⁷ Gelombang elektromagnetik pada metode microwave-assisted extraction dapat menembus dinding sel simplisia dan mengeksitasi molekul air secara merata sehingga ekstraksi lebih efektif.²⁶ Penelitian yang dilakukan oleh Zsa-zsa menunjukkan senyawa tanin pada ekstrak air dengan metode soxhletasi terbesar didapatkan pada suhu 80°C selama 20 menit.²⁸ Hal ini dikarenakan semakin tinggi suhu semakin banyak senyawa tanin yang dapat

diekstrak.²⁸ Akan tetapi suhu yang digunakan tidak boleh lebih dari 80°C karena tanin tidak tahan dengan pemanasan yang terlalu tinggi.²⁸

Keterbatasan Penelitian

Uji fitokimia tidak dilakukan pada penelitian ini, sehingga kadar flavonoid, alkaloid, dan tanin yang terkandung dalam ekstrak air daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) konsentrasi 100% yang digunakan dalam penelitian ini tidak dapat ditentukan, baik secara kualitatif maupun kuantitatif.

Simpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat ditarik simpulan bahwa ekstrak air daun mengkudu (*Morinda Citrifolia* L.) konsentrasi 100% tidak memiliki efek antimikroba terhadap bakteri *Shigella dysenteriae*. Hasil uji sensitivitas dengan metode difusi cakram tidak menunjukkan adanya zona hambat, sehingga penentuan KHM dan KBM melalui metode dilusi tidak dapat dilakukan. Berdasarkan penelitian ini, terdapat beberapa hal yang dapat dilakukan untuk mengembangkan penelitian lebih lanjut yaitu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai efek ekstrak air daun mengkudu terhadap bakteri *Shigella dysenteriae* dengan konsentrasi yang lebih besar dan dilakukan uji fitokimia secara kualitatif dan kuantitatif terhadap ekstrak air daun mengkudu untuk mengetahui kandungan senyawa aktif yang terdapat didalam ekstrak air daun mengkudu.

Konflik Kepentingan

Penulis menyatakan tidak ada konflik kepentingan pada penelitian ini.

Ucapan Terimakasih

Ucapan terima kasih peneliti sampaikan kepada seluruh pihak yang membantu di Laboratorium Taksonomi Tumbuhan Departemen Biologi FMIPA UNPAD, Laboratorium Poltekkes Bandung, Laboratorium sentral Universitas Padjadjaran, dan Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran.

Daftar Pustaka

1. Nugroho RHA, Wangi H, Loehoeri S. Disentri basiler. Dalam: Setiati S, Alwi I, Sudoyo AW, K MS, Setiyohadi B, Syam AF, penyunting. Buku ajar ilmu penyakit dalam. Edisi ke-6. Jakarta Pusat: InternaPublishing; 2014. hlm. 574–80.
2. Khalil IA, Troeger C, Blacker BF, Rao PC, Brown A, Atherly DE, dkk. Morbidity and mortality due to *Shigella* and enterotoxigenic *Escherichia coli* diarrhoea: the global burden of disease study 1990–2016. *Lancet Infect Dis*. 2018;18(11):1229–

- 40.
3. Kotloff KL, Nataro JP, Blackwelder WC, Nasrin D, Farag TH, Panchalingam S, dkk. Burden and aetiology of diarrhoeal disease in infants and young children in developing countries (the global enteric multicenter study, GEMS): a prospective, case-control study. *Lancet*. 2013;6736(13):1–14.
 4. Sansonetti PJ, Bergounioux J. Shigellosis. Dalam: Kasper DL, Fauci AS, Hauser SL, Longo DL, Jameson JL, Loscalzo J, penyunting. *Harrison's principles of internal medicine*. Edisi ke-19. New York: McGraw-Hill Education; 2015. hlm. 1055–58.
 5. Williams PCM, Berkley JA. Guidelines for treatment of dysentery (shigellosis): a systematic review of the evidence. *Paediatr Int Child Health*; 2018;38(S1):S50–65.
 6. Almeida ES, de Oliveira D, Hotza D. Properties and applications of *Morinda citrifolia* (noni): a review. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2019;18:883–909.
 7. Kurniawan D. Aktivitas antimikroba dan antioksidan ekstrak tepung daun dan buah mengkudu (*Morinda citrifolia*). *JIIP*. 2018;(2):105–11.
 8. Xie Y, Yang W, Tang F, Chen X, Ren L. Antibacterial activities of flavonoids: structure-activity relationship and mechanism. *Curr Med Chem*. 2015;22(1):132–49.
 9. Kakad SL, Pise SS, Dhembare AJ. Evaluation of phytochemical, antibacterial, antifungal activities of leaf extracts of *Morinda citrifolia* (Linn). *Der Pharmacia Sinica*. 2015;6(4):9–12.
 10. Cushnie TPT, Cushnie B, Lamb AJ. Alkaloids: an overview of their antibacterial, antibiotic-enhancing and antivirulence activities. *Int J Antimicrob Agents*. 2014;44(5):377–86.
 11. Sung SH, Kim KH, Jeon BT, Cheong SH, Park JH, Kim DH, dkk. Antibacterial and antioxidant activities of tannins extracted from agricultural by-products. *J Med Plants Res*. 2012;6(15):3072–9.
 12. Doğan A, Otlu S, Çelebi Ö, Kiliçle PA, Sağlam AG, Doğan ANC, dkk. An investigation of antibacterial effects of steroids. *Turk J Vet Anim Sci*. 2017;41(2):302–5.
 13. Hadi DK, Erina, Rinidar, Fakrurrazi, Rosmaidar, Sayuthi A. Daya hambat ekstrak etanol daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) terhadap pertumbuhan *Salmonella* sp. dan *Escherichia coli*. *Jimvet*. 2019;3(2):87–97.
 14. Tiwari P, Kumar B, Kaur M, Kaur G, Kaur H. Phytochemical screening and extraction: a review. *Int Pharm Sci*. 2011;1(1):98–106.
 15. Verdiana M, Widarta IWR, Permana IDGM. Pengaruh jenis pelarut pada ekstraksi menggunakan gelombang ultrasonik terhadap aktivitas antioksidan ekstrak kulit buah lemon (*Citrus limon* (Linn.) Burm F.). *ITEPA*. 2018;7(4):213–22.
 16. Faridah HD. Sertifikasi halal di Indonesia: sejarah, perkembangan, dan implementasi. *JHPR*. 2019;2(2):68–78.
 17. Halimah H, Suci DM, Wijayanti I. Studi potensi penggunaan daun mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) sebagai bahan antibakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella typhimurium*. *JUPI*. 2019;24(1):58–64.
 18. Arifin B, Ibrahim S. Struktur, bioaktivitas dan antioksidan flavonoid. *Zarah*. 2018;6(1):21–9.
 19. Zhang WM, Wang W, Zhang JJ, Wang ZR, Wang Y, Hao WJ, dkk. Antibacterial constituents of Hainan *Morinda citrifolia* (Noni) leaves. *J Food Sci*. 2016;81(5):M1192–6.
 20. Qomar MS, Budiyanto MAK, Sukarsono, Wahyuni S, Husamah. Efektivitas berbagai konsentrasi ekstrak daun kayu manis (*Cinnamomum burmannii* [Ness.] BI) terhadap diameter zona hambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus epidermidis*. *Biota*. 2018;4(1):12–8.
 21. Farhadi F, Khameneh B, Iranshahi M, Iranshahi M. Antibacterial activity of flavonoids and their structure–activity relationship: an update review. *Phytother Res*. 2019;33(1):13–40.
 22. Silva ARN, Ranaweera CB, Karunathilaka RDN, Pathirana R, Ratnasooriya D. Antibacterial activity of water extracts of different parts of *Morinda citrifolia* grown in Sri Lanka. *IJSRP*. 2016;6(5):124–7.
 23. Wu T, Zang X, He M, Pan S, Xu X. Structure-activity relationship of flavonoids on their anti-*Escherichia coli* activity and inhibition of DNA gyrase. *J Agric Food Chem*. 2013;61(34):8185–90.
 24. Nithya TG, Jayanthi J, Ragnathan MG. Antioxidant activity, total phenol, flavonoid, alkaloid, tannin, and saponin contents of leaf extracts of *Salvinia molesta* D. S. Mitchell (1972). *Asian J Pharm Clin Res*. 2016;9(1):200–3.
 25. Oktavianingsih W, Hariyani N, Hartati FK. Analisis residu etanol pada maserat *Curcumin* rimpang kunyit (*Curcuma longa* Linn.). *JTPIL*. 2018;3(1):27–31.
 26. Setiani LA, Sari BL, Indriani L, Jupersio. Penentuan kadar flavonoid ekstrak etanol 70% kulit bawang merah (*Allium cepa* L.) dengan metode maserasi dan MAE (Microwave Assisted Extraction). *Fitofarmaka*. 2017;7(2):15–22.
 27. Trifunschi SI, Ardelean DG. Flavonoid extraction from *Ficus carica* leaves using different techniques and solvents. *Jour Nat Sci*. 2013;2013(125):81–6.
 28. Oematan ZZB. Pengaruh perbedaan suhu dan waktu ekstraksi terhadap kandungan tanin pada ekstrak daun jambu mete (*Anacardium occidentale* L.). *Calyptra*. 2015;4(2):1–12.