

## Inhibition of bacterial growth of Leilem leaf extract (*Clerodendrum minhassae* Teijsm. & Binn)

Masje Wurarah<sup>1</sup> & Yermia Samuel Mokusuli<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Departement of Education Biology, Faculty of Mathematics and Science, State University of Manado, Tondano, North Sulawesi, Indonesia.

<sup>2</sup>Departement of Biology, Faculty of Mathematics and Science, State University of Manado, Tondano, North Sulawesi, Indonesia.

### Article History

Received : February 28<sup>th</sup>, 2022

Revised : March 25<sup>th</sup>, 2022

Accepted : May 23<sup>th</sup>, 2022

\*Corresponding Author:

**Yermia Samuel Mokusuli**,  
Departement of Biology,  
Faculty of Mathematics and  
Science, State University of  
Manado, Tondano, North  
Sulawesi, Indonesia.  
Email:  
yermiamokusuli@unima.ac.id

**Abstract:** Leilem (*Clerodendrum minhassae* Teijsm. & Binn.) is a plant endemic to Sulawesi. Leilem leaves are used as a typical food vegetable for the Minahasa tribe. However, leilem leaves were used as a medicinal plant for intestinal worms, abdominal pain and chest pain. There has been no research report on the use of leilem leaves as a source of antibacterial bioactivity. This study aims to obtain the best concentration of antibacterial Leilem leaf extract. Leilem leaves are obtained from North Minahasa. Extraction by maceration method using various solvents with a level of polarity. The test concentrations of the extract were 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L and 800 mg/L. As a positive control, clindamycin 400 mg/L was used. The results showed that the percentage of solvent yield was ethanol, which was 1.23% at 1:4 (w/v) maceration. The average diameter of bacterial growth is 12.6 mm. The results of the one way ANOVA analysis showed significant differences between test concentrations ( $p > 0.5$ ). Tukey's test showed that the three extracts significantly inhibited the growth of gram-positive bacteria *Staphylococcus aureus* strain ATCC 25923. The n-hexane extract showed the best antibacterial activity, followed by ethanol extract and ethyl acetate extract. Leilem leaves are potential to be developed as a source of antibacterial bioactive.

**Keywords:** Leilem leaves; antibacteria; extract.

### Pendahuluan

Tanaman Leilem (*Clerodendrum minhassae* Teijsm dan Binn) termasuk dalam famili Verbenaceae, merupakan tumbuhan endemic Minahasa Sulawesi Utara. Masyarakat Suku minahasa memanfaatkan daun leilem sebagai sayuran pada berbagai makanan khas. Genus *Clerodendrum* telah teridentifikasi beranggotakan 500 species, banyak dimanfaatkan sebagai bahan baku obat tradisional diberbagai negara tropis (Patel dan Shrivastava, 2007; Leeratiwong *et al.*, 2011; Kaunang and Mokusuli, 2019). Secara etnomedikal, masyarakat Minahasa memanfaatkan daun leilem sebagai bahan obat untuk sakit perut, cacangan dan penyakit degeneratif (Kairupan *et al.*, 2019).

Daun Leilem telah diteliti aktivitas

farmakologinya. Bontjura (2015) melaporkan bahwa ekstrak etanol daun leilem memiliki aktivitas antibakteri namun lebih kecil dibandingkan dengan rata-rata diameter zona hambat antibiotik eritromisin. Ekstrak etanol daun leilem menunjukkan aktivitas antioksidan in vitro yang potensial (Adam *et al.*, 2013; Kairupan *et al.*, 2019). Situmorang (2016) melaporkan bahwa konsentrasi hambat tumbuh minimum (KHTM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minhassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans* yaitu pada konsentrasi 12,5%. Dari berbagai laporan penelitian tersebut belum pernah diteliti ekstrak daun leilem menggunakan berbagai jenis pelarut dan dilakukan uji aktivitas antibakteri.

Resistensi antibiotic saat ini terus meningkat diseluruh dunia. Resistensi

antibiotik disebabkan oleh mutasi pada semua jenis bakteri patogen (Negara, 2016). Modifikasi materi genetik oleh bakteri sebagai organisme uniseluler terhadap berbagai jenis antibiotik yang digunakan dalam waktu yang lama, menyebabkan laju resistensi antibiotik tergolong tinggi (Lopatkin *et al.*, 2021). Hal ini juga ditunjang oleh perilaku masyarakat yang tidak menggunakan antibiotik sesuai resep untuk penyakit tertentu (Baroroh *et al.*, 2018). Oleh karena itu perlu dilakukan penelitian tentang eksplorasi sumber antibiotik, khususnya dari antibakteri baru. Tujuan penelitian ini adalah untuk mendapatkan aktivitas antibakteri ekstrak daun Leilem dengan menggunakan pelarut apa sebutkan berdasarkan tingkat kepolarannya.

## Bahan dan Metode

### Sampel

Sampel daun Leilem diperoleh dari desa Dimembe Minahasa Utara. Sampel daun leilem yang dipilih adalah daun yang utuh. Daun leilem kemudian dicuci pada air mengalir hingga bersih. Sampel daun dimasukkan pada plastik sampel dan dibawa ke laboratorium. Sampel segar langsung dihaluskan menggunakan blender, selanjutnya sampel siap diekstraksi.

### Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi (Harborne, 1987; Mokusuli, 2008). Perbandingan simplisia dan pelarut 1:4 (b/v). Pelarut yang digunakan adalah alkohol 70% Kimia Farma, etil asetat Merck, dan n-heksan Merk. Maserasi dilakukan menggunakan toples kaca selama 2 x 24 jam pada suhu ruang. Filtrat yang diperoleh kemudian diuapkan pelarutnya menggunakan Rotary Evaporator Heidolph pada suhu 450C, 50 rpm. Ekstrak yang diperoleh selanjutnya disimpan pada referigrator.

### Analisis Kandungan Golongan Metabolit Sekunder

Analisis kandungan metabolit sekunder dilakukan menggunakan metode Harborne (1987). Golongan metabolit sekunder yang dianalisis adalah alkaloid, saponin, tannin, flavonoid, steroid dan triterpenoid. Masing masing ekstrak selanjutnya di analisis kualitatif menggunakan Spektrofotometer UV Vis Paskin Elmer pada Panjang gelombang 200 – 700 nm.

## Uji Antibakteri

### 1. Pembuatan Media Nutrien agar

Ditimbang seberat 8 gram nutrient agar dan dimasukkan ke dalam Erlenmeyer, ditambahkan dengan 250 ml aquadest, lalu dipanaskan di atas hot plate hingga mendidih sambil diaduk sampai homogen. Kemudian media disterilisasi dengan cara bagian mulut erlenmeyer ditutup dengan kapas dan dengan aluminium foil yang diikat dengan karet gelang, kemudian dimasukkan ke dalam autoclave selama 15 menit pada suhu 1210C. Tuang media steril ke dalam cawan petri steril secara aseptis didalam LAF.

### 2. Pembuatan Suspensi Bakteri

Membuat larutan suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* diambil 1 ose bakteri, dimasukkan kedalam tabung reaksi yang berisi 10 ml larutan NaCl fisiologi 0,9%, dengan biakan murni *Staphylococcus aureus* didalam tabung reaksi dikocok sampai homogen kemudian disamakan dengan standar Mc Farland.

### 3. Inokulasi Bakteri

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari BPOM Manado di subkultur pada media nutrient agar selama 2 x 24 jam dan dilakukan dua kali. Sebelum kultur bakteri digunakan identifikasi yang sesuai dengan karakteristik bakteri *Staphylococcus aureus*. Karakteristik bakteri tetap sama pada 1 x dan 2 x 24 jam hanya berbeda dimana kepadatannya pada masa inkubasi 1 x 24 jam koloni padat dan 2 x 24 jam koloni sangat padat. Hal ini menunjukkan bahwa masa inkubasi antara 1 x 24 jam dan 2 x 24 jam siklus hidup bakteri pada fase yang merupakan fase eksponensial.

### 4. Pembuatan Variasi Konsentrasi

Ekstrak daun leilem berdasarkan jenis pelarut dibuat dalam beberapa konsentrasi yaitu konsentrasi 100 mg/L, 200 mg/L, 400 mg/L, dan konsentrasi 800 mg/L. Kontrol positif menggunakan antibiotik kloramfenikol 400 mg/L sedangkan control negatif menggunakan DMSO.

### 5. Penentuan Zona Hambat Tumbuh Bakteri

Penentuan aktifitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan cara sumuran. Dibuat sumuran pada media agar yang telah dipadatkan dengan menggunakan alat

lubang tips mikropipet. Diberi label pada masing-masing konsentrasi serta kontrol positif. Setelah diberi label pada masing-masing lubang ekstrak dan kontrol positif dimasukkan kedalam lubang sumuran pada masing-masing konsentrasi, perlakuan ini diulang sebanyak tiga kali. Cawan agar diinkubasi selama 1x24 jam pada suhu 37°C. Setelah diinkubasi, zona hambat yang terbentuk diamati dan diukur diameter daerah hambat dari zona yang terbentuk menggunakan mikrometer digital sehingga diketahui diameter daerah hambat dari ekstrak daun leilem. Oleh karena rata-rata daya hambat tumbuh bakteri dari ketiga jenis ekstrak pada 800 mg/L, maka data daya hambat tumbuh bakteri pada konsentrasi tersebut dianalisis varians menggunakan SPSS IBM 2020.

## Hasil dan Pembahasan

### Ekstraksi

Ekstrak etanol daun Leilem berwarna hitam kecoklatan, sangat kental, dan memiliki bau seperti daun leilem waktu dirajang, serta tidak lagi berbau etanol. Ekstrak etil asetat, pekat berwarna hitam, kental, dan memiliki bau yang lebih harum dibandingkan ekstrak leilem etanol dan n-heksan. Ekstrak n-heksan yang dihasilkan berwarna hijau tua kekuningan, minyak kental, berbau seperti daun leilem pada saat dirajang, dan tidak lagi berbau n-heksan. Penentuan persentase rendemen dilakukan untuk mengetahui pelarut yang efektif menghasilkan jumlah rendemen ekstrak terbesar. Berat basah daun Leilem yang diekstraksi adalah 100 gram. Berat ekstrak yang dihasilkan berbeda menurut jenis pelarut yang digunakan. Ekstrak daun leilem dengan pelarut etanol menghasilkan ekstrak sebanyak 1,2329 gram. Ekstrak daun leilem dengan pelarut etil asetat menghasilkan ekstrak sebanyak 0,7333 gram. Pelarut n-heksan menghasilkan ekstrak daun leilem sebanyak 0,4146 gram (Tabel 1).

Tabel 1. Rata-rata berat ekstrak dan persentase rendemen

No	Pelarut	Berat Awal (gr)	Berat Ekstrak (gr)	% Rendemen
1	Etanol	100	1,23	1,23
2	Etil Asetat	100	0,72	0,72
3	n-heksan	100	0,41	0,41

Etanol merupakan senyawa polar menghasilkan persentase rendemen paling besar dibandingkan dengan etil asetat dan n-heksan. Hal ini menunjukkan bahwa pelarut ini merupakan pelarut yang paling efektif dalam menghasilkan ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teism. & Binn.).

### Analisis Kandungan Metabolit Sekunder

Analisis golongan metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak daun leilem dilakukan pada ekstrak berdasarkan jenis pelarut. Ekstrak etanol menunjukkan kandungan alkaloid, flavonoid, tanin dalam intensitas yang tinggi. Hasil analisis ini mengkonfirmasi penelitian yang dilakukan oleh Utami *et al.*, 2018 dimana ekstrak etanol Daun leilem mengandung empat golongan senyawa fitokimia tersebut. Ekstrak etil asetat menunjukkan kandungan alkaloid, steroid, triterpenoid, flavonoid dengan intensitas yang tinggi. Sedangkan ekstrak n-heksan menunjukkan kandungan alkaloid,

steroid, terpenoid dan saponin yang tinggi (Tabel 2). Ekstrak metanol daun leilem diperoleh kandungan fenolik dan alkaloid yang tinggi (Rachmatiah *et al.*, 2022).

Pelarut polar akan menarik senyawa golongan metabolit polar demikian juga pelarut non polar akan menarik senyawa golongan metabolit non polar (Mokusuli, 2008; Worang *et al.*, 2013; Samuel *et al.*, 2019). Hal ini dibuktikan dengan analisis kandungan golongan metabolit sekunder ekstrak. Senyawa golongan fenolik semuanya tertarik pada pelarut etanol sebagai pelarut polar dan etil asetat sebagai pelarut non polar (Repi *et al.*, 2013; Rombot and Mokusuli, 2020; Rettob *et al.*, 2021). Walaupun demikian, beberapa senyawa metabolit sekunder polar juga dapat ditarik oleh n-heksan sebagai pelarut non polar (Kaunang and Mokusuli, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa ekstraksi dengan metode maserasi pada daun leilem umumnya dapat menarik senyawa golongan metabolit sekunder baik polar maupun non polar. Profil

spektrofotometer menunjukkan ketiga jenis ekstrak memiliki 3 puncak serapan yang berbeda. Walaupun demikian suatu hal yang menarik bahwa ketiga ekstrak memiliki serapan Panjang

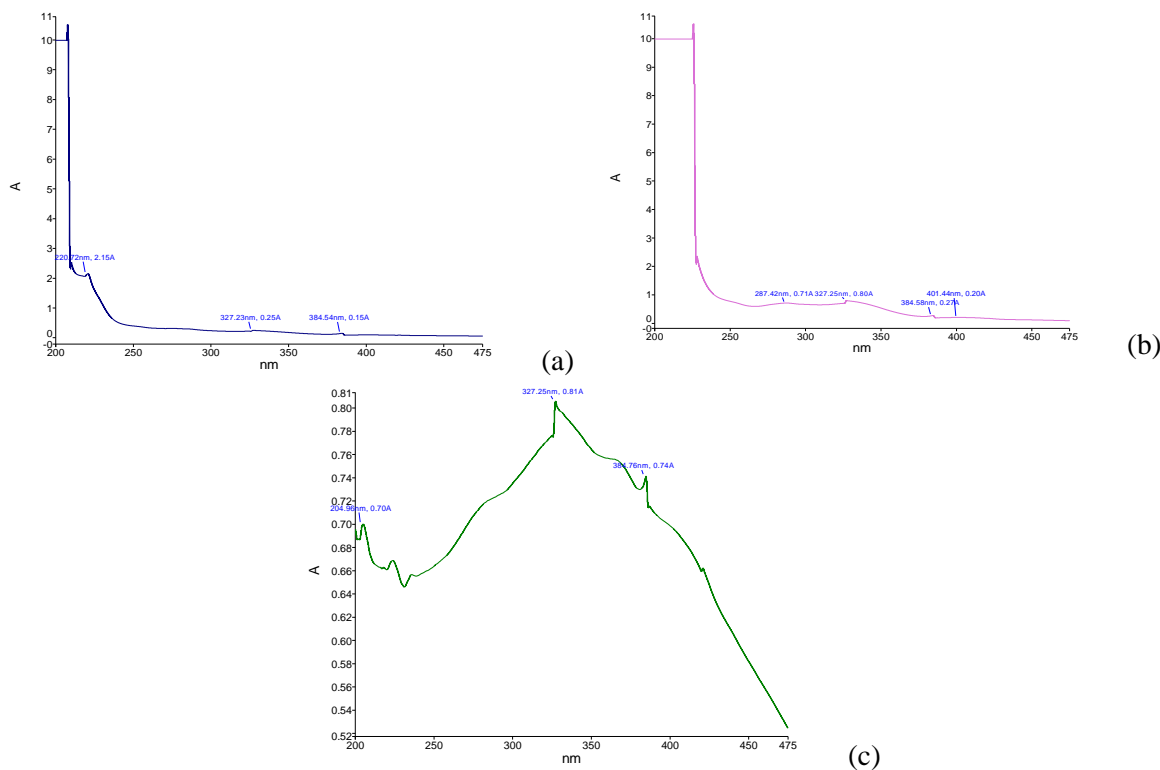
gelombang yang sama yaitu 384 nm. Studi literasi menunjukkan seraoan pada Panjang gelombang tersebut termasuk pada golongan senyawa fenolik.

Tabel 2. Hasil Analisis Golongan Metabolit Sekunder Ekstrak Daun Leilem

No	Golongan Metabolit Sekunder	Ekstrak Etanol	Ekstrak etil asetat	Ekstrak n-heksan	Keterangan
1	Alkaloid				
	- P. Meyer	++	+	+	Endapan putih
	- P. Wagner	+	+	+	Endapan Coklat
	- P. Dragendorf	++	++	++	Endapan jingga
2	Flavonoid	++	++	++	Berwana kuning
3	Saponin	-	-	-	Terdapat buih yang stabil
4	Tanin	++	-	+	Berwarna coklat kehitaman
5	Steroid	+	++	++	Berwarna hijau
6	Triterpenoid	+	++	++	Berwarna coklat

Pengukuran serapan Spektrofotometer UV Vis ekstrak etanol menunjukkan tiga absorbansi puncak yaitu pada panjang gelombang 220,72 nm; 327,23 nm dan 384,54 nm. Serapan pada ekstrak etil asetat juga diperoleh 3 puncak absorbansi yaitu pada panjang gelombang 287,42 nm; 384,58 nm dan 401,44 nm. Sedangkan pada

ekstrak n-heksan absorbansi puncak diperoleh pada Panjang gelombang 204,96 nm; 327,25 nm dan 384,76 nm (Gambar 1). Berdasarkan studi literasi, puncak absorbansi ekstrak etanol dan ekstrak etil asetat adalah senyawa golongan fenolik dan flavonoid (Hamidu et.al. 2018; Patle et.al. 2020; Zhang et.al. 2018).



Gambar 1. Profil Spektrofotometer Ekstrak Daun Leilem (a) Ekstrak Etanol (b). Ekstrak etil asetat dan (c). Ekstrak n-heksan

### Uji Antibakteri

Hasil pengukuran zona hambat tumbuh bakteri menunjukkan bawah rata rata daya hambat tumbuh bakteri tertinggi pada perlakuan 800 mg/L pada semua jenis ekstrak. Oleh karena itu analisis varians hanya dilakukan pada konsentrasi 800 mg/L. Rata rata zona hambat tumbuh bakteri tertinggi pada konsentrasi uji 800 mg/L ekstrak etanol yaitu 12.6 mm, ekstrak etil asetat 11,63 mg/L dan ekstrak n-heksan 11,98 mg/L (Table 1). Dibandingkan dengan control

positif kloramfenikol yang memiliki diameter zona hambat 11,26, semua ekstrak daun leilem menunjukkan daya hambat tumbuh bakteri yang lebih baik. Hasil analisis varians menunjukkan bahwa terdapat pengaruh jenis ekstrak terhadap daya hambat tumbuh bakteri *S. aureus* ATCC25923 ( $p>0,05$ ). Uji lanjut Tukey menunjukkan terdapat perbedaan perlakuan jenis ekstrak terhadap daya tumbuh bakteri *S. aureus* ( $p>0,05$ ).

Tabel 3. Data diameter zona hambat ekstrak sarang lebah Apis dorsata Binghami terhadap *S. aureus* ATCC25923

Sampel Uji	Diamater Zona hambat (mm)					Kontrol (+) Kloram fenicol	Kontrol (-) DMSO Steril
	100 mg/L	200 mg/L	400 mg/L	800 mg/L			
Ekstrak Etanol	7.20	9.20	10.26	12.60			
	7.40	9.10	10.20	12.50			
	7.40	9.30	9.50	12.70			
	<i>rata rata</i>	7.33	9.20	9.99	12.60		
<i>STDV</i>	0.12	0.10	0.42	0.10			
Ekstrak etil asetat	7.45	8.32	8.70	11.20			
	7.45	8.33	9.20	12.20			
	7.24	9.20	9.80	11.50	11.26	6	
	<i>rata rata</i>	7.38	8.62	9.23	11.63		
<i>STDV</i>	0.12	0.51	0.55	0.51			
Ekstrak n-heksan	7.20	9.30	10.20	11.45			
	7.60	9.00	10.20	12.20			
	7.70	9.2	10.40	12.30			
	<i>rata rata</i>	7.50	6.10	10.27	11.98		
<i>STDV</i>	0.26	0.21	0.12	0.46			

Keterangan : diameter cakram 6,00 mm

Hasil uji antibakteri menunjukkan aktivitas penghambatan tumbuh bakteri ekstrak daun Leilem tergolong kuat pada konsentrasi uji 200 mg/L , 400 mg/L dan 800 mg/L. Dibandingkan dengan control positif antibiotik kloramfenikol konsentrasi uji 800 mg/L menunjukkan rata rata zona hambat yang lebih baik. Kloramfenikol merupakan antibiotik spektrum luas yang dapat menghambat bakteri Gram positif dan negatif (Hanik, 2012). Berdasarkan pengamatan yang dilakukan zona hambat tumbuh bakteri tetap stabil selama 2x24 jam. Daya hambat tumbuh bakteri pada konsentrasi tertinggi yaitu 800 mg/L menunjukkan bahwa golongan senyawa metabolit sekunder tumbuhan memiliki aktivitas sitotoksik terbaik pada konsentrasi tersebut. Kandungan alkaloid, flavonoid, steroid dan

triterpenoid dilaporkan memiliki aktivitas antibakteri. Senyawa fenolik dari ekstrak tumbuhan memiliki aktivitas antibakteri spektrum luas (Maria *et al.*, 2018). Lebih lanjut Wikaningtyas *et al.*, (2016) melaporkan bahwa flavonoids, alkaloids, saponins, quinones, tannins and sterols memiliki aktivitas antibakteri pada methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Tumbuhan genus *Clerodendrum* sp. dilaporkan mengandung senyawa fenolik, glikosida, antrakuinon, terpenoid, flavinoid, tanin, lignin dan saponin. Golongan senyawa tersebut memiliki aktivitas antioksidan dan antibakteri yang kuat (Prasad *et al.*, 2012). Ekstrak etanol *Clerodendrum philippinum* Schaeue memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik untuk bakteri patogen umum

(Venkatanarasimman *et al.*, 2012). Senyawa metabolit sekunder tumbuhan memiliki mekanisme antibakteri yang bervariasi. Senyawa golongan flavonoid umumnya merusak peptidoglikan yang bersifat polar sedangkan senyawa fenolik merusak dinding sel bakteri dengan memutuskan ikatan peptidoglikan (Gorniak *et al.*, 2019; Gorlenko *et al.*, 2020; Kongkham *et al.*, 2020). Metabolit sekunder golongan saponin yang bersifat detergen bekerja membentuk kompleks dengan sterol membrane sel bakteri yang menyebabkan kerusakan membrane. Disamping itu interaksi saponin dengan fosfolipid menurunkan permeabilitas membrane sel bakteri (Francis *et al.*, 2002; Zaynab, *et al.*, 2021).

### Kesimpulan

Etanol menghasilkan rendemen tertinggi dibandingkan pelarut lainnya dalam mengekstraksi daun leilem. Ekstrak etanol, ekstrak etil asetat dan ekstrak n-heksan dari daun Leilem segar memiliki kandungan bioaktif yang potensial sebagai antibakteri. Berdasarkan rata-rata dan lama waktu zona hambat yang terbentuk, ekstrak daun Leilem mengandung senyawa metabolit sekunder dengan aktivitas antibakteri yang kuat.

### Ucapan terima kasih

Disampaikan terima kasih kepada LPPM Universitas Negeri Manado yang telah membiayai penelitian ini lewat skim penelitian terapan unggulan perguruan tinggi.

### Referensi

- Adam, C., Djarkasi, G. S., Ludong, M. M., & Langi, T. (2013, April). Penentuan total fenol dan aktivitas antioksidan ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*). In *COCOS* (Vol. 2, No. 3).
- Baroroh, H. N., Utami, E. D., Maharani, L., & Mustikaningtiyas, I. (2018). Peningkatan Pengetahuan Masyarakat Melalui Edukasi Tentang Penggunaan Antibiotik Bijak dan Rasional. *ad-Dawaa'Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(1).
- Bontjura, S., Waworuntu, O. dan Siagian, K., 2015, Uji Efek Antibakteri Ekstrak Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) Terhadap Bakteri *Streptococcus mutans*, *Pharmacocon Jurnal Ilmiah Farmasi*, Manado, Indonesia, hal.99'
- Bontjura *et al.*, (2015) meneliti bahwa senyawa fenol dalam ekstrak daun leilem memiliki efek antibakteri terhadap bakteri *Streptococcus mutans*.
- Francis, G., Kerem, Z., Makkar, H. P., & Becker, K. (2002). The biological action of saponins in animal systems: a review. *British journal of Nutrition*, 88(6), 587-605.
- Górniak, I., Bartoszewski, R., & Króliczewski, J. (2019). Comprehensive review of antimicrobial activities of plant flavonoids. *Phytochemistry Reviews*, 18(1), 241-272.
- Gorlenko, C. L., Kiselev, H. Y., Budanova, E. V., Zamyatnin, A. A., & Ikryannikova, L. N. (2020). Plant secondary metabolites in the battle of drugs and drug-resistant bacteria: new heroes or worse clones of antibiotics?. *Antibiotics*, 9(4), 170.
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, terbitan kedua*, ITB. Bandung, Indonesia.
- Hamidu, L., Ahmad, A. R., & Najib, A. (2018). Qualitative and quantitative test of total flavonoid buni fruit (*Antidesma bunius* (L.) Spreng) with UV-Vis spectrophotometry method. *Pharmacognosy Journal*, 10(1).
- Kongkham, B., Prabakaran, D., & Puttaswamy, H. (2020). Opportunities and challenges in managing antibiotic resistance in bacteria using plant secondary metabolites. *Fitoterapia*, 147, 104762.
- Kaunang, E. S. N. and Mokusuli Y. S. (2017). Botanical and phytochemical constituents of several medicinal plants from mount Klabat north Minahasa. *J Med Plants Stud*; 5(2):29-35.
- Kairupan, C. F., Mantiri, F. R., & Rumende, R. R. H. (2019). Phytochemical screening and antioxidant activity of ethanol extract of leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) as an antihyperlipidemic and antiatherosclerotic agent. In *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science* (Vol. 217, No. 1,

- p. 012016). IOP Publishing.
- Kaunang E. S. N. and Mokusuli Y. S. Botanical and phytochemical constituents of several medicinal plants from mount Klabat north Minahasa. *J Med Plants Stud* 2017; 5(2):29-35.
- Lopatkin, A. J., Bening, S. C., Manson, A. L., Stokes, J. M., Kohanski, M. A., Badran, A. H., ... & Collins, J. J. (2021). Clinically relevant mutations in core metabolic genes confer antibiotic resistance. *Science*, 371(6531), eaba0862.
- Leeratiwong, C., Chantaranonthai, P., & Paton, A. J. (2011). A synopsis of the genus *Clerodendrum* L. (Lamiaceae) in Thailand. *Tropical Natural History*, 11(2), 177-211.
- Mokusuli, Y. S. (2008). Aktivitas antioksidasi dan antikanker ekstrak kulit batang Langsat (*Lansium domesticum* L.) (Doctoral dissertation, Tesis).
- Maria, R., Shirley, M., Xavier, C., Jaime, S., David, V., Rosa, S., & Jodie, D. (2018). Preliminary phytochemical screening, total phenolic content and antibacterial activity of thirteen native species from Guayas province Ecuador. *Journal of King Saud University-Science*, 30(4), 500-505.
- Negara, K. S. (2016). Analisis implementasi kebijakan penggunaan antibiotika rasional untuk mencegah resistensi antibiotika di RSUP Sanglah Denpasar: Studi kasus infeksi methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Administrasi Rumah Sakit Indonesia*, 1(1).
- Situmorang, H. R. (2016). Uji konsentrasi hambat minimum (KHM) ekstrak daun leilem (*Clerodendrum minahassae* L.) terhadap bakteri *Streptococcus mutans*. *PHARMACON*, 5(4).
- Semuel, M. Y., Kaunang, E. S. N., & Manopo, J. S. (2019). The bioactive contents and antioxidant activity of honey bee nest extract of *Apis dorsata* Binghami from the North Sulawesi. *Molekul*, 14(2), 92-102.
- Rachmatiah, T., Daud, J. J., & Artanti, N. (2022). Aktivitas Antioksidan, Toksisitas, Kandungan Senyawa Fenol dan Flavonoid Total dari Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn). *SAINSTECH FARMA*, 15(1), 35-43.
- Repi, R. A., Mokusuli, Y.S. Ngangi, J., & Sumampouw, H. M. (2013). Hepatoprotective Activity Combination between *Morinda Citrifolia* Linn (Mengkudu) Extract and Virgin Coconut Oil (VCO). *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare*, 3(13), 160-166.
- Rettob, T. M. K., Zebua, E., Butar-butur, I. S., Tular, F. G., & Mokusuli, Y. S. (2021). The Utilization of Beehive Wax a Combination of Nutmeg Extract (*Myristica fragrans* Houtt.) and Langsat (*Lansium domesticum* L.) as Aromatherapy and Mosquito Repellent. *Jurnal Biologi Tropis*, 21(3), 845-853.
- Rombot, D. V., & Semuel, M. Y. (2020). Bioaktivitas Larvasida Nyamuk *Anopheles* sp. Dari Ekstrak Bunga *Tagetes erecta* L. Yang Berasal Dari Kota Tomohon. *Jurnal Biomedik: JBM*, 12(3), 161-167.
- Utami, Y. P., Imrawati, I., & Rasyid, A. (2018). Isolasi dan Karakterisasi Ekstrak Etanol Daun Leilem (*Clerodendrum Minahassae* Teijsm Dan Binn.) Dengan Metode Spektrofotometri Isolation And Characterization Ethanol Extract Of Leilem Leaves (*Clerodendrum Minahassae* Teijsm And Binn) With Methods Spectrophotometric. *Jurnal Farmasi Medica/Pharmacy Medical Journal (PMJ)*, 1(2).
- Patle, T. K., Shrivastava, K., Kurrey, R., Upadhyay, S., Jangde, R., & Chauhan, R. (2020). Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV-vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 242, 118717.
- Prasad, M. P., Sushant, S., & Chikkaswamy, B. K. (2012). Phytochemical analysis, antioxidant potential, antibacterial activity and molecular characterization of *Clerodendrum* species. *International journal of molecular biology*, 3(3), 71-76.
- Venkatanarasimman, B., Rajeswari, T., & Padmapriya, B. (2012). Antibacterial potential of crude leaf extract of *Clerodendrum philippinum* Schauer. *Int J Pharm Biol Arch*, 3(2), 307-310.
- Worang, R. L., Semuel, M. Y., & Pendong, D. F.

- (2013). Antimalarial and antibacterial bioactivity of langsung (Lansium minahasae l.) bark extract. *Journal of Natural Sciences Research*, 3(14).
- Wikaningtyas, P., & Sukandar, E. Y. (2016). The antibacterial activity of selected plants towards resistant bacteria isolated from clinical specimens. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 6(1), 16-19.
- Zaynab, M., Sharif, Y., Abbas, S., Afzal, M. Z., Qasim, M., Khalofah, A., ... & Li, S. (2021). Saponin toxicity as key player in plant defense against pathogens. *Toxicon*, 193, 21-27.