

Penapisan Senyawa Kimia Tumbuhan dan Daya Hambat Pertumbuhan Bakteri dari Fraksi n-Heksan Daun Pagoda (*Clerodendrum paniculatum* L.) terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*

Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of n-Hexane Fraction of Pagoda Flower (*Clerodendrum paniculatum* L.) Leaves against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*

Ihsanul Hafiz^{1*}, Dewi Pertiwi², Nurul Husna¹

¹Departement of Pharmaceutical Pharmacology, Faculty of Pharmacy and Health,
Institut Kesehatan Helvetia,

Kapten Sumarsono Street No 107, Medan 20124, Indonesia

²Departement of Pharmaceutical Biology, Faculty of Pharmacy,
Universitas Sumatera Utara,

Tri Darma Street No 5, Medan 20155, Indonesia

*Corresponding author email: ihsanulhafiz@helvetia.ac.id

Received 20-06-2021 **Accepted** 17-09-2021 **Available online** 31-12-2021

ABSTRAK

Tanaman pagoda (*Clerodendrum paniculatum* L.) termasuk ke dalam tanaman obat yang diketahui memiliki berbagai manfaat, termasuk dalam mengatasi permasalahan infeksi bakteri. *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis* merupakan jenis bakteri yang menginfeksi dan mengakibatkan masalah Kesehatan pada kulit. Artikel ini membahas hasil dari uji antibakteri yang dimiliki oleh fraksi n-heksan dari daun pagoda terhadap kedua bakteri kulit tersebut. Fraksi daun pagoda yang diperoleh dilakukan skrining fitokimia dasar, kemudian diujikan aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*, dengan metode difusi cakram. Hasil pengujian menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun pagoda mengandung glikosida dan steroid/triterpenoid. Daya hambat terbaik fraksi terhadap bakteri *S. aureus* pada konsentrasi 10% ($11,16 \pm 0,31$) dan terhadap *S. epidermidis* pada konsentrasi 15% ($8,33 \pm 0,23$). Berdasarkan hasil tersebut disimpulkan fraksi n-heksan daun pagoda memiliki aktivitas terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*.

Kata kunci: antibakteri, *Clerodendrum paniculatum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

ABSTRACT

Pagoda flower (Clerodendrum paniculatum L.) is a medicinal plant with antimicrobial activity. Staphylococcus aureus and Staphylococcus epidermidis are commonly cause health problems on the skin. In this study, the antibacterial activity of the n-hexane fraction from pagoda leaves was tested. The pagoda leaf fraction obtained was screened for basic phytochemicals, then tested for its antibacterial activity against S. aureus and S. epidermidis bacteria, using the disc diffusion method. The test results showed that the n-hexane fraction of pagoda leaves contained glycosides and steroids/triterpenoids. The best inhibition of the fraction was against S. aureus at a concentration of 10% (11.16±0.31) and against S. epidermidis at a concentration of 15% (8.33±0.23). Based on these results, it was concluded that the n-hexane fraction of pagoda leaves had bacterial inhibitory activity against S. aureus and S. epidermidis.

Keywords: antibacterial, *Clerodendrum paniculatum*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*

Pendahuluan

Indonesia adalah negara yang memiliki kekayaan dalam keragaman hayati dimana terdapat ribuan jenis tumbuhan, dan banyak diantaranya memiliki aktivitas biologis dan dapat dimanfaatkan sebagai obat. Pemanfaatan tanaman sebagai pengobatan khususnya secara tradisional telah menjadi budaya bagi masyarakat Indonesia dengan memanfaatkan berbagai macam jenis tanaman dan bagiannya. Salah satu tanaman yang diketahui memiliki aktivitas dan berpotensi digunakan sebagai obat tradisional dan dikembangkan secara saintifik adalah tanaman pagoda (*Clerodendrum paniculatum* L.) (Pertiwi et al., 2020b; Rintelen et al., 2017). Tanaman pagoda umumnya ditanam sebagai tanaman hias halaman rumah di Indonesia dan banyak tumbuh liar secara bebas di berbagai daerah. Secara global, tanaman ini telah banyak digunakan dan dimanfaatkan

sebagai obat oleh masyarakat India, China, Korea, Jepang dan Thailand. Tanaman pagoda secara tradisional dimanfaatkan untuk mengobati hipertensi, tipus, kanker, asma, malaria, katarak dan penyakit kulit (Guessan et al., 2010; Hafiz et al., 2016; Kar et al., 2014; Shrivastava and Patel, 2007).

Kandungan bioaktif daun pagoda yang telah diketahui adalah flavonoid, terpenoid, tannin, alkaloid, sterol dan glikosida (Hafiz et al., 2019a). Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa daun pagoda memiliki aktivitas yang baik dalam menghambat bakteri diantaranya *Salmonella Newport*, *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus* (Joseph et al., 2011; Leena and Aleykutty, 2012; Radha and Kumar, 2012). Selain sebagai antibakteri, tanaman pagoda dan sejenisnya diketahui memiliki aktivitas farmakologi sebagai antivirus, antioksidan, antihipertensi, antiinflamasi, antiplatelet dan berpotensi antikanker (Hafiz et al.,

2019b, 2019a, 2016; Hafiz and Ginting, 2019; Pertiwi et al., 2020b).

Artikel ini akan membahas mengenai hasil uji antimikroba fraksi non polar (n-heksan) dari ekstrak yang diperoleh dari daun pagoda terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Pemilihan fraksi ini merupakan langkah penapisan aktivitas yang dilakukan untuk mengetahui aktivitas senyawa non-polar yang dimiliki oleh daun pagoda. Tujuan dilakukannya penelitian ini adalah untuk melihat potensi aktivitas daun pagoda, khususnya fraksi non-polarnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri kulit. Penelitian ini diharapkan dapat bermanfaat dan dikembangkan menjadi sediaan antibakteri kulit berbahan aktif ekstrak, fraksi dan isolat dari daun pagoda kedepannya.

Metode Penelitian

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya adalah alat-alat gelas laboratorium (Pyrex) yang umum digunakan, timbangan analitik (Denver), pipet mikro (Eppendorf), cawan petri (Pyrex), rotary evaporator (IKA), inkubator (Memmert), oven (Memmert), dan autoclave (GEA).

Bahan kimia yang digunakan antara lain yaitu n-heksan, etil asetat, $HgCl_2$, $Bi(NO_3)_3$, HNO_3 , KI, iodium, α -naftol, Ac_2O , H_2SO_4 (p), $CHCl_3$, $FeCl_3$, $Pb(CH_3COO)_2$, NaOH, HCl (p), $AlCl_3$, air suling, methanol dan etanol 96%, MHA (Muller Hinton Agar) (Oxioid), NaCl 0,9% (Otsu-NS), H_2SO_4 0,36 N, $BaCl_2 \cdot 2H_2O$

1,175%, spiritus, serbuk mg, klindamisin 300 mg (OGB Dexa), dan Dimethyl Sulfoksida (DMSO) (Emsure). Penelitian ini menggunakan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC[®] 25923TM dan *Staphylococcus epidermidis* ATCC[®] 12228TM yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Sumatera Utara.

Jalannya Penelitian

1. Persiapan sampel uji

Daun pagoda yang digunakan dalam penelitian ini merupakan daun yang muda dan tua, daun muda merupakan daun yang dipetik bagian ujungnya pada urutan daun ujung pertama hingga keempat, sedangkan daun tua merupakan daun yang dipetik pada urutan kelima dari ujung daun hingga daun kedelapan, daun dipetik secara manual satu persatu (Husni et al., 2020; Kesehatan, 1980). Daun pagoda diperoleh dari Pancur Batu, Deli Serdang, Sumatera Utara, Indonesia. Daun pagoda yang diperoleh dideterminasi untuk memastikan spesiesnya oleh Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan (LIPI), dengan hasil identifikasi *Clerodendrum paniculatum* L., suku Lamiaceae.

Daun pagoda yang diperoleh dibersihkan dibawah air mengalir, ditiriskan kemudian dipilih daun yang utuh dan tidak rusak. Daun yang dipilih dikeringkan menggunakan lemari pengering pada

suhu 45°C selama 3 hari. Daun kering atau simplisia yang diperoleh dikumpulkan dan kemudian diserbuk, disimpan, dan dilakukan ekstraksi menggunakan etanol 96% dengan metode maserasi. Lama proses maserasi total adalah selama tujuh hari, dimana 800 g simplisia direndam dengan 6 L etanol 96% selama lima hari, disaring, kemudian ampas yang diperoleh direndam ulang di dalam 2 L pelarut selama dua hari, dan disaring kembali. Filtrat 1 dan 2 digabungkan, dan dilakukan pemisahan dari pelarut untuk memperoleh ekstrak dengan menggunakan alat *rotary evaporator* (Azwanida, 2015; Lemaire et al., 1999; Yulianingtyas and Kusmartono, 2016).

Fraksinasi dilakukan dengan metode partisi menggunakan corong pisah. 10 g ekstrak dilarutkan dalam 50 mL pelarut etanol-air (2:3), kemudian dipartisi dengan 150 mL pelarut n-heksan hingga membentuk dua lapisan (bawah etanol air dan atas lapisan n-heksan). Proses pemisahan dilakukan berulang hingga fraksi n-heksan yang diperoleh bening atau tidak berwarna. Fraksi n-heksan dipisahkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 50°C untuk mendapatkan fraksi kental dan dikeringkan dengan pengeringan beku pada suhu -24°C selama 24 jam hingga diperoleh fraksi n-heksan (Fitriana et al., 2015; Nobossé et al., 2018).

2. Skrining fitokimia

Pemeriksaan alkaloida dilakukan dengan cara; 0,5 g fraksi n-heksan

dilarutkan dalam air dan ditambahkan 1 mL asam klorida 2N kemudian dipanaskan selama 2 menit, didinginkan, dan disaring hingga diperoleh filtrat. Filtrat selanjutnya direaksikan dengan cara sebagai berikut. (a) Direaksikan dengan pereaksi Mayer, bereaksi positif apabila terbentuk endapan putih/kuning. (b) Ditambahkan pereaksi Bouchardat, bereaksi positif apabila terbentuk endapan merah bata. (c) Ditambahkan pereaksi Dragendorff, bereaksi positif apabila terbentuk endapan merah bata. Ekstrak sampel dinyatakan mengandung alkaloid apabila bereaksi positif minimal dua dari reaksi yang dilakukan (Harborne, 1984a, 1984b).

Pemeriksaan flavonoid dilakukan dengan cara 1 g fraksi n-heksan dilarutkan dengan cara dididihkan dalam 100 mL air selama 5 menit dan disaring ketika panas. Filtrat yang diperoleh ditambahkan 0,1 g serbuk Mg, 1 mL HCl (p), 2 mL amil alkohol, kemudian dikocok lalu dibiarkan hingga terbentuk dua lapisan. Sampel diketahui bereaksi positif memiliki kandungan flavonoid apabila terbentuk warna merah, kuning atau jingga pada lapisan amil alkohol (Harborne, 1984a, 1984b).

Pemeriksaan tannin dilakukan dengan cara; 1 g fraksi n-heksan dilarutkan dengan air kemudian dipanaskan hingga mendidih selama 3 menit, didinginkan, dan disaring hingga diperoleh filtrat. 1-2 tetes FeCl₃ 1% b/v ditambahkan pada

filtrat. Sampel diketahui bereaksi positif mengandung tannin apabila terbentuk warna biru kehitaman atau hijau kehitaman (Harborne, 1984a, 1984b).

Pemeriksaan glikosida dilakukan dengan cara 3 g fraksi n-heksan disari dengan akuadest dengan cara direfluks selama 10 menit. Filtrat diperoleh dengan cara disaring setelah dingin, ditambahkan 25 ml $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ 0,4 N, dikocok lalu didiamkan, kemudian disaring hingga diperoleh filtrat kembali. Filtrat disari kembali dengan campuran CHCl_3 dan Isopropanol (3:2), dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Lapisan CHCl_3 ditambahkan $\text{Na}_2\text{SO}_4(\text{p})$, lalu disaring, kemudian sisanya dilarutkan dengan 2 mL metanol dan diuapkan dalam tabung reaksi diatas penangas air. Residu yang diperoleh ditambahkan 2 mL air dan lima tetes pereaksi Molisch, kemudian 2 mL H_2SO_4 (p) ditambahkan melalui dinding tabung secara perlahan. Apabila terbentuk cincin warna ungu-merah muda pada batas fase maka hal tersebut menunjukkan adanya ikatan gula (Harborne, 1984a, 1984b).

Saponin diperiksa dengan cara sebanyak 0,5 g fraksi n-heksan dilarutkan dengan air panas di dalam tabung reaksi lalu didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Apabila terbentuk busa setinggi 1-10 cm yang stabil dan tidak hilang dengan penambahan 1 tetes HCl 2 N, maka sampel dinyatakan positif

mengandung saponin (Harborne, 1984a, 1984b).

Steroid/triterpenoid dianalisis dengan cara fraksi diekstraksi dgn n-heksan kemudian diuapkan dalam cawan porselin, residu yang terbentuk dilarutkan dengan 0,5 mL kloroformdan 0,5 mL asam asetat anhidrat, kemudian ditambahkan H_2SO_4 (p) secara perlahan melalui dinding wadah. Apabila terbentuk warna Ungu menunjukkan adanya triterpenoid, sedangkan apabila terbentuk warna biru kehijauan menunjukan adanya steroida (Harborne, 1984a, 1984b).

3. Uji aktivitas antibakteri

Dalam uji antibakteri seluruh alat dan bahan disterilkan terlebih dahulu. Sebagian alat yang tidak tahan pemanasan kering disterilkan dengan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit, dan alat-alat gelas dan yang lebih tahan dengan pemanasan disterilkan dengan menggunakan oven dengan suhu $160-170^\circ\text{C}$ selama 2 jam (Pertiwi et al., 2020a, 2019).

Sebelum melakukan uji aktivitas, hal yang perlu diperiapkan adalah pembuatan media MHA, larutan McFarland sebagai kekeruhan pembanding (Mc Farland, 1907), pembuatan suspense bakteri, dan variasi konsentrasi fraksi n-heksan daun pagoda. Fraksi n-heksan daun pagoda dibuat dengan menggunakan campuran DMSO-Aquadest 10% dengan variasi konsentrasi fraksi yaitu 1, 3, 5, 10, 15 dan 20 %.

Metode uji aktivitas antibakteri yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan difusi agar dan kertas cakram (Pertiwi et al., 2019). Suspensi bakteri sebanyak 0,1 ml dimasukkan kedalam cawan petri, kemudian ditambahkan media 20 ml MHA I, dihomogenkan, dan diamkan hingga mengeras. Kertas cakram yang telah disiapkan ditetesi fraksi sebanyak 300 µL dari masing-masing konsentrasi uji. DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif, dan larutan klindamisin 1% dalam DMSO 10% sebagai kontrol positif. Cakram yang telah mengandung sampel uji dan pembanding diletakkan diatas permukaan media dan ditandai sesuai konsentrasi sampel pada petri. Sampel yang telah disiapkan diinkubasi pada suhu 37°C. Setelah 24 jam, diameter zona hambat yang terbentuk diukur.

Analisis Data

Hasil penelitian berupa diameter hambat pertumbuhan bakteri yang diperoleh dianalisis menggunakan metode *anova* satu arah dan uji *post hoc* Tukey menggunakan program SPSS 20.

Hasil dan Pembahasan

Hasil identifikasi senyawa fitokimia terhadap fraksi n-heksan daun pagoda menunjukkan sampel fraksi mengandung glikosida dan steroid/triterpenoid. Hasil tersebut dapat dilihat pada Tabel 1.

Senyawa steroid/triterpenoid merupakan sekelompok senyawa yang

sifatnya non-polar dan memiliki aktivitas sebagai antiinflamasi, antivirus, antibakteri, dan antitumor (Hu et al., 2011). Adanya kandungan glikosida yang terdeteksi pada skrining fitokimia perlu dilakukan pemastian secara mendalam, karena glikosida sendiri merupakan senyawa yang masuk dalam kategori polaritas tinggi (Rijai, 2016). Namun, diketahui juga jenis glikosida-flavonoid dan glikosida-steroid yang memiliki polaritas rendah yang sangat memungkinkan terlarut dan terdeteksi pada fraksi pelarut non-polar, dikarenakan gugus glikonnya yang terikat pada struktur flavonoid dan/atau steroid, atau dikenal sebagai glikosida jantung yang dapat menghambat Na⁺/K⁺-ATPase serta memiliki aktivitas antikanker (Rimpelová et al., 2021; Vukics and Guttman, 2008).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia fraksi n-heksana daun pagoda

Golongan senyawa	Hasil
Alkaloid	-
Flavonoid	-
Saponin	-
Tanin	-
Glikosida	+
Steroid/ triterpenoid	+

Aktivitas antibakteri fraksi n-heksan daun pagoda dapat dilihat pada Tabel 2. Hasil penelitian yang diperoleh menunjukkan bahwa fraksi n-heksan daun pagoda memiliki aktivitas dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *S. epidermidis*, namun tidak mampu menyamai aktivitas yang diberikan oleh pembanding positif.

Tabel 2. Hasil pengujian fraksi n-heksan daun pagoda terhadap bakteri

Kelompok	Diameter zona hambat (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermidis</i>
Kontrol (-)	0,00±0,00 [#]	0,00±0,00 [#]
Kontrol (+)	28,70 ± 0,00 [*]	28,70 ± 0,00 [*]
Fraksi n-heksan 1%	10,20 ± 0,11 ^{*#}	6,96 ± 0,28 ^{*#}
Fraksi n-heksan 3%	11,10 ± 0,17 ^{*#}	7,36 ± 0,13 ^{*#}
Fraksi n-heksan 5%	11,12 ± 0,31 ^{*#}	7,33 ± 0,20 ^{*#}
Fraksi n-heksan 10%	11,16 ± 0,18 ^{*#}	8,30 ± 0,15 ^{*#}
Fraksi n-heksan 15%	10,50 ± 0,20 ^{*#}	8,33 ± 0,23 ^{*#}
Fraksi n-heksan 20%	10,30 ± 0,30 ^{*#}	8,16 ± 0,15 ^{*#}

Keterangan: * Berbeda secara signifikan terhadap kontrol negative, # berbeda secara signifikan terhadap kontrol positif pada $p \leq 0,05$

Diameter hambat ini sangat kecil dibandingkan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Leena dan Aleykutty tahun 2012, dimana dilakukan uji aktivitas daya hambat ekstrak etanol akar *C. paniculatum* terhadap bakteri *S. aureus*, dan diketahui bahwa konsentrasi 25, 50, dan 100 mcg mampu menghasilkan diameter hambat sebesar 16 – 26 mm (Leena and Aleykutty, 2012). Penelitian yang berbeda dilakukan oleh Praveen, dkk tahun 2012 juga menunjukkan bahwa ekstrak kloroform dan *C. paniculatum* 10% memiliki diameter hambat sebesar 16,4±0,4 mm, dan ekstrak metanol 10% 9,3±0,4 mm (Praveen et al., 2012).

Dimetil sulfoksida (DMSO) digunakan sebagai kontrol negatif karena tidak memberikan aktivitas antibakteri. DMSO merupakan senyawa organosulfur, berfungsi sebagai pelarut untuk untuk senyawa polar dan nonpolar serta mampu larut dalam air ataupun berbagai pelarut organik. DMSO juga tidak bersifat toksik dan tidak memiliki

aktivitas sehingga tidak akan mengganggu pengamatan dalam suatu pengujian.

Klindamisin bersifat bakteristatik, digunakan sebagai kontrol positif. Klindamisin mampu menghambat pembentukan protein dengan mempengaruhi sub unit ribosom 50S bakteri, sehingga pembentukan rantai peptidoglikan bakteri akan terganggu (Dizay et al., 2017; Murphy et al., 2020).

Aktivitas antibakteri dari senyawa yang terkandung dalam fraksi n-heksan daun pagoda diduga berasal dari steroid/triterpenoid dan glikosida. Senyawa triterpenoid mengakibatkan lisis pada membran sel bakteri yang terdiri dari protein, lipid dan karbohidrat. Triterpenoid bersifat bakteristatik dan bakterisida yang akan menghambat pembentukan membran sel bakteri, sehingga bakteri tidak mampu berkembang dan dapat mengakibatkan kematian (de León et al., 2010; Hamza et al., 2016; Nzogong et al., 2018). Glikosida juga berpotensi sebagai

antibakteri karena kemampuannya dalam penetrasi ke dalam dinding sel dan merusak dinding sel bakteri (Fleming et al., 2017).

Kesimpulan

Fraksi n-heksan daun pagoda mengandung senyawa glikosida dan steroid/triterpenoid dan memberikan efek penghambatan pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Staphylococcus epidermidis*

Daftar Pustaka

- Azwanida, N.N., 2015. A review on the extraction methods use in medicinal plants, principle, strength and limitation. *Med Aromat Plants* 4, 1–6.
- de León, L., López, M.R., Moujir, L., 2010. Antibacterial properties of zeylasterone, a triterpenoid isolated from *Maytenus blepharodes*, against *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Res.* 165, 617–626. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.micres.2009.12.004>.
- Dizay, H.H., Lau, D.G., Nottage, W.M., 2017. Benzoyl peroxide and clindamycin topical skin preparation decreases *Propionibacterium acnes* colonization in shoulder arthroscopy. *J. Shoulder Elb. Surg.* 26, 1190–1195.
- Fitriana, W.D., Fartmawati, S., Ersam, T., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan terhadap DPPH dan ABTS dari fraksi-fraksi daun kelor (*Moringa oleifera*), in: *Prosiding Simposium Nasional Inovasi Dan Pembelajaran Sains*. Bandung, pp. 657–660.
- Fleming, D., Chahin, L., Rumbaugh, K., 2017. Glycoside hydrolases degrade polymicrobial bacterial biofilms in wounds. *Antimicrob. Agents Chemother.* 61. <https://doi.org/https://doi.org/10.1128/AAC.01998-16>.
- Guessan, K.N., Zirihi, G.N., Mea, A., 2010. Hypotensive effect of aqueous extract of *Clerodendrum inerme* leaves on the arterial pressure of rabbits. *Int. J. Pharm. Biomed. Res* 1, 73–77.
- Hafiz, I., Fitri, K., Helvin, S.J., 2019a. The phytochemical screening and assesment of bioactivity of pagoda flower (*Clerodendrum paniculatum* L.) using brine shrimp (*Artemia salina*) lethality assay. *Asian J. Pharm. Res. Dev.* 7, 10–13. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v7i3.527>.
- Hafiz, I., Ginting, M., 2019. Antiinflammatory activity of pagoda flower (*Clerodendrum paniculatum* L.) ethanol extract using paw edema method. *Asian J. Pharm. Res. Dev.* 7, 43–45. <https://doi.org/10.22270/ajprd.v7i6.622>.
- Hafiz, I., Ginting, M., Yuermaileni, 2019b. Antioxidant activity of pagoda flower (*Clerodendrum paniculatum* L.) ethanol extract using Visible spectrophotometric method. *Indones. J. Pharm. Clin. Res.* 2, 14–19. <https://doi.org/https://doi.org/10.32734/idjpcr.v2i2.2060>.
- Hafiz, I., Rosidah, Silalahi, J., 2016.

- Antioxidant and anti-inflammatory activity of pagoda leaves (*Clerodendrum paniculatum* L.) ethanolic extract in white male rats (*Rattus norvegicus*). Int. J. PharmTech Res. 9, 165–170.
- Hamza, M., Nadir, M., Mehmood, N., Farooq, A., 2016. In vitro effectiveness of triterpenoids and their synergistic effect with antibiotics against *Staphylococcus aureus* strains. Indian J. Pharmacol. 48, 710–714.
- Harborne, J.B., 1984a. Phytochemical Methods A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis, Second Edi. ed. Chapman and Hall, New York.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-94-009-5570-7>.
- Harborne, J.B., 1984b. Methods of plant analysis, in: Phytochemical Methods. Springer, pp. 1–36.
- Hu, J., Lu, J.R., Ju, Y., 2011. Steroid/triterpenoid functional molecules based on “click chemistry”. Chem. Asian J. 6, 2636–2647.
<https://doi.org/10.1002/asia.201100378>.
- Husni, A., Ismed, F., Afriyandi, D., 2020. Standardization study of simplicia and extract of calamondin (*Citrus microcarpa* Bunge) peel, quantification of hesperidin and antibacterial assay. Pharmacogn. J. 12, 777–783.
- Joseph, J., Bindhu, A.R., Aleykutty, N.A., 2011. Antimicrobial activity of *Clerodendrum paniculatum* Linn. Leaves. Int J Res Ayurveda Pharm 2, 1003–1004.
- Kar, P., Goyal, A.K., Das, A.P., Sen, A., 2014. Antioxidant and pharmaceutical potential of *Clerodendrum* L.: An overview. Int. J. Green Pharm. 210–216.
<https://doi.org/10.4103/0973-8258.142671>.
- Kesehatan, D., 1980. Materia medika indonesia Jilid V. Jakarta Dep. Kesehat. Republik Indones.
- Leena, P.N., Aleykutty, N.A., 2012. Comparative study on antibacterial activities of *Clerodendron infortunatum* Linn and *Clerodendron paniculatum* Linn root extract. Int J Adv Pharm Biol Chem 1, 325–327.
- Lemaire, C., Plenevaux, A., Aerts, J., Del Fiore, G., Brihaye, C., Le Bars, D., Comar, D., Luxen, A., 1999. Solid phase extraction—an alternative to the use of rotary evaporators for solvent removal in the rapid formulation of PET radiopharmaceuticals. J. Label. Compd. Radiopharm. Off. J. Int. Isot. Soc. 42, 63–75.
- Mc Farland, J., 1907. The Nephelometer: An Instrument for Estimating the Number of Bacteria in Suspension Used for Calculating the Opsonic Index and For Vaccines. JAMA XLIX, 1176–1178.
- Murphy, P.B., Bistas, K.G., Le, J.K., 2020. Clindamycin. StatPearls Publishing, Treasure Island (FL).
- Nobossé, P., Fombang, E.N., Mbofung, C.M.F., 2018. Effects of age and extraction solvent on

- phytochemical content and antioxidant activity of fresh *Moringa oleifera* L. leaves. Food Sci. Nutr. 6, 2188–2198. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/fsn3.783>.
- Nzogong, R.T., Ndjateu, F.S.T., Ekom, S.E., Fosso, J.-A.M., Awouafack, M.D., Tene, M., Tane, P., Morita, H., Choudhary, M.I., Tamokou, J.-D., 2018. Antimicrobial and antioxidant activities of triterpenoid and phenolic derivatives from two Cameroonian Melastomataceae plants: *Dissotis senegambiensis* and *Amphiblemma monticola*. BMC Complement. Altern. Med. 18. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2229-2>.
- Pertiwi, D., Hafiz, I., Jannah, W., Winata, H.S., Sari, M., Suroyo, R.B., 2020a. Antibacterial activities of belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) ethyl acetate extract on gel formulated against *Propionibacterium acnes* and *Staphylococcus aureus*. Int. J. Appl. Pharm. 12, 224–228. <https://doi.org/10.22159/ijap.2020v12i6.39406>.
- Pertiwi, D., Hafiz, I., Leny, 2020b. Potential bioactivities of ethanol, ethyl acetate and n-hexane extracts from pagoda leaves (*Clerodendrum paniculatum* L.). Rasayan J. Chem 13, 2313–2316. <https://doi.org/10.31788/RJC.2020.1345791>.
- Pertiwi, D., Hafiz, I., Salma, R., 2019. Antibacterial activity of ethanol extract of papaya leaves (*Carica papaya* L.) gel against *P. acnes*. Indones. J. Pharm. Clin. Res. 2, 1–6.
- Praveen, M., Radha, K., Hari, K.R., Padmaja, V., Mathew, A., Kumar, A., 2012. Preliminary Phytochemical, antimicrobial and toxicity studies on *Clerodendrum paniculatum* Linn leaves. Hygeia J. Drugs Med. 4, 41–50.
- Radha, K., Kumar, A., 2012. Preliminary Phytochemical, antimicrobial and toxicity studies on *Clerodendrum paniculatum* Linn leaves. Hygeia J D Med 4, 41–50.
- Rijai, L., 2016. Senyawa glikosida sebagai bahan farmasi potensial secara kinetik. J. Trop. Pharm. Chem. 3, 213–218.
- Rimpelová, S., Zimmermann, T., Drašar, P.B., Dolenský, B., Bejček, J., Kmoníčková, E., Cihlářová, P., Gurská, S., Kuklíková, L., Hajdůch, M., Ruml, T., Opletal, L., Džubák, P., Jurášek, M., 2021. Steroid glycosides hyrcanoside and deglucohyrcanoside: On isolation, structural identification, and anticancer activity. Foods 10, 1–19. <https://doi.org/10.3390/foods10010136>.
- Rintelen, V., Kristina, Arida, E., Häuser, C., 2017. A review of biodiversity-related issues and challenges in megadiverse Indonesia and other Southeast Asian Countries. Res. Ideas Outcomes 3, e20860. <https://doi.org/10.3897/rio.3.e20860>.
- Shrivastava, N., Patel, T., 2007. *Clerodendrum* and Healthcare: An Overview. Med. Aromat. Plant Sci. Biotechnol. 1, 142.

Vukics, V., Guttman, A., 2008. Structural characterization of flavonoid glycosides by multi-stage mass spectrometry. *Mass Spectrom. Rev.* 29, 1–16.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1002/mas.20212>

Yulianingtyas, A., Kusmartono, B., 2016. Optimization of Solvent Volume and Maceration Time on Extraction of Flavonoids from *Averrhoa bilimbi* Leaves. *J. Tek. Kim.* 10, 58–64.