

JENIS ARTIKEL

Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Legundi dalam Menghambat Kerja *Mycobacterium tuberculosis* secara *In Vitro*

Imas Putri Munthe¹, Humairah Medina Liza Lubis²

^{1,2}Program Studi Ilmu Biomedis, Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara, Jl. Gedung Arca no 53, Medan Indonesia, 20217.

Email korespondensi: humairahmedina@umsu.ac.id

Abstrak

Latar Belakang. Menurut laporan *WHO* tahun 2021 diperkirakan 10 juta orang terkena tuberkulosis (TB). Kegagalan pengobatan serta munculnya kasus *Multiple Drug Resistance* dan TB laten menjadi permasalahan utama. Hal ini disebabkan karena *Mycobacterium TB (MTb)* beradaptasi dengan baik dan bertahan dalam menghadapi respons kekebalan tubuh *host* dengan cara mengganggu kerja sitokin dalam mengatur respons imun. Daun legundi memiliki senyawa bioaktif yang menunjukkan efek anti-inflamasi, antibakteri, sifat sitotoksik, analgesik, antioksidan, dan antijamur. Penggunaan daun legundi yang tidak memiliki efek samping dapat digunakan sebagai pengganti obat anti-TB sintetik. **Tujuan.** Menganalisis ekstrak daun legundi sebagai pertimbangan terapi anti-TB tanpa efek samping yang tertuju pada respons imun. **Metode.** Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *cross sectional* pada kultur sel *MTb* yang diperoleh dari dahak penderita TB paru yang dikelompokkan menjadi 8 kelompok perlakuan dengan pemberian ekstrak daun legundi 10%, 20%, 25%, 50%, 75% dan 100%. **Hasil.** Didapatkan Kadar Hambat Minimum dan Kadar Bunuh Minimum yang paling baik ditemukan pada pemberian ekstrak daun legundi dengan konsentrasi 75% dan 100%. **Kesimpulan.** Daun legundi memiliki aktivitas sebagai antituberkulosis dengan cara menghambat kerja *MTb* secara *in vitro*.

Kata kunci: daun legundi; *in vitro*; *Mycobacterium tuberculosis*

PENDAHULUAN

Salah satu dari 10 penyebab kematian terbesar dan penyakit menular paling umum kedua di dunia yang telah

membunuh banyak orang adalah Tuberkulosis (TB). (1,2) Menurut laporan *World Health Organization (WHO)* pada tahun 2021, diperkirakan 10 juta orang

tertular TB setiap tahunnya, dan 1,5 juta di antaranya meninggal dunia. (2) Sekitar 43% kasus TB di seluruh dunia ditemukan di Asia Tenggara, dan Indonesia berada di urutan kedua dengan perkiraan angka kejadian 354 kasus per 100.000 orang. (3) Penyebab TB adalah infeksi bakteri *Mycobacterium TB (MTb)* yang ditularkan melalui sistem pernafasan. Meskipun *MTb* dapat menginfeksi berbagai organ, penyakit ini biasanya pertama kali muncul di paru. (4) WHO telah memperkenalkan pendekatan baru yang disebut pendekatan *End TB Strategy*, yang berupaya mengurangi rasio kejadian dan kematian akibat TB hingga 95% pada tahun 2035 guna mewujudkan masyarakat yang sehat dan bebas TB. (5)

Ketika tubuh terinfeksi *MTb*, sistem kekebalan akan bekerja dengan cara memobilisasi berbagai jenis sel dan melepaskan sitokin spesifik atau non-spesifik untuk melawan infeksi. Sitokin mengaktifkan limfosit T sitotoksik, merekrut sel kekebalan bawaan seperti granulosit dan monosit untuk menangani infeksi *MTb* dan membantu infiltrasi (6–8). Sitokin dapat bekerja sama untuk mengirimkan sinyal yang membantu perkembangan makrofag dan presentasi antigen. (9,10)

Respons imun primer *host* terhadap infeksi *MTb* dimediasi oleh sel. (11,12) Perkembangan TB disebabkan oleh aktivasi

neutrofil yang berlebihan selama infeksi. (13,14) Diketahui bahwa *IFN- γ* , suatu interferon Tipe II, yang menekan respon imun *Th2* dan mencegah induksi respons imun *Th1* lebih lanjut. Karena sifat imunostimulator dan imunomodulatornya, *IFN- γ* mencegah penyebaran virus dan TB. (15,16) *TNF- α* merupakan sitokin yang disekresikan oleh sel imun yang telah teraktivasi, antara lain fibroblas, limfosit, makrofag, dan sel endotel. *TNF- α* membantu menarik sel kekebalan ke tempat infeksi TB. Sel kekebalan ini kemudian membentuk struktur pelindung yang disebut granuloma, yang membantu mengendalikan pertumbuhan *MTb*. (17,18) Pada jalur lainnya, peningkatan fagositosis, reaksi pro-inflamasi, dan perekrutan limfosit telah dikaitkan dengan eliminasi patogen yang melibatkan peningkatan aktivasi *IFN- γ* . (16) *IFN- γ* akan meningkatkan kapasitas fagosit makrofag yang terinfeksi *MTb* dengan menginduksi perkembangan fagolisosom dan radikal bebas, yang dapat mendegradasi komponen *MTb* dengan meningkatkan zat antara nitrogen reaktif. (19,20) Oleh karena itu, *IFN- γ* dapat berfungsi sebagai penanda kekebalan terhadap TB. (16) Untuk membantu pemeriksaan, diketahui bahwa pemeriksaan penunjang *ELISA* berhasil diterapkan untuk mendeteksi beberapa antigen protein dari sampel dahak pasien TB. (21)

Sitokin telah banyak dilakukan tetapi sejauh ini hanya mendeteksi keberadaan sitokin-sitokin tersebut dalam plasma darah maupun sputum penderita. Sepengetahuan peneliti, belum ditemukan penelitian terkait pemanfaatan bahan alam yang dihubungkan dengan mekanisme kerjanya dalam memodulasi jalur aktivasi makrofag dengan penilaian pada sitokin IFN- γ dan TNF- α .

Penggunaan daun legundi yang tidak memiliki efek samping dapat digunakan sebagai pengganti obat anti-TB sintetik dengan banyaknya efek samping yang ditimbulkan akibat penggunaan jangka panjang. Mengeksplorasi potensi terapeutik legundi adalah menawarkan obat alami dengan efek luas. Peran gandanya sebagai agen anti-bakteri dan sebagai anti-inflamasi menjadikannya kandidat yang menjanjikan untuk strategi pengobatan baru dalam kondisi peradangan yang dimediasi kekebalan.

Para peneliti telah mengidentifikasi lebih dari 300 senyawa dalam tanaman ini. Studi farmakologi modern mengungkapkan bahwa legundi memiliki berbagai efek menguntungkan, seperti bersifat sitotoksik, analgesik, antiinflamasi, antioksidan, antijamur, dan antibakteri. Temuan ini mendukung penggunaan legundi untuk tujuan pengobatan. (22,23) Pada penelitian terdahulu juga dijumpai bahwa ekstrak etanol buah legundi mampu menghambat

pertumbuhan dan pembelahan sel tumor. (24) Fokus penelitian ini mengkaji bagaimana ekstrak daun legundi melawan bakteri *MTb*. Ekstrak etanol dari daun legundi dapat menghentikan pertumbuhan bakteri gram positif dan negatif. (22) Daun legundi mengandung flavonoid dan minyak atsiri yang berperan melawan bakteri dengan cara menggumpalkan atau mendenaturasi protein protoplasma sel, atau menyebabkan lisis sel dengan mengubah struktur membran sel sehingga mengakibatkan kebocoran isi sel. (25,26)

Penelitian Ankalikar *et al.* (2022) membuktikan ekstrak hidroalkohol dari daun legundi pada konsentrasi 125 $\mu\text{g/mL}$, menghambat 50% pertumbuhan *MTb* dan sekaligus mengidentifikasi diterpenoid sebagai anti TB yang kuat terhadap strain uji BACTEC-460 *MTb* H37Rv, dengan nilai MIC 25 $\mu\text{g/m}^2$ dan 100 mg/kgBB. (27)

Tujuan khusus penelitian ini adalah menganalisis efek antiTB ekstrak daun legundi serta sebagai pertimbangan terapi TB paru dinilai dari aktivitas antiinflamasi. Model TB paru didapat dengan membuat sel kultur yang diperoleh dari sputum pasien yang telah terkonfirmasi.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan desain *cross sectional*. Penelitian dilakukan dengan

sampel dahak yang diperoleh dari pasien TB paru yang telah terkonfirmasi secara mikrobiologis dengan pewarnaan *Ziehl Neelsen (ZN)* untuk menilai BTA pada sputum dan telah mendapatkan persetujuan tertulis yang diperoleh dari semua peserta penelitian dan Komite Etika Penelitian menyetujui penelitian tersebut. Besar sampel diperoleh dengan metode *consecutive sampling*, dengan pembagian kelompok sebagai berikut:

1. Kelompok I adalah kontrol negatif.
2. Kelompok II adalah kontrol positif.
3. Kelompok III adalah sel kultur *MTb* yang diberikan perlakuan ekstrak 10% daun legundi.
4. Kelompok IV adalah sel kultur *MTb* yang diberikan perlakuan ekstrak 20% daun legundi.
5. Kelompok V adalah sel kultur *MTb* yang diberikan perlakuan ekstrak 25% daun legundi.
6. Kelompok VI adalah sel kultur *MTb* yang diberikan perlakuan ekstrak 50% daun legundi.
7. Kelompok VII adalah sel kultur *MTb* yang diberikan perlakuan ekstrak 75% daun legundi.
8. Kelompok VIII adalah sel kultur *MTb* yang diberikan perlakuan ekstrak 100% daun legundi.

Pembagian kelompok berdasarkan penelitian Fatmawati tahun 2019 dengan membandingkan konsentrasi daun legundi 25%, 50%, 75% dan 100% dalam

menghambat bakteri *Stapylococcus aureus* ditemukan konsentrasi yang terbaik adalah 75%. (28) Penelitian ini menggunakan 6 konsentrasi berbeda untuk membuktikan apakah konsentrasi <75% sudah dapat menghambat pertumbuhan *MTb*.

Langkah-langkah penelitian adalah sebagai berikut:

1. Menyiapkan bahan, reagen, dan pengambilan sampel dahak dari pasien yang diduga menderita TB.
2. Melakukan pelabelan dan penanganan yang tepat untuk mencegah kontaminasi.
3. Pembuatan ekstrak daun legundi.

Daun legundi dipetik sebanyak 2 kg kemudian dicuci, dikeringkan dan dihaluskan. Selanjutnya serbuk halus daun ditimbang sebanyak 200 g, kemudian ditambahkan masing-masing 1,5 liter etanol 96%. Setelah itu, selama 6 hari didiamkan sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya. Setelah enam hari disaring dan filtratnya ditampung dalam botol kaca, kemudian residunya dimaserasi kembali dengan 500 ml etanol. Diamkan selama 3 hari sambil diaduk menggunakan *magnetic stirrer* selama 8 jam setiap harinya. Setelah 72 jam disaring dan filtratnya dikumpulkan. Remaserasi dilakukan hingga warna filtrat jernih. Filtratnya dimasukkan ke dalam evaporator. Proses ekstraksi

dilakukan secara otomatis dengan cara penguapan pada suhu 40-60°C hingga diperoleh ekstrak kental. (26)

4. Pembuatan kultur *Mycobacterium tuberculosis* (MTb).

Sampel dahak dicerna dan didekontaminasi oleh N-asetil L-sistein (NALC) dan natrium hidroksida 3% (NaOH) diproses kultur mikobakteri. Apusan dibuat dari kultur positif MGIT, diwarnai dengan pewarnaan ZN dan diperiksa *Acid Fast Bacilli* (AFB)-nya dengan mikroskop cahaya. Keberadaan AFB MTb di semua kultur positif dikonfirmasi menggunakan tes antigen MPT64 sesuai dengan instruksi pabrik. MGIT kultur positif untuk MTb jika kedua pemeriksaan mikroskopis untuk AFB dan hasil tes antigen MPT64 positif. Dilaporkan negatif jika tidak ada pertumbuhan setelah inkubasi 42 hari. Seluruh prosedur dilakukan di dalam biosafety cabinet kelas II. (29,30)

Selanjutnya dilakukan pemberian ekstrak daun legundi dengan konsentrasi terbagi pada kelompok perlakuan.

HASIL

Penelitian ini telah mendapatkan izin penelitian dari Komisi Etik FK Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara dengan No. 1263/KEPK/FKUMSU/2024.

1. Uji Daun Legundi

Sebelum penelitian dilakukan identifikasi tanaman di Laboratorium Herbarium Medanese (MEDA) Universitas Sumatera Utara menunjukkan:

- Kingdom: Plantae
- Divisi: Spermatophyta
- Kelas: Dicotyledoneae
- Ordo: Lamiales
- Famili: Lamiaceae
- Genus: Vitex
- Spesies *Vitex trifolia* L.
- Nama lokal: Buah legundi
-

Hasil parameter simplisia diperoleh kadar air sebesar 2,36%. Hasil organoleptik ekstrak dengan metode maserasi diperoleh ekstrak kental berwarna coklat kehitamam dan berbau khas. Nilai rendemen sebesar 12,47%.

2. Uji Fitokimia

Hasil fitokimia dapat dilihat pada tabel 1 dibawah ini.

Tabel 1. Hasil fitokimia

No	Parameter	Reaksi	Pengamatan
1	Flavonoid	+	Terbentuk warna jingga kemerahan
2	Alkaloid	+	Terbentuk warna putih (Mayer) Terbentuk warna merah bata (Dragendorf)
3	Saponin	+	Terbentuk busa
4	Tanin	+	Terbentuk warna hijau kehitaman
5	Triterpenoid	+	Terbentuk warna coklat kemerahan

3. Uji *in vitro* dengan *treatment* daun legundi

3.1. Uji *in vitro* metode dilusi cair dengan *treatment* daun legundi

Setelah dilakukan pengamatan hasil penelitian metode dilusi cair (menilai Kadar Hambat Minimum/KHM) pada tabung reaksi dengan konsentrasi yang berbeda dan diinkubasi selama 24 jam, maka didapatkan hasil seperti yang disajikan dalam tabel 2 berikut.

Tabel 2. Hasil KHM ekstrak daun Legundi

No	Tabung	Hasil Pengamatan
1	Konsentrasi 10%	Keruh
2	Konsentrasi 20%	Keruh
3	Konsentrasi 25%	Jernih
4	Konsentrasi 50%	Jernih
5	Konsentrasi 75%	Tidak dapat dinilai*
6	Konsentrasi 100%	Tidak dapat dinilai*
7	Kontrol Positif	Jernih
8	Kontrol Negatif	Keruh

Keterangan: *Ekstrak terlalu pekat dan berwarna gelap, sulit untuk dinilai

Berdasarkan tabel 2, hasil uji *in vitro* dengan metode dilusi cair dengan *treatment* daun legundi dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 25% dan 50% tidak ditemukan adanya kekeruhan sehingga pada konsentrasi tersebut daun legundi dapat menghambat kerja bakteri *Mycobacterium tuberculosis* yang dibandingkan dengan hasil yang sama pada kontrol positif. Konsentrasi terkecil yang mampu menghambat bakteri adalah 25%, sedangkan pada konsentrasi 75%, dan 100% tidak dapat dinilai.

3.2. Uji *in vitro* metode dilusi padat dengan *treatment* daun legundi

Metode dilusi padat diperoleh dari hasil dilusi cair yang telah diinkubasi dan ditanamkan kembali pada media agar *Mycobacteria Growth Indicator Tube (MGIT)* untuk menilai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dengan menilai ada tidaknya pertumbuhan bakteri pada tiap konsentrasi dan kelompok kontrol. Hasil *in vitro* dengan dilusi padat diperlihatkan pada gambar 2.

Hasil KBM ekstrak daun legundi disajikan dalam tabel 3.

Tabel 3. Hasil KBM ekstrak daun legundi

No	Media	Hasil pengamatan
1	Konsentrasi 10%	Tumbuh mikroba
2	Konsentrasi 20%	Tumbuh mikroba
3	Konsentrasi 25%	Tidak tumbuh mikroba
4	Konsentrasi 50%	Tidak tumbuh mikroba
5	Konsentrasi 75%	Tidak tumbuh mikroba
6	Konsentrasi 100%	Tidak tumbuh mikroba
7	Kontrol Positif	Tidak tumbuh mikroba
8	Kontrol Negatif	Tumbuh mikroba

Berdasarkan hasil tabel 3, hasil analisis *in vitro* dengan metode dilusi padat dengan *treatment* daun Legundi dapat disimpulkan bahwa pada konsentrasi 25%, 50%, 75%, 100% serta pada kontrol positif tidak ditemukan adanya pertumbuhan bakteri sehingga kemampuan daun kegundi dalam membunuh bakteri *Mycobacterium tuberculosis* terdapat pada konsentrasi tersebut, dengan konsentrasi terkecil yang mampu membunuh bakteri adalah pada konsentrasi 25%.

3.3. Uji *in vitro* metode difusi dengan *treatment* daun legundi

Hasil metode difusi diperoleh dari pemberian konsentrasi berbeda dari daun legundi serta kontrol positif menggunakan antibiotik rifampisin dan kontrol negatif menggunakan aquabidest. Maka diperoleh hasil uji daya hambat bakteri seperti yang disajikan dalam tabel 4.

Tabel 4. Daya hambat pada konsentrasi ekstrak daun legundi dan kelompok kontrol

Pengulangan	Diameter zona hambat pertumbuhan <i>Mycobacterium tuberculosis</i> (mm)						Kelompok kontrol
	Konsentrasi Ekstrak daun legundi (<i>Vitex trifolia</i> L.)						
	10%	20%	25%	50%	75%	100%	
Pengulangan 1	13,72	14,81	17,31	20,43	24,08	25,22	0 - 28,25
Pengulangan 2	13,40	15,13	17,12	19,75	24,17	25,95	0 - 28,45
Pengulangan 3	13,12	14,19	18,05	18,13	23,49	26,13	0 - 29,15

Pada tabel 4, didapatkan hasil bahwa pemberian ekstrak daun legundi dengan konsentrasi yang berbeda menunjukkan diameter zona hambat yang berbeda. Pada konsentrasi 10% didapatkan diameter terpanjang yaitu pada pengulangan ke 1 yaitu sebesar 13,72 mm. Pada konsentrasi 20% didapatkan nilai diameter zona hambat terpanjang yaitu pada pengulangan ke 2 dengan ukuran 15,13 mm. Konsentrasi 25% didapatkan diameter terpanjang yaitu pada pengulangan ke 3 dengan diameter 18,05 mm. Konsentrasi 50% didapatkan ukuran diameter terpanjang yaitu pada pengulangan ke 1 yaitu sebesar 20,43 mm. Pada konsentrasi 75% didapatkan diameter zona hambat terpanjang yaitu pada pengulangan ke 2 yaitu sebesar 24,17 mm. Sedangkan pada konsentrasi tertinggi yaitu konsentrasi

100% diperoleh zona hambat terpanjang pada pengulangan ke 3 dengan diameter 26,13 mm. Pada kelompok kontrol ditemukan daya hambat yang paling tinggi yaitu pada pengulangan ke 3 dengan diameter 29,15 dan pada kontrol negatif tidak ditemukan adanya zona hambat (area jernih).

Pada tabel 4 dapat diinterpretasikan daya hambat pada pengulangan 1:

- Konsentrasi 10% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 20% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 25% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 50% daya hambat sangat kuat.
- Konsentrasi 75% daya hambat sangat kuat.
- Konsentrasi 100% daya hambat sangat kuat.
- Kontrol positif daya hambat sangat kuat.

Interpretasi daya hambat pada pengulangan 2:

- Konsentrasi 10% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 20% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 25% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 50% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 75% daya hambat sangat kuat.
- Konsentrasi 100% daya hambat sangat kuat.
- Kontrol positif daya hambat sangat kuat.

Interpretasi daya hambat pada pengulangan 3:

- Konsentrasi 10% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 20% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 25% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 50% daya hambat kuat.
- Konsentrasi 75% daya hambat sangat kuat.
- Konsentrasi 100% daya hambat sangat kuat.
- Kontrol positif daya hambat sangat kuat.

KESIMPULAN

Daun legundi memiliki aktivitas sebagai antituberkulosis dengan cara menghambat kerja *MTb* secara *in vitro*.

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih kami ucapkan kepada Kementerian Pendidikan, Kebudayaan, Riset dan Teknologi (Kemendikbud-Ristek) melalui hibah Pendanaan Program Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat Tahun Anggaran 2024 dan Universitas Muhammadiyah Sumatera Utara atas dukungan dana pada kegiatan ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Sharma SK, Mohan A, Kohli M. Extrapulmonary tuberculosis. *Expert Rev Respir Med* [Internet]. 2021;15(7):931–48.
2. World Health Organization. Global Tuberculosis Report [Internet]. Vol. t/malaria/, January. 2023. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240083851>
3. Kemenkes RI. Laporan Program Penanggulangan Tuberkulosis Tahun 2022 [Internet]. 2023. 1–147 p. Available from: https://tbindonesia.or.id/pustaka_tbc/laporan-tahunan-program-tbc-2021/
4. Mashabela GT, de Wet TJ, Warner DF. Mycobacterium tuberculosis Metabolism. *Microbiol Spectr*. 2019;7(4):1–26.
5. Kementerian Kesehatan RI. Strategi Nasional Penanggulangan Tuberkulosis di Indonesia 2020–2024. *Pertem Konsolidasi Nas Penyusunan STRANAS TB*. 2020;135.
6. Jasenosky LD, Scriba TJ, Hanekom WA, Goldfeld AE. T cells and adaptive immunity to Mycobacterium tuberculosis in humans. *Immunol Rev*. 2015;264(1):74–87.
7. Queiroz MAF, Lima SS, Amoras E da SG, Sousa FDM de, Souza I de P, Nunes JAL, et al. Epidemiological and Cytokine Profile of Patients with Pulmonary and Extrapulmonary Tuberculosis in a Population of the Brazilian Amazon. Vol. 10, *Microorganisms*. 2022.
8. Algood HMS, Chan J, Flynn JAL. Chemokines and tuberculosis. *Cytokine Growth Factor Rev*. 2003;14(6):467–77.
9. Rajaram MV., Ni B, Dodd CE, Schlesinger LS. Macrophage immunoregulatory pathways in

- tuberculosis. *Semin Immunol.* 2014;December ;(6):471–485.
10. Sadee W, Cheeseman IH, Papp A, Pietrzak M, Seweryn M, Zhou X, et al. Human alveolar macrophage response to *Mycobacterium tuberculosis*: immune characteristics underlying large inter-individual variability. *Res Sq* [Internet]. 2023;1–32.
 11. Guo Q, Zhang J, Li G, Liu S, Xiao G, Bi J, et al. Elevated antigen-specific IFN- γ responses in bronchoalveolar lavage fluid.pdf. *Diagnostics.* 2020;122(101942).
 12. Mzinza DT, Sloan DJ, Jambo KC, Shani D, Kamdolozi M, Wilkinson KA, et al. Kinetics of *Mycobacterium tuberculosis*-specific IFN- γ responses and sputum bacillary clearance in HIV-infected adults during treatment of pulmonary tuberculosis. *Tuberculosis* [Internet]. 2015;95(4):463–9.
 13. Zhuang L, Yang L, Li L, Ye Z, Gong W. *Mycobacterium tuberculosis*: immune response, biomarkers, and therapeutic intervention. *MedComm.* 2024;5(1):1– 33.
 14. Chandra P, Grigsby SJ, Philips JA. Immune evasion and provocation by *Mycobacterium tuberculosis*. *Nat Rev Microbiol.* 2022;20(12):750–66.
 15. Ghanavi J, Farnia P, Farnia P, Velayati AA. The Role of Interferon-Gamma and Interferon-Gamma Receptor in Tuberculosis and Nontuberculous Mycobacterial Infections. *Int J Mycobacteriology.* 2021;10(4):349–57.
 16. Lubis HML, Ganie RA, Delyuzar D, Eyanoe PC, Munir D. Immunocytochemical expression of IFN- γ and IL-4 in tuberculous lymphadenitis with dark oval bodies. Vol. 8, *Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences.* 2020. p. 806–9.
 17. Wu S, Wang MG, Wang Y, He JQ. Polymorphisms of cytokine genes and tuberculosis in two independent studies. *Sci Rep* [Internet]. 2019;9(1):1–11.
 18. Yasui K. Immunity against *Mycobacterium tuberculosis* and the risk of biologic anti-TNF- α reagents. Vol. 12, *Pediatric Rheumatology.* 2014.
 19. Orr MT, Windish HP, Beebe EA, Argilla D, Huang PWD, Reese VA, et al. Interferon γ and Tumor Necrosis Factor Are Not Essential Parameters of CD4+ T-Cell Responses for Vaccine Control of Tuberculosis. Vol. 212, *Journal of Infectious Diseases.* 2015. p. 495–504.
 20. Kumar P. IFN γ -producing CD4+ T lymphocytes.pdf. *Clin Trans Med.* 2017;6(21):1–7.
 21. León-Janampa N, Shinkaruk S, Gilman RH, Kirwan DE, Fouquet E, Szlosek M, et al. Biorecognition and detection of antigens from *Mycobacterium tuberculosis* using a

- sandwich ELISA associated with magnetic nanoparticles. Vol. 215, Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. 2022.
22. Suyasa IBO, Wibawa TB, Janurianti NMD, Wahyuni PD. Antibacterial Activity of Legundi Leaf Extract (*Vitex trifolia* L.) with Betel Leaf Extract (*Piper betle* L.) against *Staphylococcus aureus*. SEAS (Sustainable Environ Agric Sci. 2022;6(2):112–8.
 23. Yan C-X, Wei Y-W, Li H, Xu K, Zhai R-X, Meng D-C, et al. *Vitex rotundifolia* L. f. and *Vitex trifolia* L.: A review on their traditional medicine, phytochemistry, pharmacology. J Ethnopharmacol. 2023;308(116273).
 24. Lubis HML; Hariaji I. Ekstrak Buah Legundi (*Vitex trifolia*) Mampu Menghambat Pembelahan dan Pertumbuhan Sel Tumor Kulit Tikus. Mutiara Med J Kedokt dan Kesehat [Internet]. 2017;17(Vol 17 No 1: January 2017):1–6.
 25. Tiwari S, Talreja S. Medicinal and Pharmacological importance of *Vitex trifolia* : A Review Research Journal of Pharmaceutical , Biological and Chemical Sciences Medicinal and Pharmacological importance of *Vitex trifolia* : A Review. Res J Pharm Biol Chem Sci. 2020;11(5):8–13.
 26. Dwiyantri A, Mulyani S, Yulhan OA, Lubis HML, Roslina A. Effects of AntiMycobacterium Tuberculosis Nanoherbal Legundi Leaf Extract (*Vitex trifolia*). Mutiara Med J Kedokt dan Kesehat. 2021;21(1):45–50.
 27. Ankalikar AA, Viswanathswamy AH, Ronad P. Effect of Hydroalcoholic Extracts of Leaves of *Vitex trifolia* Linn. on Chronic Inflammation and Tuberculosis. J Young Pharm. 2023;15(4):671–8.
 28. Fatmawati D, Mahmudati N, Wahyuni S, Rahardjanto A, Fatmawati D. Ekstrak buah legundi (*Vitex trifolia* Linn.) dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Prosiding Seminar Nasional V 2019. Peran Pendidikan dalam Konservasi dan Pengelolaan Lingkungan Berkelanjutan. ISBN 978-602-5699-83-2; PUBLIKASI ONLINE 5 MARET 2020.
 29. Wang L, Yang J, Chen L, Wang W, Yu F, Xiong H. Whole-genome sequencing of *Mycobacterium tuberculosis* for prediction of drug resistance. Epidemiol Infect. 2022;150:1–8.
 30. Sergey N, Sergey K, Arang R, Mikko R, Andrey VB, Alla M, et al. The complete sequence of a human genome. Science (80-) [Internet]. 2022;376(6588):44–53.



Flavonoid (+)



Alkaloid pereaksi Mayer (+)



Alkaloid pereaksi Dragendorf (+)



Saponin (+)

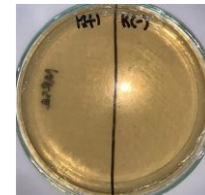
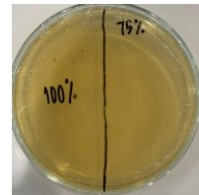
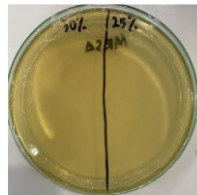
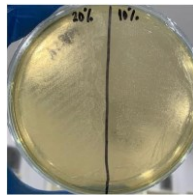


Tanin (+)



Triterpenoid (+)

Gambar 1. Uji fitokimia



Gambar 2. Kadar Bunuh Minimum pada tiap konsentrasi dan kelompok kontrol