

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI HASIL HIDROLISIS ENZIMATIS
DAUN MENGGUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP *Streptococcus
mutans* DAN *Klebsiella pneumoniae***

NASKAH PUBLIKASI



Oleh :

**MUHAMAD ANTON DWI AJI WIBOWO
K 100 090 103**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA
SURAKARTA
2014**

PENGESAHAN NASKAH PUBLIKASI

Berjudul:

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI HASIL HIDROLISIS ENZIMATIS DAUN
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP *Streptococcus mutans*
DAN *Klebsiella pneumoniae***

Oleh:

**MUHAMAD ANTON DWI AJI WIBOWO
K 100090103**

**Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Pada tanggal: 18 September 2014**

**Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Muhammadiyah Surakarta
Dekan,**

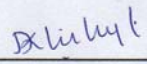

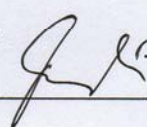
Azis Saifuddin, S.F, M. Sc., Apt, Ph. D

Pembimbing

(Rima Munawaroh, M. Sc., Apt)

Penguji:

1. Ika Trisharyanti D.K., M.Farm., Apt.
2. Dedi Hanwar, M. Si., Apt.
3. Rima Munawaroh, M. Sc., Apt.

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI HASIL HIDROLISIS ENZIMATIS
DAUN MENGGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP *Streptococcus
mutans* DAN *Klebsiella pneumoniae***

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF HYDROLYSIS ENZYMATIC LEAF NONI
(*Morinda citrifolia* L.) AGAINST *Streptococcus mutans* AND *Klebsiella pneumoniae***

M. Anton Dwi Aji Wibowo* dan Rima Munawaroh*

*Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta

Jl. A Yani Tromol Pos 1, Pabelan Kartasura Surakarta 57102

Email : adji.anton@gmail.com

ABSTRAK

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Mengkudu mempunyai aktivitas antibakteri, antivirus, antituberkulosis. Daun mengandung beberapa komponen meliputi air, protein, lemak, karbohidrat, serat, abu, kalsium, fosfor, besi, β -Carotene, riboflavin, niacin, dan asam askorbat. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan aktivitas antibakteri hasil hidrolisis daun mengkudu terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Klebsiella pneumoniae*. Daun didelignifikasi, kemudian dihidrolisis dengan enzim selulase. Campuran enzim selulase diisolasi dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* dengan perbandingan 3:1. Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode dilusi cair /broth dilution test. Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Klebsiella pneumoniae*.

Kata Kunci: antibakteri, daun mengkudu, hidrolisis enzimatis, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumoniae*.

ABSTRACT

Noni (Morinda citrifolia L) is one of the medicinal plants. Noni has antibacterial activity, antiviral, anti-tuberculosis. The leaves contains several constituents include water, protein, fat, carbohydrates, fiber, ash, calcium, phosphorus, iron, β -carotene, riboflavin, niacin, and ascorbic acid. The aim of this study was to determine the antibacterial activity of hydrolysis noni leaves against Streptococcus mutans and Klebsiella pneumoniae. The leaves was delignification, then hydrolyzed with cellulase enzymes. Cellulase enzyme mixture isolated from the fungus Trichoderma reesei and Aspergillus niger with a ratio of 3:1. The method used as antibacterial activity is broth dilution test. The results showed that the enzymatic hydrolysis of noni leaves is not able to inhibit the growth of Streptococcus mutans and Klebsiella pneumoniae.

Keywords: antibacterial, noni leaves, enzymatic hydrolysis, *Trichoderma reesei*, *Aspergillus niger*, *Streptococcus mutans*, *Klebsiella pneumoniae*.

PENDAHULUAN

Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) merupakan salah satu tanaman yang berkhasiat obat. Mengkudu mempunyai aktivitas antibakteri, antivirus, antituberkulosis, antitumor, analgesik, hipotensif, imunologi (Wang *et al.*, 2002; Usha *et al.*, 2010), antikanker, antioksidan, antiinflamasi, dan aktivitas kardiovaskular (Chan-Blanco *et al.*, 2006). Ekstrak petroleum eter dan ekstrak air daun mengkudu telah terbukti mempunyai aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dan *S. aureus* (Usha *et al.*, 2010).

Air dapat menyari senyawa yang bersifat polar dari daun mengkudu, seperti glikosida, karbohidrat, protein, vitamin, dan mineral. Daun mengkudu mengandung protein 1 g; lemak 0,2 g; karbohidrat 4,4 g; serat 1,1 g; kalsium 58 mg; fosfor 93 mg; besi 4,4 mg; β -Carotene 0,3 mg; riboflavin 0,07 mg; niacin 5,6 mg dan asam askorbat 50 mg per 100 g daun (EFSA, 2008). Mengkudu juga mengandung saponin, scopoletin (Satwadhar *et al.*, 2010), *acubin*, *asperuloside*, *alizarin*, dan antrakuinon (Peter, 2005). Aktivitas antibakteri senyawa metabolit sekunder seperti glikosida sudah sering dilaporkan, sedangkan aktivitas antibakteri senyawa metabolit primer seperti karbohidrat jarang dilaporkan.

Polisakarida (karbohidrat) yang diekstraksi dari labu (*Curcubita muschata*) dengan hidrolisis enzimatis menggunakan enzim selulase menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *B. subtilis*, *S. aureus* dan *E. coli* dengan diameter zona hambat 9,78 mm, 13,21 mm, dan 11,36 mm pada konsentrasi 100 mg/mL. Hidrolisis enzimatis merupakan teknologi yang aman lingkungan dan lebih efektif dibandingkan hidrolisis asam (Qian, 2013). Enzim selulase dapat dihasilkan dari jamur *Trichoderma reesei* dan *Aspergillus niger* (Usama *et al.*, 2008; Moosavi-Naab & Majdi-Nasab, 2007).

Berdasarkan uraian di atas, maka penelitian ini dilakukan untuk menentukan aktivitas antibakteri hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu terhadap bakteri *Streptococcus mutans* dan *Klebsiella pneumoniae*. *Streptococcus mutans* merupakan bakteri Gram positif yang dapat menyebabkan karies gigi (Nugraha, 2008). *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif yang dapat menimbulkan konsolidasi *hemorrhagic* intensif pada paru-paru dan kadang-kadang menyebabkan infeksi saluran kencing serta bakteremia dengan luka yang melemahkan pasien (Brooks *et al.*, 2005).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

a. Alat

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat hidrolisis, oven, ayakan, spektrofotometer UV, LAF, incubator (Memmert), timbangan analitik (Ohaus), autoklaf, mikropipet, blue tip dan alat-alat gelas (Pyrex).

b. Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun mengkudu, jamur *Aspergillus niger* dan jamur *Trichoderma reesei*, akuades, larutan nutrisi (5 mL larutan CMC 1%, 0,005 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2,0 g KH_2PO_4 , 1,5 g *bacteriological peptone*, 1,0 g ekstrak ragi) enzim selulase, larutan buffer asetat, larutan 1% Tween 80, HCl 2N, NaOH 1 %, media MH.

Jalannya Penelitian

1. Pretreatment

a. Pengambilan dan pengeringan sampel

Daun mengkudu yang digunakan adalah daun mengkudu yang terdapat di daerah sekitar kampus UMS, 3,5 kg daun dibersihkan kemudian dijemur selama enam minggu di bawah sinar matahari sampai kering. Pengeringan ini bertujuan untuk memudahkan dalam proses penyerbukan.

b. Proses penyerbukan

Selanjutnya daun yang sudah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan ukuran 80 mesh agar didapatkan ukuran sampel yang optimum sebagai substrat untuk dihidrolisis.

c. Delignifikasi

Sebanyak 100 g tepung daun mengkudu dilarutkan dalam 1500 mL larutan NaOH 1% dan dipanaskan selama 8 jam pada suhu 80°C, kemudian disaring dan dinetralkan dengan HCL 2N sampai pH 7. Selanjutnya larutan disaring dan diteruskan ke proses pengeringan dengan oven selama 24 jam pada suhu 60°C.

2. Persiapan Enzim Selulosa

Trichoderma reesei dan *Aspergillus niger* dikembangbiakkan selama tujuh hari pada media *Potato Dextrose Agar* (PDA) miring. Enzim dipersiapkan dengan cara menginkubasi *T. Reesei* maupun *A. niger* dalam media padat daun mengkudu pada 80 mesh dengan larutan nutrisi yang digunakan mengandung 1,5 g *bacteriological peptone* (Oxoid-England), 1,4 g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; 2,0 g KH_2PO_4 , 0,005 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1,0 g ekstrak ragi

(Oxoid-England), 5 mL larutan CMC 1% dalam tiap liter larutan buffer asetat 0,1 M dengan pH 5,0.

Sebanyak 5 gram serbuk daun mengkudu dimasukkan ke dalam labu Erlenmeyer 250 mL, dicampur dengan 25 mL larutan nutrisi kemudian ditutup dengan kapas yang dibalut kain kasa. Sterilisasikan campuran tersebut selama 15 menit pada suhu 121°C. Bibit *A. niger* dan *T. reesei* yang terdapat dalam agar miring disuspensikan dalam larutan salin 0,85% yang mengandung 0,1% Tween 80. Suspensi spora *A. niger* maupun *T. reesei* yang mengandung $\pm 1,8 \times 10^8$ /mL, diinokulasikan secara aseptik ke medium dalam labu Erlenmeyer. *A. niger* diinkubasi selama 8 hari sedangkan *T. reesei* diinkubasi selama 6 hari. Enzim dipanen menggunakan 100 mL larutan 1% Tween 80 dalam buffer asetat 0,1 M dengan pH 5,5 dan diaduk pada 175 rpm selama 135 menit. Campuran enzim kemudian disentrifugasi pada 5.000 rpm selama 1 jam dan disaring untuk mendapatkan enzim kasar (supernatan).

3. Hidrolisis Enzimatis

Hidrolisis dilakukan dalam beaker glass 300 mL yang dilengkapi dengan pemanas berpengendali dan pengaduk bermotor. Daun mengkudu yang telah didelignifikasi dan enzim dengan aktivitas tertentu masing-masing dipanaskan perlahan sampai 45°C kemudian dicampur dan diaduk dengan waktu optimum 4 jam. Hidrolisis dilakukan dengan kondisi tetap sebagai berikut: berat daun mengkudu 5 g, dengan ukuran partikel daun mengkudu 80 mesh, *volume liquid* 150 mL, temperatur 45°C, kombinasi enzim *T. reesei* dan *A. niger* dengan perbandingan 3:1, putaran pengaduk 160 rpm dan pH 5. kemudian kandungan glukosanya dianalisis menggunakan metode gula reduksi nelson-somogy dan diukur absorbansi-nya menggunakan spektrofotometer UV Vis 761 nm. Analisis dilakukan dua kali (Alharis *et al.*, 2011).

4. Identifikasi Bakteri

a. Pembuatan Preparat

Langkah pertama pembuatan preparat yaitu dengan mengambil koloni bakteri dengan ose steril kemudian digoreskan setipis mungkin pada obyek gelas. Obyek gelas tersebut dipanaskan dengan nyala api spiritus (jarak ± 20 cm) sampai preparat kering. Setelah kering, preparat ditetesi dengan formalin 1%, tunggu selama 5 menit dan dikeringkan lagi. Preparat siap untuk dicat.

b. Pengecatan Gram

Preparat yang sudah siap dicat digenangi dengan cat Gram A selama 1-3 menit, cat dibuang tanpa dicuci dengan air. Kemudian preparat digenangi dengan cat Gram B selama

0,5-1 menit, cat dibuang dan preparat dicuci dengan air. Preparat ditetesi dengan cat Gram C sampai warna cat tepat dilunturkan. Preparat digenangi dengan cat Gram D selama 1-2 menit, kemudian preparat dicuci dan dikeringkan dalam udara kamar dengan posisi miring. Preparat diperiksa dibawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali.

5. Uji aktivitas antibakteri

Aktivitas antibakteri hasil hidrolisis enzimatis diuji dengan metode dilusi cair/*broth dilution test (serial dilution)*:

Sebanyak 9 tabung steril disiapkan dan diberi nomor 1-9



Tabung no. 2-9 masing-masing diisi 0,5 mL akuades steril

Tabung no. 1 diisi 1 mL larutan hasil hidrolisis



Tabung no. 2 ditambah 0,5 mL larutan hasil hidrolisis dari tabung no. 1, campur homogen



Sebanyak 0,5 mL larutan diambil dari tabung no. 2 lalu masukkan ke dalam tabung no. 3, campur homogen



Sebanyak 0,5 mL larutan diambil dari tabung no. 3 lalu masukkan ke dalam tabung no. 4, campur homogen



Selanjutnya dilakukan seperti diatas sampai tabung no. 7, campur homogen, ambil 0,5 mL dan buang



Sebanyak 0,5 mL suspensi bakteri ditambahkan ke dalam tabung no. 1-8 yang berisi media akuades



Tabung control :

Tabung no. 8 (K1) : berisi 0,5 mL media akuades + 0,5 mL suspensi bakteri

Tabung no. 9 (K2) : berisi 0,5 mL media akuades

Dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali. Selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37⁰ C, kemudian diamati dan dibandingkan dengan kontrol negatif secara visual (Qayumi, 2007).

HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Hasil Uji Determinasi

Uji determinasi bertujuan untuk mengklasifikasikan tanaman yang dipakai sebagai bahan penelitian. Selain itu, uji determinasi juga bertujuan untuk mengidentifikasi dan memastikan bahwa spesies sesuai yang dimaksud. Hasil dari uji determinasi adalah sebagai berikut :

Divisio : Spermatophyta
Sub Divisio : Angiospermae
Classis : Dicotyledoneae
Sub Classis : Sympetalae
Ordo : Rubiales
Familia : Rubiaceae
Genus : *Morinda*
Species : *Morinda citrifolia* L (Tjitrosoepomo, 2002).

B. Delignifikasi sampel

Delignifikasi merupakan proses penghilangan lignin. Lignin merupakan polimer fenol yang terdapat dalam dinding sel tumbuhan. Lignin dapat dihilangkan atau dikurangi salah satunya dengan perlakuan alkali menggunakan NaOH.

Larutan NaOH dapat menyerang dan merusak struktur lignin pada bagian kristalin dan amorf serta memisahkan sebagian hemiselulosa (Gunam & Antara, 1999 *cit* Safaria *et al*, 2013). Menurut Hespell (1998) ekstraksi hemiselulosa dapat menggunakan pelarut seperti NaOH, NH₄OH dan KOH. Di antara ketiga pelarut tersebut yang paling baik digunakan adalah NaOH. Hemiselulosa memiliki struktur amorf sehingga penggunaan NaOH dapat menghilangkan lignin sekaligus mengekstraksi hemiselulosa. Ion OH⁻ dari NaOH akan memutuskan ikatan-ikatan dari struktur dasar lignin sedangkan ion Na⁺ akan berikatan dengan lignin membentuk natrium fenolat. Garam fenolat ini bersifat polar sehingga mudah larut dalam pelarut polar. Pada proses delignifikasi ini didapatkan hasil larutan berwarna hitam yang disebabkan karena adanya lignin yang terlarut dan menunjukkan lapisan lignin telah terpisah. Proses delignifikasi ini juga menggunakan pemanasan dengan suhu 80⁰C, pemanasan ini bertujuan untuk mempercepat reaksi pemutusan lignin oleh NaOH (Nasruddin *et al*, 2005).

C. Produksi Enzim Selulase

Enzim adalah senyawa yang umum digunakan dalam proses produksi, salah satunya adalah produk hidrolisis. Enzim yang digunakan pada umumnya berasal dari enzim yang diisolasi dari bakteri. Penggunaan enzim dalam proses produksi dapat meningkatkan efisiensi yang kemudian akan meningkatkan jumlah produksi. Salah satu enzim yang diisolasi dari mikroorganisme adalah enzim selulase.

Tahap produksi enzim merupakan tahap dimana enzim selulase dihasilkan melalui proses fermentasi daun mengkudu sebagai akibat dari metabolisme jamur *A.niger* dan *T.reesei*.

Pada proses fermentasi dilakukan pemberian larutan nutrisi untuk melengkapi nutrisi yang dapat merangsang pertumbuhan jamur. Nutrisi ini berupa karbon, nitrogen, hidrogen dan mineral seperti fosfor, sulfur, kalsium, kalium dan magnesium. Sumber karbon yang digunakan berupa selulosa yang berasal dari daun mengkudu. Karbon berfungsi sebagai unsur utama dalam pembentukan sel. Nitrogen berfungsi dalam pembentukan asam amino, DNA, RNA dan ATP. Hidrogen dan oksigen berfungsi dalam proses pembentukan sel. Fosfor berfungsi sebagai kofaktor enzim dan pembentukan asam nukleat. Sulfur, kalium, dan kalsium berfungsi sebagai kofaktor enzim. Magnesium berfungsi untuk menjaga kestabilan ribosom, membran sel dan asam nukleat, sebagai kofaktor enzim, dan sebagai komponen dari klorofil (Gandjar, 2006).

D. Hidrolisis Enzimatis

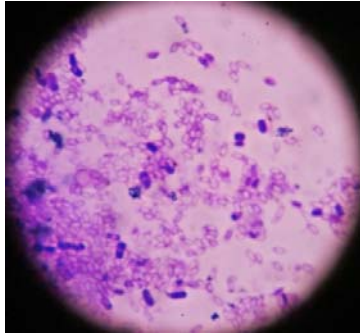
Dari hasil delignifikasi diambil sebanyak 5 g serbuk daun kemudian dilarutkan dalam 150 mL aquades dan ditambahkan dengan kombinasi enzim *T. reesei* dan *A. niger* dengan perbandingan 3:1. Dari penelitian dihasilkan 150 mL larutan hasil hidrolisis yang merupakan polisakarida dan zat-zat lain yang belum diketahui.

E. Hasil Pengecatan Bakteri

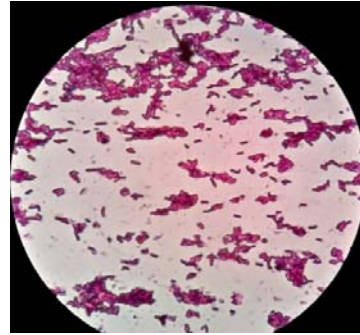
Pengecatan Gram bakteri dilakukan agar bakteri dapat dengan jelas diamati dibawah mikroskop, hal ini dikarenakan terdapat perbedaan warna antara sel bakteri dan latar belakangnya setelah dilakukan pengecatan Gram.

Secara mikroskopis, *Streptococcus mutans* merupakan Gram positif, tidak bergerak aktif, tidak membentuk spora, dan mempunyai susunan rantai dua atau lebih. Berbentuk bulat dengan diameter 0,5-0,7 mm (Bidarisukma, 2012), Sedangkan *Klebsiella pneumoniae* merupakan bakteri Gram negatif yang berbentuk batang (basil) (Ayuningtyas, 2008)

Berdasarkan hasil yang diperoleh pada pengamatan dibawah mikroskop setelah dilakukannya pengecatan Gram, *Streptococcus mutans* mempunyai bentuk bulat berwarna ungu dan membentuk susunan rantai (Gambar 1), sedangkan *Klebsiella pneumoniae* berbentuk batang dan berwarna merah (Gambar 2).



Gambar 1. Pengecatan Gram positif bakteri *Streptococcus mutans*



Gambar 2. Pengecatan Gram negatif bakteri *Klebsiella pneumoniae*

F. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Metode yang digunakan sebagai uji aktivitas antibakteri adalah metode dilusi cair /broth dilution test. Metode tersebut bertujuan untuk menentukan aktivitas antibakteri hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu.

Tabel 1. Hasil replikasi uji aktivitas antibakteri glukosa hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu terhadap bakteri *Streptococcus mutans*

Tabung	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
I	Keruh	Keruh	Keruh
II	Keruh	Keruh	Keruh
III	Keruh	Keruh	Keruh
IV	Keruh	Keruh	Keruh
V	Keruh	Keruh	Keruh
VI	Keruh	Keruh	Keruh
VII	Keruh	Keruh	Keruh

Tabel 2. Hasil replikasi uji aktivitas antibakteri glukosa hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu terhadap bakteri *Klebsiella pneumoniae*

Tabung	Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 3
I	Keruh	Keruh	Keruh
II	Keruh	Keruh	Keruh
III	Keruh	Keruh	Keruh
IV	Keruh	Keruh	Keruh
V	Keruh	Keruh	Keruh
VI	Keruh	Keruh	Keruh
VII	Keruh	Keruh	Keruh

Berdasarkan data Tabel 1, 2 dan Gambar 1, 2 diatas dapat dikatakan bahwa hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu pada tabung I (pengenceran 2 kali dari hasil hidrolisis) tidak menunjukkan aktivitas antibakteri. Ini kemungkinan disebabkan karena kurangnya konsentrasi larutan polisakarida dari hasil hidrolisis sebagai larutan antibakteri sehingga belum mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Dari penelitian Qian (2013), dengan 100 mg/mL larutan polisakarida dapat menghambat aktivitas bakteri.

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Hasil hidrolisis enzimatis daun mengkudu tidak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Streptococcus mutans* dan *Klebsiella pneumoniae*.

B. Saran

Perlu dilakukan penetapan kadar polisakarida hasil hidrolisis daun mengkudu.

DAFTAR PUSTAKA

- Alharis, R.U., Purnama, W. B. & Kurniawan, A., 2011, Pembuatan Glukosa yang Mengandung Zat Anti Kanker dari Daun Mengkudu Dengan Hidrolisis Enzimatis, *Program Kreatifitas Mahasiswa*, Fakultas Teknik Kimia, Universitas Muhammadiyah Surakarta
- Ayuningtyas W, F., 2008, *Klebsiella pneumoniae*, Sanata Dharma University
- Bidarasukma, B., Sekar, P, T., Rizki, P., 2012, Antibodi Monoklonal *Streptococcus Mutans* 1 (c) 67 kDa sebagai Imunisasi Pasif dalam Alternatif Pencegahan Karies Gigi secara Topikal, *Berkala Ilmiah Mahasiswa Gigi Kedokteran*, Vol. 1
- Brooks, G. F., Butel, J. S. & Morse, S. A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran (Medical Microbiology)*, Second Edition, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 360, Jakarta, Penerbit Salemba Medika
- Chan-Blanco, Y., F. Vaillant, A.M. Perez, M. Reynes, Brillouet, Jean-Mare & P. Brat., 2006, The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. *J. Food Composit. Anal.* 19: 645-654
- EFSA (European Food Safety Authority), 2008, Safety of 'leaves from *Morinda citrifolia* L.' (Request No EFSA-Q-2006-185), *The EFSA Journal* 769, 1-17
- Gandjar, I., 2006, *Mikrobiologi Dasar dan Terapan*, Jakarta, Yayasan Obor Indonesia
- Gunam, I.B.W., & Antara, N.S., 1999, Study on Sodium Hydroxide Treatment Of Corn Stalk to Increase Its Cellulose Saccharification Enzymatically by Using Culture Filtrate of *Trichoderma rees*. *Gitayana, Agric. Technol. J.* 5 (1): 34-38
- Hespell, B., 1998, Extraction and Characterization of Hemicellulose from Corn Fiber Produced by Corn Wet-Milling Processes, *J. Agric. and Food Chem.* 46 : 2615-2619
- Moosavi-Naab & Majdi-Nasab, 2007, Cellulase Production by *Trichoderma reesei* using Sugar Beet Pulp, *Iran Agricultural Research*, Vol. 25, No. 2 and Vol. 26, No. 1-2
- Nasruddin., Gatot, P., & Basuni, H., 2005, Mempelajari Proses Penyulingan Minyak Nilam Melalui Delignifikasi Daun, *jurnal, Teknol dan Industri Pangan*, Vol. XVI, No. 3

- Nugraha, A. W., 2008, *Si Plak Dimana-mana "Streptococcus mutans"*, Yogyakarta, Fakultas Farmasi USD
- Peter, 2005, Chemical Constituents and Noni's Function, *Noni News IndianMagazine*, Edisi Oktober (2) X
- Qayumi, S., 2007, Macro-and Microdilution Methods of Antimicrobial Susceptibility Testing, [http://www.crcnetbase.com/ doi/abs/10.1201/ 9781420014495](http://www.crcnetbase.com/doi/abs/10.1201/9781420014495) (diakses tanggal 29 november 2012)
- Qian, Z, G., 2013, Cellulase-assisted Extraction of Polysaccharides from *Curcubita moschata* and Their Antibacterial Activity, *Journal Carbohidrat Polymers*, 432-434
- Safaria, S., Idiawati, N., & Zaharah, T, A., 2013, *Efektivitas Campuran Enzim Selulase Dari Aspergillus niger dan Trichoderma reesei dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa*, JKK, Volume 2(1), halaman 46-51
- Satwadhar, P. N., Deshpande, H. W., Hashmi, S. I. & Syed, K. A., 2011, Nutritional Composition and Identification of Some of the Bioactive Components in *Morinda citrifolia* Juice, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 3 (1), 58-59
- Tjitrosoepomo, G., 2007, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, Yogyakarta, UGM press
- Usha, R., Sashidharan, S., & Palaniswamy, M., 2010, *Antimicrobial Activity of a Rarely Known Species, Morinda citrifolia L.*, *Ethnobotanical leaflets* 14:306-11
- Wang, M. Y., West, B. J., Jensen, C. J., Nowicki, D., Su, C., Palu, A. K. & Anderson, G., 2002, *Morinda citrifolia* (Noni): A Literature Review and Recent Advances in Noni Research, *Acta Pharmacol Sin*, 23 (12), 1127-1141