

**AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANTIBIOFILM FRAKSI AIR DAUN KRATOM
(MITRAGYNA SPECIOSA)****Lukman Mahdi**

Program Studi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Lambung
Mangkurat, Kalimantan Selatan

Email : lukmanm@ulm.ac.id

INFO ARTIKEL

Riwayat Artikel:

Received :27-12-2025

Revised :10-01-2026

Accepted :19-01-2026

Keywords: *Mitragyna speciosa*, antibacterial, antibiofilm, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*

DOI: <https://doi.org/10.62335>

ABSTRACT

*Inadequate infection management poses a significant risk of complications, further exacerbated by biofilm-associated infections that lead to therapeutic failure and recurrence. Consequently, the development of novel antibacterial-antibiofilm agents is critical. Natural products offer substantial potential due to their diverse active compounds, notably Kratom leaves (*Mitragyna speciosa*), which have a long-standing history in traditional medicine. This study aims to evaluate the antibacterial and antibiofilm potential of the aqueous fraction of *M. speciosa* against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. The methodology involved ethanol extraction of the leaf powder, followed by sequential fractionation to isolate the aqueous fraction. Antibacterial activity was assessed using the disk diffusion method, while antibiofilm efficacy was determined via the microbroth dilution method. Results indicated that aqueous fraction of *M. speciosa* inhibited the growth of *S. aureus* and *E. coli*, at concentrations of 5–25%. Antibiofilm assays revealed that the inhibitory effects of aqueous fraction of *M. speciosa* were dose-dependent. The aqueous fraction of *M. speciosa* at 1% concentration demonstrated effective inhibition across all three biofilm phases of *S. aureus*. Conversely, for *E. coli*, the maximum inhibitory effect was observed exclusively during the eradication phase. These findings confirm that the aqueous fraction of *M. speciosa* holds strategic potential for development as a natural*

antibacterial-antibiofilm agent.

ABSTRAK

Penanganan infeksi yang tidak tepat berisiko memicu komplikasi, terutama diperparah dengan kejadian infeksi biofilm yang menyebabkan kegagalan terapi/kekambuhan. Oleh karena itu, pengembangan agen antibakteri-antibiofilm baru menjadi sangat krusial. Bahan alam menawarkan potensi besar karena keragaman senyawa aktifnya, salah satunya adalah daun Kratom (*Mitragyna speciosa*) yang telah lama digunakan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan mengevaluasi potensi antibakteri-antibiofilm fraksi air daun *M. speciosa* terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Tahapan penelitian meliputi ekstraksi simplisia dengan pelarut etanol, dilanjutkan fraksinasi bertingkat untuk memperoleh fraksi air. Pengujian dilakukan menggunakan metode difusi cakram untuk aktivitas antibakteri dan *microbroth dilution* untuk efikasi antibiofilm. Hasil penelitian menunjukkan fraksi air daun *M. speciosa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri patogen *S. aureus* dan *E. coli* pada konsentrasi 5–25%. Uji antibiofilm mengungkapkan bahwa efek inhibisi fraksi air daun *M. speciosa* bersifat *dose-dependent*. Fraksi air daun *M. speciosa* menunjukkan daya hambat efektif terhadap biofilm *S. aureus* pada konsentrasi 1% yang dapat menghambat 3 fase pembentukan biofilm secara maksimal, sedangkan pada *E. coli*, efek daya hambat tertinggi hanya tampak pada fase eradikasi. Hasil penelitian ini menegaskan bahwa fraksi air daun *M. speciosa* berpotensi untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri-antibiofilm.

PENDAHULUAN

Infeksi biofilm merupakan jenis infeksi kronis yang disebabkan oleh koloni bakteri yang tumbuh dan berkembang menjadi resistan terhadap sistem imunitas tubuh maupun antibiotik. Kasus infeksi biofilm dapat ditemukan pada berbagai sistem tubuh, meliputi sistem kardiovaskular, pencernaan, integumen, reproduksi, hingga pernapasan (Vestby dkk., 2020). Bakteri biofilm memiliki kemampuan untuk melekat pada permukaan benda hidup maupun mati. Koloni ini tidak hanya terdiri atas satu jenis bakteri, tetapi dapat mengandung berbagai spesies yang saling berkomunikasi melalui mekanisme sinyal yang disebut *quorum sensing*. Pembentukan biofilm menghasilkan matriks polimer ekstraseluler (EPS) yang berperan penting dalam memenuhi kebutuhan nutrisi dan mineral bagi koloni tersebut (Jamal dkk., 2018). Secara umum, spesies bakteri seperti *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus aureus* sering dikaitkan dengan kejadian infeksi biofilm. Hubungan antarspesies mikroba dalam struktur ini disebut sebagai biofilm polimikroba (Sari dkk., 2025). Sebagian kecil sel persisten yang

berkembang dalam biofilm polimikroba diketahui toleran terhadap antibiotik, sehingga sering memicu kekambuhan penyakit (Del Pozo, 2018). Penanganan atau terapi infeksi biofilm yang tidak tepat berisiko meningkatkan komplikasi medis. Oleh karena itu, diperlukan pendekatan baru melalui pengembangan agen antimikroba inovatif yang efektif dalam mengatasi infeksi biofilm.

Pemanfaatan bahan alam sering kali menjadi pilihan alternatif dalam pengembangan obat baru, salah satunya adalah tanaman kratom. Kratom, atau secara ilmiah dikenal sebagai *Mitragyna speciosa* dari famili Rubiaceae, merupakan tanaman endemik yang tersebar luas di wilayah Asia Tenggara hingga benua Afrika. Secara empiris, daun *M. speciosa* telah lama dimanfaatkan untuk mengatasi berbagai kondisi kesehatan, seperti demam, kecemasan, batuk, hipertensi, nyeri, dan diabetes (Meireles dkk., 2019; Singh dkk., 2017). Selain mengandung alkaloid utama seperti *mitragynine*, *7-hydroxymitragynine*, dan *speciofoline* (Todd dkk., 2020), tanaman ini juga kaya akan komponen lain seperti flavonoid, saponin, triterpenoid, dan turunan glikosida (León dkk., 2009).

Berbagai penelitian menunjukkan bahwa *M. speciosa* memiliki efek yang signifikan terhadap pertumbuhan mikroorganisme. Studi oleh Paankhao dkk., (2024) mengungkapkan bahwa ekstrak etanol *M. speciosa* mampu menghambat bakteri Gram-negatif *Edwardsiella tarda* yang menyebabkan penyakit edwardsiellosis pada ikan. Di sisi lain, Pansai dkk., (2024) menunjukkan bahwa ekstrak air tanaman ini justru mampu menstimulasi pertumbuhan *Bifidobacterium*, yakni mikrobiota usus yang berperan penting dalam meningkatkan proses pencernaan. Bukti-bukti tersebut menunjukkan potensi besar *M. speciosa* untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri-antibiofilm. Oleh karena itu, penelitian ini melakukan pengujian secara *in vitro* terhadap bakteri patogen *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Proses fraksinasi dilakukan untuk menapis senyawa berdasarkan kemiripan polaritas guna mengidentifikasi golongan senyawa yang bertanggung jawab atas aktivitas antibakteri-antibiofilm tersebut sebagai langkah awal dalam pengembangan agen terapeutik baru.

METODE PENELITIAN

1. Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan yakni peralatan gelas, pH meter (ATC®), pipa kapiler (Nesco®), pipet ukur (Pyrex®), pipet tetes, pipet volume (Pyrex®), mikropipet (Socorex®), 96-well plate, rotary evaporator, lemari pendingin, lemari pengering, maserator, oven, waterbath, ELISA reader, Biosafety Cabinet. Bahan yang digunakan yakni etanol 96%, akuades, n-heksan, etil asetat, DMSO, media *Nutrient Agar*, media *Brain Heart Infusion*, kultur bakteri *Staphylococcus aureus*, kultur bakteri *Escherichia coli*, kloramfenikol.

2. Ekstraksi dan Fraksinasi

Sebanyak 1.500 gram daun *Mitragyna speciosa* dikeringkan menggunakan oven selama tiga jam pada suhu 40°C. Simplisia yang diperoleh kemudian dimaserasi menggunakan pelarut etanol 96% selama lima hari dengan pengadukan setiap 6 jam.

Ekstrak kental hasil maserasi selanjutnya difraksinasi menggunakan metode partisi cair-cair. Sebanyak 40 gram ekstrak kental dimasukkan ke dalam 100 ml akuades (1:2,5 b/v) lalu diaduk hingga seluruh ekstrak tersuspensi. Campuran tersebut dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan n-heksana sebanyak 400 ml (1:4 b/v). Campuran digojog dan didiamkan hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan akuades dipisahkan dari lapisan n-heksana. Selanjutnya, fase air dimasukkan kembali ke dalam corong pisah untuk difraksinasi ulang dengan pelarut n-heksana (1:1 v/v) hingga lapisan n-heksana menjadi bening. Setelah dipisahkan dari fraksi n-heksana, fraksi air difraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat (1:4 v/v). Fraksi air yang telah dipisahkan dari fraksi etil asetat kemudian difraksinasi ulang dengan pelarut etil asetat (1:1 v/v) hingga lapisan etil asetat menjadi bening. Fraksi air yang diperoleh lalu diuapkan dan dihitung rendemennya (Zakri dkk., 2025). Fraksi air daun *Mitragyna speciosa* disingkat FAM.

3. Uji Antibakteri

Pengujian antibakteri dilakukan menggunakan metode difusi cakram. Tahapan pengujian dimulai dengan pembuatan seri konsentrasi FAM sebesar 5%, 10%, 15%, 20%, dan 25% dengan bantuan pelarut DMSO 10% untuk melarutkan FAM. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* diinokulasikan secara merata pada masing-masing media *Nutrient Agar* (NA). Setelah inokulasi bakteri, selanjutnya masing-masing cakram dijenuhkan dengan FAM (kelompok sampel), DMSO 10% (kelompok kontrol negatif), dan kloramfenikol (kelompok kontrol positif, selanjutnya akan disimbolkan sebagai K+) lalu cakram diletakan di permukaan media untuk selanjutnya diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengukuran zona hambat dilakukan menggunakan jangka sorong (Karmilah dkk., 2023).

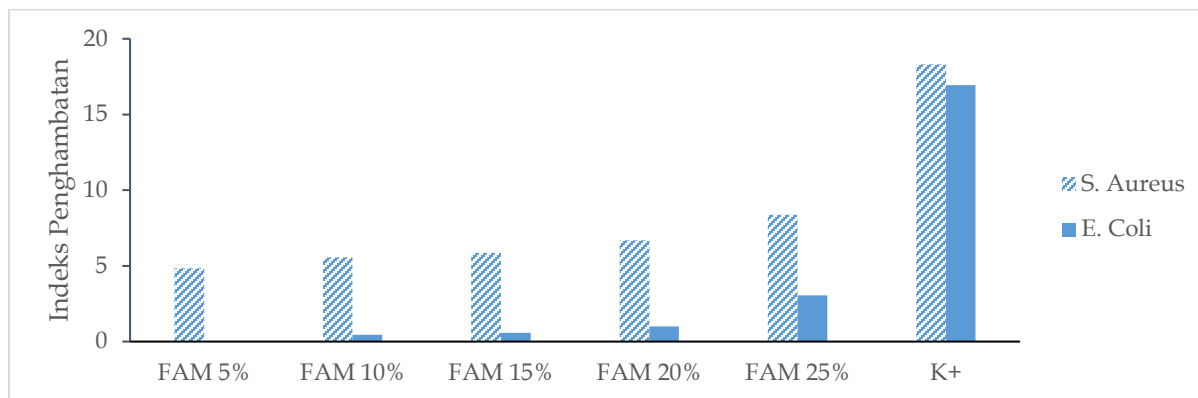
4. Uji Antibiofilm

Pengujian antibiofilm dilakukan menggunakan metode pengenceran mikrobroth pada *96-well microplate*. Tahapan diawali dengan preparasi suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dalam media *Brain Heart Infusion* (BHI) hingga mencapai standar McFarland 0,5 ($1,5 \times 10^8$ CFU/mL). Selanjutnya dibuat seri konsentrasi FAM sebesar 1%, 0,5%, 0,25%, dan 0,125% (b/v) menggunakan pelarut DMSO 1% yang juga berfungsi sebagai kelompok kontrol negatif. Sementara itu, kelompok kontrol positif menggunakan kloramfenikol 1%. Pengujian dilakukan dengan memasukan 100 μ l BHI, 50 μ l suspensi bakteri, dan 30 μ l fraksi air pada tiap sumuran. Inkubasi dilakukan pada suhu 37°C dengan tiga variasi waktu pengamatan yang berbeda yakni 24 jam (fase mikrokoloni), 48 jam (fase maturasi), dan 72 jam (fase eradikasi). Selanjutnya diukur *optical density* (OD) pada tiap sumuran tiap kelompok menggunakan *Elisa reader* (Setiawan dkk., 2025).

HASIL DAN PEMBAHASAN

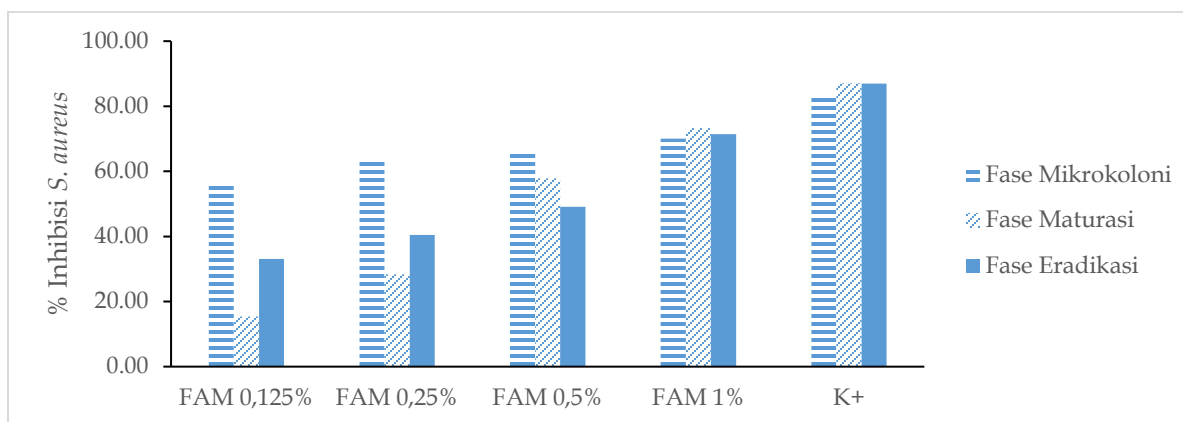
Ekstrak etanol daun *Mitragyna speciosa* yang dihasilkan dari proses maserasi berwarna hijau kehitaman dengan rendemen sebesar 6,69%. Untuk mendapatkan filtrat dengan cakupan golongan senyawa yang lebih spesifik, dilakukan proses fraksinasi

bertingkat. Fraksi air daun *M. speciosa* (FAM) yang diperoleh berwarna coklat kehitaman. Rendemen yang dihasilkan sebesar 26,50% dengan konsistensi yang cukup kental. Nugraha dkk., (2018) melaporkan bahwa hasil uji KLT (Kromatografi Lapis Tipis) fraksi air daun *M. speciosa* menunjukkan kandungan senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, tanin, dan fenol.



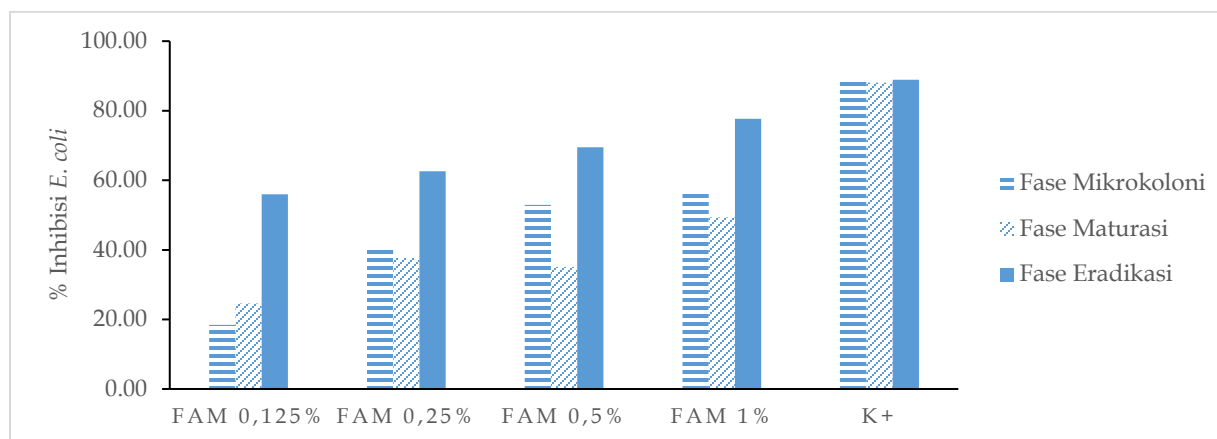
Gambar 1. Efek antibakteri fraksi air daun *M. speciosa* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*

Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa fraksi air daun *M. speciosa* (FAM) memiliki efek penghambatan yang lebih besar terhadap *S. aureus* (bakteri gram positif) dibandingkan dengan *E. coli* (bakteri gram negatif), sebagaimana ditunjukkan pada Gambar 1. Efek antibakteri FAM bersifat *dose-dependent*, yang berarti peningkatan konsentrasi FAM sebanding dengan peningkatan daya hambat terhadap bakteri uji. Meskipun efek penghambatan FAM masih lebih rendah dibandingkan dengan kontrol positif (kloramfenikol), hasil pengujian ini membuktikan bahwa FAM memiliki potensi strategis untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri. Potensi antibakteri daun *M. speciosa* diperkuat oleh penelitian Juanda dkk., (2019) yang melaporkan bahwa ekstrak metanol daun *M. speciosa* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Aeromonas hydrophila*. Sejalan dengan hal tersebut, Wibowo dkk., (2025) memaparkan bahwa ekstrak etanol daun *M. speciosa* mampu menghambat biofilm bakteri *S. aureus* dengan persentase penghambatan mencapai 66,54%.



Gambar 2. Efek antibiofilm fraksi air daun *M. speciosa* terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*

Upaya pengembangan agen antibakteri-antibiofilm menjadi sangat krusial dalam mitigasi berbagai infeksi mikroba. Pembentukan biofilm dimulai dari tahapan adhesi sel pada permukaan benda hidup maupun mati, diikuti dengan pembentukan mikrokoloni, hingga berkembang menjadi struktur biofilm matang yang selanjutnya siap melakukan kolonisasi ke area baru (Crouzet dkk., 2014). Berdasarkan pengujian antibiofilm, diperoleh hasil bahwa FAM mampu menghambat fase-fase pembentukan biofilm bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Pengujian terhadap bakteri *S. aureus* menunjukkan bahwa peningkatan konsentrasi FAM sebanding dengan peningkatan daya hambatnya, artinya efek antibiofilm FAM bersifat *dose-dependent*. Pada Gambar 2 ditampilkan konsentrasi FAM 0,125%-0,5% mempunyai efek inhibisi paling tinggi pada fase mikrokoloni dibandingkan fase lainnya. Persentase inhibisi fase mikrokoloni konsentrasi FAM 0,5% bernilai sebesar 65,91%. Sementara itu persentase inhibisi konsentrasi FAM 1% pada tiap fase memiliki nilai yang hampir sama yakni persentase inhibisi fase mikrokoloni sebesar 70,08%; fase maturasi sebesar 73,32%; dan fase eradikasi sebesar 71,39%. Hal ini menandakan untuk menghambat fase-fase pembentukan biofilm *S. aureus* dibutuhkan konsentrasi FAM $\geq 1\%$. Daya hambat FAM sendiri masih jauh lebih rendah jika dibandingkan kontrol positif (kloramfenikol). Persentase inhibisi kloramfenikol mencapai lebih dari 80% pada tiga fase pembentukan biofilm.



Gambar 3. Efek antibiofilm fraksi air daun *M. speciosa* terhadap bakteri *Escherichia coli*

Berdasarkan hasil pengujian antibiofilm bakteri *E. coli*, efek antibiofilm yang dihasilkan FAM bersifat *dose-dependent*, sama seperti hasil pengujian pada bakteri *S. aureus*. Terdapat peningkatan daya hambat seiring dengan bertambahnya konsentrasi FAM. Hal ini dapat dilihat pada Gambar 3. Pada bakteri *E. coli*, efek inhibisi paling tinggi terjadi pada fase eradikasi (72 jam) dengan peningkatan secara gradual dari konsentrasi FAM 0,125% hingga 1%. Nilai inhibisi FAM paling tinggi (77,69%) tampak terjadi pada pemberian FAM 1%. Menariknya pada fase eradikasi saja yang daya hambatnya cukup tinggi sementara daya hambat dua fase lainnya cukup rendah. Meskipun konsentrasi FAM 1% menunjukkan hasil inhibisi yang mendekati 80% pada fase eradikasi tetapi secara keseluruhan efek inhibisi FAM masih dibawah kontrol positif (kloramfenikol) yang menghasilkan persentase penghambatan lebih dari 88% pada tiga fase berbeda.

Trend penghambatan biofilm *S. aureus* tampak cukup berbeda dengan *E. coli*. FAM tampak lebih efektif menghambat fase eradikasi pada bakteri *E. coli*. Sementara pada biofilm *S. aureus*, konsentrasi FAM $\leq 0,5\%$ efektif menghambat fase mikrokoloni. FAM baru menunjukkan efektivitas yang signifikan dalam menghambat fase mikrokoloni, maturasi, dan eradikasi pada konsentrasi 1%. Bukti bahwa fraksi air daun *M. speciosa* mampu menghambat fase-fase pembentukan biofilm menunjukkan adanya potensi fraksi air daun *M. speciosa* untuk dikembangkan menjadi agen antibakteri-antibiofilm.

Sornsenee dkk., (2025) melaporkan hasil yang serupa bahwa ekstrak air daun *M. speciosa* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan nilai MIC 50 mg/ml dan MBC > 100 mg/ml. Ekstrak air daun *M. speciosa* memiliki daya hambat bakteri *S. aureus* paling besar pada fase inkubasi 24 jam (fase mikrokoloni). Sedangkan pada bakteri *E. coli* ekstrak air daun *M. speciosa* memiliki efek penghambatan paling besar pada fase inkubasi 48 jam (fase maturasi). Namun hal berbeda dilaporkan oleh Parthasarathy dkk., (2009) bahwa ekstrak air daun *M. speciosa* yang diperoleh dalam bentuk infusa (perebusan simplisia dengan air panas) tidak memiliki efek inhibisi baik pada bakteri *E. coli*, *Salmonella typhi*, *Bacillus subtilis*, maupun *Pseudomonas aeruginosa*. Sementara itu ekstrak metanol yang diekstraksi dengan teknik maserasi masih mampu

menunjukkan efek penghambatan yakni pada bakteri *Salmonella typhi* dan *Bacillus subtilis*.

Temuan ini mengindikasikan bahwa efektivitas antibakteri-antibiofilm daun *M. speciosa* tidak hanya dipengaruhi oleh konsentrasi ekstrak/fraksi, tetapi juga berkorelasi dengan metode ekstraksi yang dipilih. Perbedaan teknik ekstraksi akan memengaruhi profil komponen senyawa yang tersari. Oleh sebab itu, investigasi lebih lanjut mengenai senyawa aktif yang berperan dalam aktivitas antibakteri-antibiofilm daun *M. speciosa* sangat diperlukan. Hal ini bertujuan untuk menentukan teknik isolasi yang tepat untuk menghasilkan agen terapeutik yang bermutu dan terstandarisasi.

KESIMPULAN

Fraksi air daun *Mitragyna speciosa* terbukti mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*. Efek inhibisi terhadap biofilm *S. aureus* mencapai tingkat maksimal pada konsentrasi 1%, sedangkan pada *E. coli*, efek daya hambat tertinggi hanya tampak pada fase eradikasi. Penelitian ini menegaskan potensi fraksi air daun *Mitragyna speciosa* untuk dikembangkan sebagai agen antibakteri sekaligus antibiofilm. Meskipun demikian, proses isolasi dan pemurnian senyawa aktif lebih lanjut perlu dilakukan guna meningkatkan efektivitas serta spesifisitas efek farmakologis dari daun *M. speciosa* tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Crouzet, M., Le Senechal, C., Brözel, V. S., Costaglioli, P., Barthe, C., Bonneu, M., Garbay, B., & Vilain, S. (2014). Exploring early steps in biofilm formation: Set-up of an experimental system for molecular studies. *BMC Microbiology*, *14*, 253. <https://doi.org/10.1186/s12866-014-0253-z>
- Del Pozo, J. L. (2018). Biofilm-related disease. *Expert Review of Anti-infective Therapy*, *16*(1), 51–65. <https://doi.org/10.1080/14787210.2018.1417036>
- Jamal, M., Ahmad, W., Andleeb, S., Jalil, F., Imran, M., Nawaz, M. A., Hussain, T., Ali, M., Rafiq, M., & Kamil, M. A. (2018). Bacterial biofilm and associated infections. *Journal of the Chinese Medical Association*, *81*(1), 7. <https://doi.org/10.1016/j.jcma.2017.07.012>
- Juanda, E., Andayani, S., & Maftuch, M. (2019). Phytochemical Screening and Antibacterial Activity of Kratom Leaf (*Mitragyna speciosa* Korth.) Against *Aeromonas hydrophilla*. *The Journal of Experimental Life Science*, *9*(3), 155–158. <https://doi.org/10.21776/ub.jels.2019.009.03.02>
- Karmilah, Reymon, Daud, N. S., Badia, E., Yodha, A. W. M., Setiawan, M. A., Tee, S. A., & Musdalipah. (2023). Aktivitas Antibakteri Rimpang Meistera chinensis terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25023 dan *Escherichia coli* ATCC 35218 Secara Difusi Agar. *Biota : Jurnal Ilmiah Ilmu-Ilmu Hayati*, 10–18. <https://doi.org/10.24002/biota.v8i1.5651>
- León, F., Habib, E., Adkins, J. E., Furr, E. B., McCurdy, C. R., & Cutler, S. J. (2009). Phytochemical Characterization of the Leaves of *Mitragyna Speciosa* Grown in USA. *Natural Product*

- Communications*, 4(7), 1934578X0900400705.
<https://doi.org/10.1177/1934578X0900400705>
- Meireles, V., Rosado, T., Barroso, M., Soares, S., Gonçalves, J., Luís, Â., Caramelo, D., Simão, A. Y., Fernández, N., Duarte, A. P., Gallardo, E., Meireles, V., Rosado, T., Barroso, M., Soares, S., Gonçalves, J., Luís, Â., Caramelo, D., Simão, A. Y., ... Gallardo, E. (2019). *Mitragyna speciosa*: Clinical, Toxicological Aspects and Analysis in Biological and Non-Biological Samples. *Medicines*, 6(1). <https://doi.org/10.3390/medicines6010035>
- Nugraha, W. I., Robiyanto, R., & Luliana, S. (2018). Antinociceptive Activity of Aqueous Fraction of Kratom Leaves (*Mitragyna speciosa* Korth.) on Male Swiss Albino Mice. *Majalah Obat Tradisional*, 23(2), 91. <https://doi.org/10.22146/mot.32085>
- Paankhao, N., Sangsawang, A., Kantha, P., Paankhao, S., Promsee, K., Soontara, C., Kongsriprapan, S., Srisapoome, P., Kumwan, B., Meachasompop, P., Phrompanya, P., Buncharoen, W., & Uchuwittayakul, A. (2024). Antioxidant and antibacterial efficiency of the ethanolic leaf extract of Kratom (*Mitragyna speciosa* (Korth.) Havil) and its effects on growth, health, and disease resistance against *Edwardsiella tarda* infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Fish & Shellfish Immunology*, 152, 109771. <https://doi.org/10.1016/j.fsi.2024.109771>
- Pansai, N., Wungsintaweekul, J., & Wichienchot, S. (2024). The effects of *Mitragyna speciosa* extracts on intestinal microbiota and their metabolites in vitro fecal fermentation. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 104(14), 8500–8510. <https://doi.org/10.1002/jsfa.13677>
- Parthasarathy, S., Azizi, J. B., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Said, M. I. M., Mansor, S. M., Parthasarathy, S., Azizi, J. B., Ramanathan, S., Ismail, S., Sasidharan, S., Said, M. I. M., & Mansor, S. M. (2009). Evaluation of Antioxidant and Antibacterial Activities of Aqueous, Methanolic and Alkaloid Extracts from *Mitragyna Speciosa* (Rubiaceae Family) Leaves. *Molecules*, 14(10), 3964–3974. <https://doi.org/10.3390/molecules14103964>
- Sari, R., Pratiwi, S. U. T., Murti, Y. B., & Damayanti, E. (2025). Antibacterial and Antibiofilm Properties of Kulim Bark (*Scorodocarpus borneensis* Becc.) Hydrogel on Polymicrobial Biofilms. *Journal of Pharmacopuncture*, 28(3), 178–190. <https://doi.org/10.3831/KPI.2025.28.3.178>
- Setiawan, D., Hadi, S., Mardiaty, N., Mahdi, N., Khairunnisa, A., Aqifah, A., Hamzah, H., & Siswadi, S. (2025). Nanogel Formulations of Kratom (*Mitragyna speciosa*) Extract: A Promising Antibiofilm agent for Diabetic Ulcer Infections. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 11, 5216. <https://doi.org/10.52711/0974-360X.2025.00752>
- Singh, D., Narayanan, S., Vicknasingam, B., Corazza, O., Santacroce, R., & Roman-Urrestarazu, A. (2017). Changing trends in the use of kratom (*Mitragyna speciosa*) in Southeast Asia. *Human Psychopharmacology: Clinical and Experimental*, 32(3), e2582. <https://doi.org/10.1002/hup.2582>
- Sornsenee, P., Chimplee, S., & Romyasamit, C. (2025). Evaluation of Antibacterial, Antibiofilm, Antioxidant, and Anti-Inflammatory Activities of Kratom Leaves (*Mitragyna speciosa*)

- Fermentation Supernatant Containing *Lactobacillus rhamnosus* GG. *Probiotics and Antimicrobial Proteins*, 17(1), 328–340. <https://doi.org/10.1007/s12602-023-10142-x>
- Todd, D. A., Kellogg, J. J., Wallace, E. D., Khin, M., Flores-Bocanegra, L., Tanna, R. S., McIntosh, S., Raja, H. A., Graf, T. N., Hemby, S. E., Paine, M. F., Oberlies, N. H., & Cech, N. B. (2020). Chemical composition and biological effects of kratom (*Mitragyna speciosa*): In vitro studies with implications for efficacy and drug interactions. *Scientific Reports*, 10(1), 19158. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-76119-w>
- Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., Nesse, L. L., Vestby, L. K., Grønseth, T., Simm, R., & Nesse, L. L. (2020). Bacterial Biofilm and its Role in the Pathogenesis of Disease. *Antibiotics*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/antibiotics9020059>
- Wibowo, J. P., Wahid, A. R., Paramitha, D. S., Wewengkang, R. D., & Nurrahmah, M. (2025). ANTIBIOFILM ACTIVITY OF FIVE NATIVE PLANTS OF KALIMANTAN ISLAND AGAINST *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Farmasi Sains Dan Praktis*, 188–199. <https://doi.org/10.31603/pharmacy.v11i3.12917>
- Zakri, D. F., Putri, D. H., Irdawati, I., & Angelina, M. (2025). Activity of Ethanol Extract and Fraction Products Leaves *Manilkara kauki* as Inhibitors Tyrosinase Enzyme. *Jurnal Biologi Tropis*, 25(1), 960–966. <https://doi.org/10.29303/jbt.v25i1.8295>