UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DAN ANALISIS KIMIA DAUN TUMBUHAN KUMBI (*Voacanga foetida* (B.I) Rolfe) DARI DESA TETE BATU KABUPATEN LOMBOK TIMUR

Vina Yada Ditya[1)], Surya Hadi[2], Murniati[2]
[1)] Mahasiswa Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram
[2)] Staf Pengajar Program Studi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram
Jalan Majapahit No. 62, Mataram, 83125, Indonesia
*Email: vina.yadaditya24@gmail.com

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang uji aktivitas antibakteri dan analisis kimia daun tumbuhan kumbi (*Voacanga foetida (BI.) Rolfe*) dari Desa Tete Batu Kabupaten Lombok Timur. Penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri pada setiap ekstrak daun kumbi (ekstrak kental metanol, fraksi asam dan fraksi basa), serta menganalisis senyawa dengan menggunakan metode GC-MS. Penelitian ini terdiri dari beberapa tahapan meliputi, persiapan sampel, ektraksi sampel dengan maserasi dan ekstraksi asam basa, uji fitokimia, uji aktivitas bakteri, serta analisis senyawa menggunakan metode GC-MS. Uji aktivitas antibakteri untuk setiap fraksi daun kumbi dengan konsentrasi (1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm) menunjukkan adanya zona hambatan, karena mampu menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif, dimana semakin tinggi variasi konsentrasi pada setiap jenis fraksi menyebabkan zona hambatan yang semakin tinggi. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak daun tumbuhan kumbi positif mengandung senyawa golongan alkaloid, tetapi berbeda dengan hasil analisis GC-MS setiap fraksi daun kumbi yaitu fraksi basa dengan variasi program suhu yaitu pada suhu (40^0C–260^0C, 150^0C-270^0C, 100^0C-280^0C, dan 100^0C-290^0C) tidak teridentifikasi senyawa alkaloid, tetapi senyawa golongan asam lemak dan alkohol, pada fraksi asam juga teridentifikasi senyawa golongan asam lemak dan alkohol, sedangkan pada fraksi ekstrak kental metanol senyawa yang teridentifikasi yaitu senyawa golongan asam, senyawa mome inositol serta senyawa (-)-loliolida.

Kata Kunci : *Voacanga foetida* (B.I) Rolfe, *ekstraksi, aktivitas antibakteri,* GC-MS

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara yang sangat kaya akan keanekaragaman tumbuhan dan hewan di berbagai daerah. Keanekaragaman jenis tumbuhan memiliki banyak fungsi dan manfaat bagi masyarakat. Salah satu jenis tumbuhan yang sering dimanfaatkan secara tradisional oleh masyarakat adalah tumbuhan kumbi. Tumbuhan kumbi (Apocynaceae) adalah tumbuhan khas pulau Lombok yang tersebar hampir di semua wilayah di pulau ini. Secara etnobotani, tumbuhan kumbi dimanfaatkan sebagai tumbuhan obat oleh masyarakat pulau Lombok. Masyarakat menggunakan kumbi untuk pengobatan luka dan banyak penyakit kulit lainnya (Hadi, 2010). Obat tradisional merupakan warisan turun-temurun dari nenek moyang kita, oleh karena itu baik dalam ramuan maupun penggunaannya sebagai obat tradisional, masih berdasarkan pengalaman dari generasi ke generasi. Pengetahuan tradisional tersebut jika tidak di tulis, lama kelamaan akan menghilang, oleh sebab itu tumbuhan obat

tidak dimanfaatkan dengan baik (Riswan, 2008).

Hasil penelitian tumbuhan kumbi yang telah dilakukan sebelumnya oleh (Hadi, 2002), mengenai uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak kasar kulit batang dan daun kumbi dari Kabupaten Lombok Barat, memiliki potensi untuk menghambat bakteri Gram positif (*S.aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E.coli*) dengan konsentrasi 5 mg/mL. Senyawa yang teridentifikasi menghambat aktivitas bakteri pada daun kumbi, yaitu kelompok senyawa indol alkaloid jenis voakangin dan voakristin, terdeteksi pada program suhu injeksi kolom GC-MS pada umumnya yaitu 40^oC-260^oC.

Berdasarkan hasil penelitian sebelumnya, pengambilan sampel hanya terbatas di kabupaten Lombok Barat yaitu desa Kekait dan desa Suranadi, sementara tumbuhan kumbi tersebar luas di pulau Lombok (Hadi, 2002), dimana pulau Lombok memiliki populasi tumbuhan kumbi tertinggi. Pada penelitian ini akan dilakukan kajian fitokimia pada tumbuhan kumbi dari daerah yang berbeda yaitu desa Tete Batu. Menurut teori modern, suatu organisme dapat menghasilkan kelompok metabolit yang sama sekali berbeda tergantung pada kondisi lingkungan, durasi serta intensitas stres, komposisi, dan plastisitas genetik tanaman (Zhao, 2005). Selain itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji aktivitas antibakteri dengan berbagai jenis bakteri uji yang berbeda dengan penelitian sebelumnya (*E.coli, S aureus, S.dysentriae, S.epidermidis,* dan *S.mutans).*

Oleh karena itu, penelitian ini bertujuan untuk menguji aktivitas antibakteri pada setiap fraksi daun tumbuhan kumbi yaitu fraksi ekstrak metanol, fraksi asam dan fraksi basa dengan jenis bakteri Gram positif (*S aureus, S.epidermidis,* dan *S.mutans)* dan Gram negatif (*E.coli* dan *S.dysentriae).* Tujuannya untuk mengetahui daun kumbi berpotensi dan efektif untuk menghambat berbagai bakteri uji baik Gram positif dan Gram negatif. Konsentrasi yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri (1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm) lebih kecil dari penelitian sebelumnya. Selanjutnya, untuk menganalisis lebih lanjut kandungan senyawa alkaloid yang terkandung pada daun kumbi dari desa Tete Batu, menggunakan metode GC-MS dengan variasi program suhu yaitu (40^0C-260^0C, 150^0C-270^0C, 100^0C-280^0C dan 100^0C-290^0C). Berdasarkan alasan diatas, maka pada penelitian ini akan dilakukan juga variasi program suhu GC-MS, untuk mengetahui jenis senyawa alkaloid yang teridentifikasi pada suhu yang berbeda.

METODE PENELITIAN

Jenis Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian yang bersifat eksploratif dan eksperimental yang dilakukan di Laboratorium.

Waktu dan Tempat Penelitian

Januari 2018 sampai Juni di Laboratorium Kimia Dasar, Laboratorium Kimia Analitik dan Laboratorium Biologi Dasar Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Mataram.

Alat dan Bahan Penelitian

Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan antara lain: Alat-alat gelas, botol vial, corong kaca, oven, blender, neraca analitik, rotary evaporator, instrumen GC-MS QP 2010 ULTRA SHIMADZU, lamina air flow, *autoclave*, inkubator, pisau steril, pinset, mikropipet, seker, ose dan gunting.

Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang antara lain: daun kumbi, aquades, metanol teknis, DCM (p.a merk), asam asetat (CH_3COOH) (p.a merk), sodium karbonat (Na_2CO_3) (p.a merk), pereaksi meyer, wagner, spritus, media NA, NB, MHA, bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans, Staphylococcus epidermidis*), gram negatif *(Escherichia coli, Shigella dysenteriae*) dan *cyprofloaxin*.

Pelaksanaan Penelitian

Persiapan Sampel

Sampel daun tumbuhan kumbi yang digunakan dalam penelitian diambil dari Desa Tete Batu, Kabupaten Lombok Timur. Sampel daun kumbi terlebih dahulu dibersihkan lalu dikeringkan anginkan selama ± 5 hari. Sampel yang sudah kering kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender hingga terbentuk serbuk halus.

Ekstraksi Sampel

Maserasi

Masing-masing simplisia daun tumbuhan kumbi yang telah halus ditimbang sebanyak 100 gr dan dimaserasi dengan 250 mL metanol selama 3 hari sambil sesekali diaduk. Ekstraksi dilakukan dengan pengulangan sebanyak 3 kali terhadap sampel dengan penambahan metanol baru dalam setiap ekstraksinya. Filtrat yang didapatkan kemudian dievaporasi dengan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40^{o}C, kecepatan 60 rpm dan tekanan 290 mbar.

.

Ekstraksi Asam Basa

Untuk memisahkan senyawa alkaloid pada ekstrak kental sampel dilakukan ekstraksi asam basa. Masing-masing ekstrak kental yang diperoleh diasamkan dengan menggunakan Asam Asetat (CH_3COOH) 5% hingga pH larutan menjadi 3. Kemudian diekstraksi dengan menggunakan DCM hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan asam dipisahkan dengan lapisan DCM, kemudian ditambahkan Sodium Karbonat (Na_2CO_3) 10% hingga pH larutan mencapai 10 kemudian diekstraksi kembali menggunakan DCM hingga membentuk 2 lapisan kembali. Lapisan DCM dipisahkan dari lapisan basa dan dipekatkan kembali menggunakan *rotary evaporator*.

Uji Fitokimia Senyawa Alkaloid

Uji fitokimia yang dilakukan pada penelitian ini dikhususkan pada uji alkaloid yaitu sampel sebanyak 3 mL diletakkan dalam cawan porselin kemudian ditambahkan 5 mL HCl 2 M, diaduk dan kemudian didinginkan pada temperatur ruangan. Setelah sampel dingin, ditambahkan 0,5 g NaCl lalu diaduk dan disaring. Filtrat yang diperoleh ditambahkan HCl 2 M sebanyak 3 tetes, kemudian dipisahkan menjadi 3 bagian A, B, C. Filtrat A sebagai blangko, filtrat B ditambah pereaksi Mayer, dan filtrat C ditambah pereaksi Wagner. Apabila terbentuk endapan putih pada penambahan pereaksi Mayer dan dan terbentuk endapan coklat pada pereaksi Wagner maka identifikasi menunjukkan ekstrak positif alkaloid.

Uji aktivitas antibakteri

a. Pembuatan media *Nutrient Agar* (NA)

Media bubuk NA dan media bubuk agar granul ditimbang sebanyak 10 gr. Selanjutnya, dimasukkan ke dalam Erlenmeyer dan ditambahkan aquades sampai volume mencapai 500 mL. Erlenmeyer kemudian digojok sampai media larut. Magnetik kemudian dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Selanjutnya, dipanaskan dengan menggunakan hot plate dengan suhu dan kecepatan magnet tertentu. Erlenmeyer kemudian diturunkan dari hot plate dan didinginkan sampai suhu 30^{o}C. Bahan yang telah dibuat kemudian disterilkan dengan menggunakan *autoclave* selama 180 menit dan setelah dingin disimpan dalam lemari es.

b. Pembuatan media *Nutrient Broth (*NB)

NB ditimbang sebanyak 2 gr, selanjutnya dimasukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan aquades. Media kemudian disterilkan dengan cara dimasukkan ke dalam *autoclave*.

c. Pembuatan media Muller Hinton Agar (MHA)

MHA ditimbang, selanjutnya ditambahkan aquades dan kemudian dimasukkan ke dalam *autoclave* untuk disterilkan.

d. Pemurnian bakteri

Media yang telah dibuat dan disterilkan dikeluarkan. Media selanjutnya dicairkan dengan dipanaskan pada hot plate. Kemudian, didinginkan sampai mencapai suhu 45 ^{o}C.

Media padat NA dituang pada cawan petri yang telah disterilkan sebelumnya. Media tersebut kemudian dibiarkan sampai memadat dan selanjutnya diambil 1 ose bakteri stok strik ke dalam media yang baru. Cawan selanjutnya direkatkan dengan plastik wrap untuk mengurangi kontaminan. Hasil strik kemudian diinkubasi dengan suhu 37^{o} C selama 1x24 jam.

e. Pembiakkan bakteri pada media *Nutrient Broth* (NB)

Bakteri yang telah dibiakkan pada media padat NA dikeluarkan dari lemari es. Diambil 1 ose bakteri, dibiakkan pada media padat. Kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi yang telah berisi NB yang telah disterilkan sebanyak 9 ml. Tutup rapat dan diinkubasi dengan suhu 37 ^{o}C selama 1x24 jam.

f. Uji ektrak terhadap bakteri secara in vitro

Media MHA dikeluarkan dari lemari es. Selanjutnya media dicairkan dengan cara dipanaskan di atas hot plate. Media MHA dituangkan pada cawan petri yang telah disterilkan, diberi pembatas pada cawan petri dengan spidol. Masing-masing bagian diberi label sesuai jenis variabel atau perlakuan. Selanjutnya diambil 1 buah sweb kapas, dicelupkan ke dalam bakteri yang dibiakkan pada media cair dan digoreskan pada media MHA pada cawan petri yang telah dilabel. Kemudian dibuat sumuran seluas 6 cm pada media. Masing-masing ekstrak dimasukkan sesuai formula ke dalam lubang sumur yang dibuat. Setiap perlakuan dilakukan pengulangan tiga kali. Cawan petri direkatkan dengan plastik wrap dan inkubasi dengan suhu 37 ^{o}C selama 24 jam.

Analisis Ekstrak Daun Kumbi

●Analisis dengan GC-MS

Masing-masing ekstrak yang dihasilkan yaitu (ekstrak kental metanol fraksi netral, ekstrak fraksi asam dan ekstrak fraksi basa kemudian diinjeksikan ke dalam alat GC-MS. Dengan spesifikasi alat yang digunakan yaitu GC-MS QP2010 ULTRA SHIMADZU, dengan kolom semi polar dengan bahan pengisi 5% dipenill 95% dimetill polisiloxan. Pengkondisian alat yang digunakan yaitu suhu detektor 280^{o}C, suhu injektor 250^{o}C, gas pembawa He (1 mL/min), rasio pemisahan 1/20, volume injeksi 0,2 µL, kisaran massa (*mass range*) (*m/z*) 20-440, temperatur oven GC dipertahankan pada 120^{o}C untuk 2 menit dan diprogram menjadi 300^{o}C dengan kecepatan 6^{o}C/menit dan dibiarkan konstan pada 300^{o}C selama 10 menit. Selain itu dilakukan variasi suhu injek kolom dengan suhu injek berbeda-beda yaitu (40-260^{o}C, 150-270^{o}C, 100-280^{o}C, 100-290^{o}C).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Beberapa tahapan dalam penelitian ini yaitu tahap persiapan sampel, tahap ekstraksi (maserasi dan ekstraksi asam-basa), uji aktivitas antibakteri dan tahap analisis senyawa alkaloid (uji fitokimia dan analisis GC-MS).

Persiapan Sampel

Daun kumbi segar sebanyak 1 kg diambil dari desa Tete Batu, Kabupaten Lombok Timur dan di kering anginkan selama 5 hari. Pengeringan ini bertujuan untuk mengurangi kadar air yang terkandung di dalam sampel. Daun kumbi yang sudah kering selanjutnya dihaluskan dengan mesin penggiling. Penghalusan ini bertujuan untuk memperkecil ukuran sampel dan memperbesar luas permukaannya, sehingga peluang untuk terambilnya senyawa aktif oleh pelarut yang digunakan semakin besar. Warna simplisia yang dihasilkan berwarna serbuk kehijauan.

Ekstraksi Sampel

Maserasi

Simplisia kumbi sebanyak 350 gr di maserasi menggunakan pelarut metanol. Penggunaan metanol ini bertujuan untuk menarik semua senyawa organik yang bersifat polar hingga non polar. Selanjutnya, dilakukan pemisahan ekstrak metanol dan residunya dengan proses penyaringan. Proses ini dilakukan hingga 3 kali penggulangan dengan pergantian pelarut baru. Ekstrak metanol yang

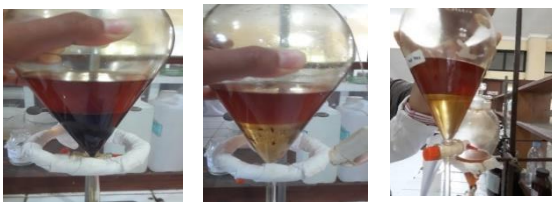
didapatkan dari simplisia kumbi berwarna coklat kehijauan, disebabkan karena adanya kandungan klorofil yang keluar dari serat daun akibat dari proses maserasi. Kemudian ekstrak metanol yang diperoleh dipekatkan menggunakan penguat putar vakum (rotary evaporator), sehingga diperoleh ekstrak kental metano1 yang berwarna hitam kehijauan. Berdasarkan hasil pengamatan, didapatkan berat ekstrak kental sebesar 132,69 gr dari 300 gram sampel yang digunakan, hal ini menunjukkan hasil rendemen (%) dari maserasi yaitu 44,23%.

Ekstraksi Asam-Basa

Sebanyak 132,69 gram ekstrak kental metanol yang dihasilkan dari maserasi, selanjutnya di ekstraksi asam-basa untuk mendapatkan fraksi asam dan fraksi basa alkaloid. Ekstraksi asam basa terhadap daun kumbi dilakukan dalam beberapa tahapan yaitu, ekstrak kental metanol ditambahkan dengan asam asetat (CH_3COOH 5%) hingga mencapai pH 2-3, sehingga alkaloidnya membentuk garam alkaloid yang terlarut dalam fase air. Tujuan penggunaan asam lemah (CH_3COOH 5%) agar zat aktif yang terdapat dalam ekstrak tidak terdekomposisi atau mengalami kerusakan.

Pemisahan filtrat asam dilakukan dengan menambahkan DCM. Pelarut ini merupakan pelarut organik yang bersifat semi polar sehingga dapat melarutkan senyawa organik semi polar yang ada didalam sampel. Selain itu juga DCM tidak larut sempurna dengan air, tapi dapat larut dengan pelarut organik lainnya sehingga baik digunakan untuk proses ekstraksi.

Pada saat pemisahan menggunakan pelarut DCM terdapat dua lapisan yaitu fasa air dan fasa organik dimana fasa organik berada di bagian bawah. Hal ini disebabkan oleh berat jenis air lebih rendah dari berat jenis DCM yaitu sebesar 1,34 g/cm^3. Hasil pemisahan fasa organik dan fasa air dapat dilihat pada gambar berikut ini:



Gambar 1. Hasil ekstraksi sampel daun kumbi

Berdasarkan hasil pengamatan gambar diatas menunjukkan proses ekstraksi dari sampel daun kumbi. Proses ekstraksi ini diulang 3 kali pada sampel dengan mengambil fase organik untuk disimpan sebagai fraksi asam dan dilakukan analisis GC-MS dan uji aktivitas antibakteri, Sedangkan, untuk fasa air yang bersifat garam (netral) ditambahkan basa Na_2CO_3 10% hingga pH larutan mencapai 10 (bersifat basa). Tujuan penambahan larutan Na_2CO_3 10% adalah untuk membebaskan garam alkaloid yang terlarut dalam fasa air. Selanjutnya, setelah mencapai pH 10 proses ekstraksi dilanjutkan dengan penambahan larutan DCM. Ekstraksi ini dilakukan untuk mendapatkan ekstrak alkaloid yang nantinya akan membentuk 2 fasa yaitu fasa organik yang merupakan ekstrak alkaloidnya (basa alkaloid) dan fase air (netral). Gambar hasil ekstraksi fraksi basa daun kumbi sebagai berikut:

Gambar 2. Proses ekstraksi fraksi basa daun kumbi

Hasil ekstraksi dan perhitungan persentase rendeman dari fraksi asam dan basa daun kumbi dapat dilihat pada tabel 1 berikut ini :

Tabel 1. Hasil ekstraksi daun fraksi asam dan basa

No	Sampel fraksi	Warna fasa organik	Warna fasa air	% Rendemen
1.	Fraksi asam	Kuning bening	Cokelat kehijauan	44,63 %

2.	Fraksi basa	coklat bening	Merah kecoklatan, terdapat padatan gel	34,17 %

Berdasarkan tabel diatas, diperoleh persentase rendemen dari fraksi asam dan fraksi basa daun kumbi yaitu sebesar 44,63% dan 34,17%.

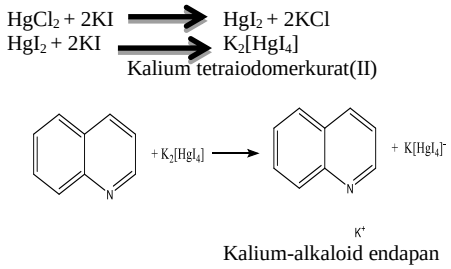
Uji Fitokimia Ekstrak Metanol, Fraksi Asam dan Fraksi Basa Daun Kumbi

Uji fitokimia ini diutamakan pada jenis senyawa yang umumnya terdapat dalam senyawa bahan alam yang berpotensi sebagai tanaman obat yaitu salah satunya senyawa alkaloid. Berdasarkan hasil uji fitokimia ekstrak metanol, fraksi asam dan fraksi basa dapat dilihat pada tabel berikut:

Tabel 2. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol, fraksi Asam dan fraksi basa kulit batang kumbi

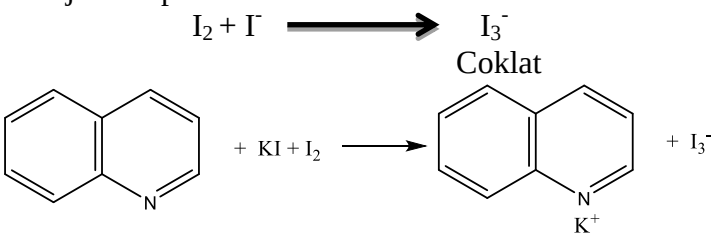
No	Ekstrak	Hasil Uji	Keterangan
1.	Ekstrak metanol	+	Terbentuk endapan putih ketika esktrak ditambahkan pereaksi mayer dan endapan coklat ketika ekstrak ditambahkan pereaksi wagner
2.	Ekstrak fraksi asam	+	Terbentuk endapan putih ketika esktrak ditambahkan pereaksi mayer dan endapan coklat ketika ekstrak ditambahkan pereaksi wagner
3.	Ekstrak fraksi basa	+	Terbentuk endapan putih ketika esktrak ditambahkan pereaksi mayer dan endapan coklat ketika ekstrak ditambahkan pereaksi wagner

Uji alkaloid dilakukan dengan menggunakan uji Mayer dan Wagner yang menunjukkan hasil positif, ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada ekstrak. Diperkirakan endapan tersebut adalah kompleks kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi Mayer, larutan merkurium (II) klorida ditambah kalium iodida akan bereaksi membentuk endapan merah merkurium(II)iodida. Jika kalium iodida yang ditambahkan berlebih maka akan terbentuk kalium tetraiodomerkurat(II) (Svehla, 1985). Alkaloid mengandung atom nitrogen yang mempunyai pasangan elektron bebas sehingga dapat digunakan untuk membentuk ikatan kovalen koordinat dengan ion logam. Diperkirakan nitrogen pada alkaloid akan bereaksi dengan ion logam K^+ dari tetraiodomerkurat(II) membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Mayer ditunjukkan sebagai berikut (Mariana, 2010).



Gambar 3. Reaksi pada uji Mayer

Hasil positif alkaloid pada uji wagner ditandai dengan terbentuknya endapan coklat muda sampai kuning. Diperkirakan endapan tersebut adalah kalium-alkaloid. Pada pembuatan pereaksi wagner, iodin bereaksi dengan ion I^- dari kalium iodide menghasilkan ion I_3^- yang berwarna coklat. Pada uji wagner, ion logam K^+ akan membentuk ikatan kovalen koordinat dengan nitrogen pada alkaloid membentuk kompleks kalium-alkaloid yang mengendap. Reaksi yang terjadi pada uji Wagner ditunjukkan pada Gambar 4 :



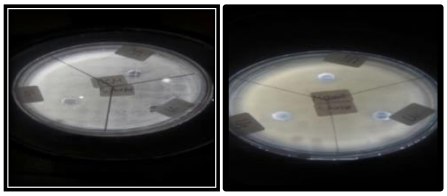
Gambar 4 Reaksi pada uji wagner

Uji Aktivitas Antibakteri

Uji daya antibakteri ekstrak metanol (sampel 1), fraksi basa (sampel 2) dan fraksi asam (sampel 3) dalam penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode difusi secara sumuran (*whell defuse agar*) dengan 3 konsentrasi larutan ekstrak yaitu dengan konsentrasi (1000 ppm, 100 ppm dan 10 ppm). Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus, Streptococcus mutans, Staphylococcus epidermidis* dan bakteri Gram negatif *Escherichia coli, Shigella dysenteriae.* Sebagai pembanding adalah kontrol (+) ciprofloksasin sedangkan kontrol (-) yaitu Metanol dan DCM.

Hasil uji aktivitas menunjukkan bahwa semua fraksi yang di uji (ekstrak metanol, fraksi asam dan fraksi basa) tersebut terdapat senyawa yang diindikasi dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Zona hambatan diukur setelah bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37^{o}C, suhu ini merupakan suhu optimum bakteri untuk dapat bertahan hidup dan berkembang.

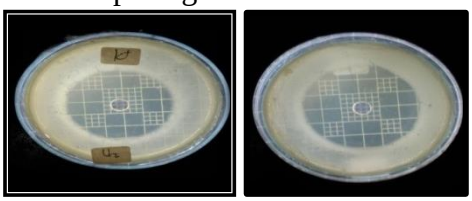
Hasil pengamatan zona hambat aktivitas antibakteri pada kontrol negatif (DCM dan metanol) dapat dilihat pada gambar dibawah ini



Gambar 5 Pengamatan Zona hambatan kontrol negatif (Pelarut DCM dan Metanol)

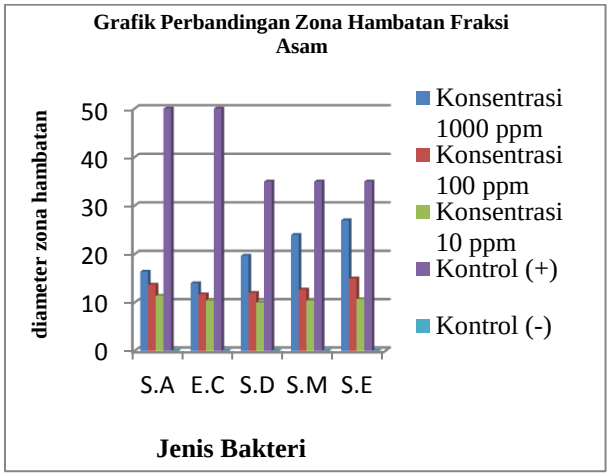
Zona bening tidak terbentuk pada kontrol negatif yang menggunakan pelarut DCM dan Metanol, hal ini menunjukkan bahwa aktivitas antibakteri tidak dipengaruhi oleh faktor pelarut. Pemilihan DCM dan Metanol didasarkan pada sifatnya yang tidak mempengaruhi aktivitas tumbuh bakteri uji. Sedangkan kontrol positif yang digunakan dalam penelitian ini dalah ciprofloksasin. Menurut Jawetz dkk. (2007) ciprofloksasin memiliki efek antibakteri yang besar (sektrum luas).

Hasil pengamatan zona hambat aktivitas bakteri dari kontrol positif *Cyprofloxacin* dapat dilihat pada gambar berikut ini :



Gambar 6 Pengamatan Zona Hambatan *Cyprofloxacin* (Kontrol Positif)

Pada grafik dibawah ini diperlihatkan perbedaan kemampuan hambatan dari sampel fraksi asam pada berbagai jenis bakteri yang diujikan.



*****Sa= *Staphylococcus aureus* : Ec= *Escherichia coli* : Sd= *Shigella dysenteriae*: Sm= *Streptococcus mutans*: Se= *Staphylococcus epidermidis*

Gambar 7 Perbandingan zona hambatan sampel fraksi asam terhadap berbagai bakteri uji

Berdasarkan grafik diatas pada ketiga ekstrak, fraksi asam merupakan fraksi yang paling baik menghambat kelima bakteri dibandingkan fraksi basa dan ekstrak kental metanol. Semua jenis bakteri mampu dihambat aktivitasnya dengan ketiga konsentrasi yang berbeda dibandingkan dengan fraksi basa dan fraksi ekstrak kental metanol. Semua jenis bakteri yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri ini merupakan bakteri penyebab penyakit dalam kehidupan

manusia. Untuk membandingkan hasil uji aktivitas antibakteri tersebut, maka kita ambil dua contoh bakteri dari dua jenis bakteri yang berbeda yaitu bakteri dari jenis Gram positif yaitu *S. mutans* dan bakteri dari jenis Gram negatif yaitu *E.coli.*

Berdasarkan grafik perbandingan zona hambat ekstrak, ekstrak uji bekerja lebih baik pada bakteri *S. mutans* dari jenis bakteri Gram positif dibandingkan dengan bakteri *E.coli* dari jenis bakteri Gram negatif. Hal ini sesuai dengan sifat dinding sel yang dimiliki bakteri tersebut. Menurut (Pelczar,1986 dalam Lestari, 2016) struktur dinding sel bakteri Gram negatif lebih kompleks dibandingkan struktur dinding sel bakteri Gram positif. Bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang terdiri dari 3 lapisan yaitu, lapisan luar, lapisan tengah dan lapisan dalam. Sedangkan, bakteri Gram positif hanya mempunyai lapisan tunggal pada dinding selnya. (Siswandono, 2000) menambahkan struktur dinding sel bakteri Gram negatif yang relatif kompleks akan menyebabkan senyawa antibakteri lebih sukar masuk ke dalam sel dan menemukan sasaran untuk bekerja.

Umumnya aktivitas antibakteri disebabkan karena adanya kandungan senyawa seperti alkaloid, terpenoid, steroid dan flavonoid. Hal ini berdasarkan penelitian sebelumnya oleh (Hadi, 2002), yang menunjukkan bahwa senyawa golongan alkaloid yang mampu menghambat aktivitas antibakteri pada daun kumbi. Alkaloid dapat mengganggu terbentuknya komponen penyusun peptidoglikan pada bakteri sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian bakteri (Poeloengan dan Praptiwi, 2010).

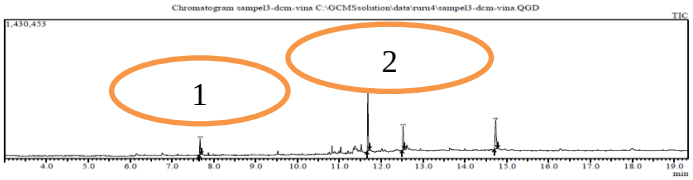
Berdasarkan hasil uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri oleh 3 fraksi (ekstrak kental metanol, fraksi asam dan basa) menunjukkan hasil yang positif yaitu terdapat zona hambat disekitaran sumuran yang dapat dikatakan semua fraksi dapat menghambat pertumbuhan bakteri, namun belum dapat dipastikan senyawa aktif mana yang terlibat dalam penghambatan tersebut. Hal ini disebabkan oleh fraksi-fraksi yang digunakan bukan merupakan senyawa tunggal melainkan campuran senyawa dari hasil ekstraksi asam basa yang telah dilakukan.

Analisis GC-MS

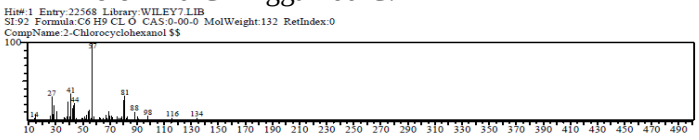
Analisis GC-MS Fraksi Basa Daun Kumbi

Hasil kromatogram analisis GC-MS fraksi basa daun tumbuhan kumbi dengan program suhu yang berbeda-beda untuk mengetahui senyawa alkaloid teridentifikasi atau tidak pada suhu tinggi yaitu (40^{o}C-260^{o}C, 150^{o}C-270^{o}C, 100^{o}C-280^{o}C dan 100^{o}C-290^{o}C). Berikut ini adalah kromtogram GC pada suhu injeksi kolom 40^{o}C hingga 260^{o}C, suhu awal yang biasa digunakan untuk analisis GC-MS senyawa yang akan di uji:

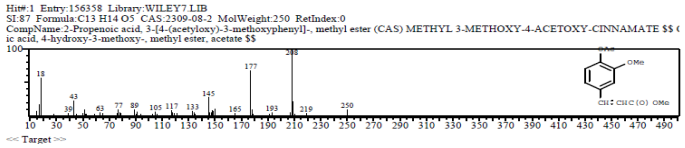
Hasil kromatogram GC suhu injeksi pada kolom 40^{o}C hingga 260^{o}C



Gambar 8 Kromatografi GC fraksi basa daun kumbi pada suhu injeksi kolom 40^{o}C hingga 260^{o}C.



Gambar 9 Peak senyawa 2-klorosikloheksanol



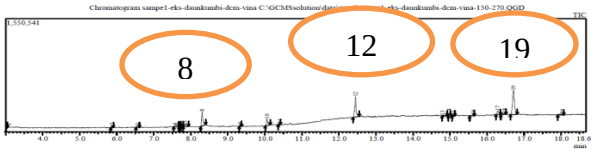
Gambar 10 Peak senyawa 3-metoksi-4-asetoksi-sinamat

Hasil analisis GC-MS yang didapatkan pada parameter ini yaitu waktu retensi selama 19 menit didapatkan 4 puncak senyawa. Dari 4 puncak (senyawa) yang muncul ada 2 puncak yang teridentifikasi, dimana 2 puncak (senyawa) yang teridentifikasi tidak ada satupun yang merupakan senyawa alkaloid pada suhu injeksi tersebut. Hal ini tidak sesuai dengan hasil uji alkaloid, menggunakan pereaksi mayer dan wagner yang

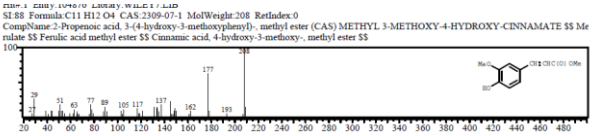
menunjukkan hasil positif pada fraksi basa daun kumbi. Tidak teridentifikasinya senyawa alkaloid pada fraksi basa ini di duga karena senyawa alkaloid tersebut memiliki persentasi area yang sangat kecil dimana senyawa yang teridentifikasi tersebut merupakan pecahan dari suatu senyawa yang berbeda, tidak murni indol tetapi dari indol suatu senyawa yang berbeda. Sehingga senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa-senyawa yang dominan pada fraksi basa yaitu 2-klorosikloheksanol (10,35%) seperti yang terlihat pada gambar dan metil 3-metoksi-4-asetoksi-sinamat dengan persentase area (42,05). Kedua senyawa ini merupakan senyawa golongan alkohol (2-klorosikloheksanol) dan senyawa golongan asam lemak (asam sinamat).

Untuk suhu injeksi pada kolom 150^{o}C-270^{o}C

Berikut ini adalah kromatogram GC untuk fraksi basa daun kumbi pada program suhu injeksi kolom 150^{o}C hingga 270^{o}C :



Gambar 11 Kromatogram GC fraksi basa daun tumbuhan kumbi pada suhu injeksi kolom 150^{o}C-270^{o}C

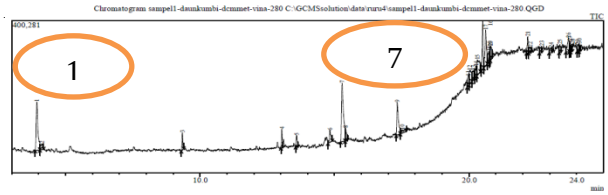


Gambar 12 Peak senyawa 3-metoksi-4-hidroksi-sinamat

Hasil analisis GC-MS yang didapatkan pada parameter ini yaitu waktu retensi selama 18 menit didapatkan 20 puncak senyawa. Dari 20 puncak (senyawa) yang muncul ada 4 puncak yang teridentifikasi, dimana 4 puncak yang teridentifikasi tidak ada satupun yang merupakan senyawa alkaloid pada suhu injeksi tersebut. Senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa-senyawa yang dominan pada fraksi basa yaitu, terdapat 3 senyawa mayor tetapi dari ketiga senyawa tersebut hanya satu yang teridentifikasi yaitu dengan persentase area sebesar (12,96%) pada senyawa metil 3-metoksi-4-hidroksi-sinamat seperti pada gambar 4.12. Asam palmitat pada peak 8 merupakan golongan asam lemak, dengan puncak utama 208. Waktu retensi yang didapatkan pada peak 8 adalah 8,304 dan *m/z* dari asam palmitat pada analisis GC-MS yaitu 208.

Untuk suhu injeksi pada kolom 100^{o}C-280^{o}C

Berikut ini adalah kromatogram GC untuk fraksi basa daun kumbi pada program suhu injeksi

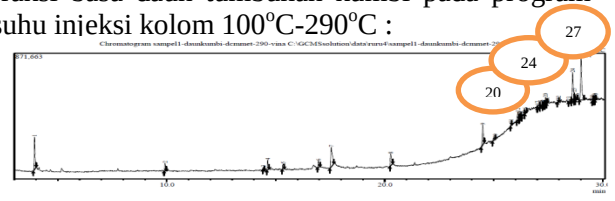


Gambar 13 Kromatogram GC fraksi basa batang kumbi pada suhu injeksi kolom 100^{o}C hingga 280^{o}C

Hasil analisis GC-MS yang didapatkan pada parameter ini yaitu waktu retensi selama 24 menit didapatkan 30 puncak yang merupakan campuran senyawa, dari 30 puncak (senyawa) yang muncul ada 4 puncak yang teridentifikasi, dimana 4 puncak (senyawa) yang teridentifikasi tidak ada satupun yang merupakan senyawa alkaloid pada suhu injeksi tersebut. Senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa-senyawa yang dominan pada fraksi basa yaitu tidak jauh berbeda dengan hasil pada program suhu sebelumnya yaitu 2-klorosikloheksanol pada peak 1 dan metil 3-metoksi-4-hidroksi-sinamat pada peak 7. Senyawa pada peak 1 merupakan golongan alkohol, memiliki persentase area sebesar 11,81% dengan puncak utama (base peak) 57,05 dan m/z dari 2-klorosikloheksanol adalah 132. 2-klorosikloheksanol pada fraksi basa program suhu 280 ^{o}C muncul pada waktu retensi 3,932 menit. Sedangkan, untuk peak 7 termasuk golongan asam lemak, memiliki persentase area sebesar 15,54% dengan puncak utama 208,05 dan m/z dari asam sinamat adalah 208, muncul pada waktu retensi 15,284 menit.

Untuk suhu injek pada kolom 100^{o}C-290^{o}C

Berikut ini adalah kromatogram GC untuk fraksi basa daun tumbuhan kumbi pada program suhu injeksi kolom 100^{o}C-290^{o}C :



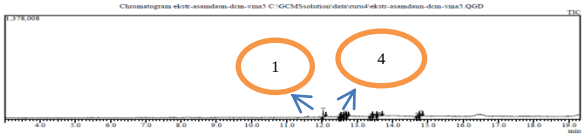
Gambar 14 Kromatogram GC fraksi basa batang kumbi pada suhu injeksi kolom 100^{o}C-290^{o}C

Hasil analisis GC-MS yang didapatkan pada parameter ini yaitu waktu retensi selama 30 menit didapatkan 30 puncak senyawa, dari 30 puncak (senyawa) yang muncul ada 4 puncak yang teridentifikasi, dimana 4 puncak (senyawa) yang teridentifikasi tidak ada satupun yang merupakan senyawa alkaloid pada suhu injeksi tersebut. Senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa-senyawa yang dominan pada fraksi basa, dengan adanya 4 senyawa mayor tetapi hanya 2 yang teridentifikasi oleh database GC-MS yang digunakan yaitu senyawa 2-klorosikloheksanol pada peak 1 dan metil 3-metoksi-4-hidroksi-sinamat pada peak-7.

Berdasarkan hasil yang didapatkan pada analisis GC-MS program suhu 290^{o}C, didapatkan senyawa 2-klorosikloheksanol dengan persentase area sebesar 10,87% dengan puncak utama (base peak) 57,00 dan *m/z* dari senyawa yang merupakan golongan alkohol ini adalah 132, pada waktu retensi 3,930 menit. Untuk peak 7 senyawa yang didapatkan merupakan golongan asam lemak, sama seperti hasil yang didapatkan pada program suhu 208^{o}C karena fraksi yang dianalisis sama, tetapi persentase area yang dihasilkan berbeda yaitu sebesar 12,23% pada waktu retensi 17,549 menit.

Analisis GC-MS Fraksi Asam Daun Tumbuhan Kumbi

Berikut ini adalah hasil kromatogram GC-MS fraksi asam daun kumbi dengan program suhu injeksi kolom 40^{o}C-260^{o}C :



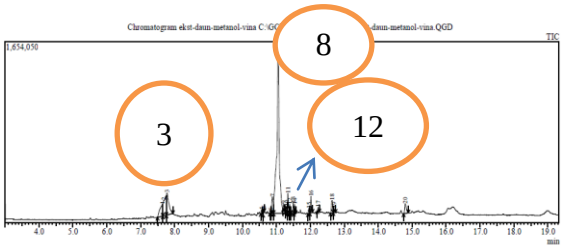
Gambar 15 Kromatografi GC fraksi asam daun tumbuhan kumbi pada suhu injeksi kolom 40^{o}C-260^{o}C.

Hasil analisis GC-MS yang didapatkan pada parameter ini yaitu waktu retensi selama 19 menit didapatkan 10 puncak senyawa, dari 10 puncak (senyawa) yang muncul ada 6 puncak yang teridentifikasi, dimana 6 puncak (senyawa) yang teridentifikasi tidak ada satupun yang merupakan senyawa alkaloid pada suhu injeksi tersebut. Hal ini tidak sesuai dengan hasil uji alkaloid menggunakan pereaksi mayer dan wagner yang menunjukkan hasil positif pada fraksi asam daun kumbi.

Senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa-senyawa yang dominan pada fraksi asam yaitu terdapat 4 senyawa mayor tetapi hanya 2 yang teridentiikasi database GC-MS yang digunakan yaitu asam palmitat dengan persentase area (19,12%) pada peak ke-1 dan 9,12,15-oktadekatrien-1-ol (19,89%) pada peak ke-4. Asam palmitat merupakan senyawa golongan asam lemak muncul pada waktu retensi 12,031 dengan puncak utama (base peak) 43,05, dan *m/z* dari asam palmitate adalah 256. Senyawa 9,12,15-oktadekatrien-1-ol merupakan senyawa golongan alkohol yang muncul pada waktu retensi 12,661 dengan puncak utama (base peak) 79,05, dan *m/z* dari senyawa ini adalah 264.

Analisis GC-MS Senyawa Pada Ekstrak Kental Metanol Daun Kumbi

Hasil kromatogram GC-MS ekstrak kental metanol daun kumbi dengan program suhu injeksi kolom 40^{o}C-260^{o}C :



Gambar 16 Kromatografi GC fraksi ekstrak kental metanol daun kumbi pada suhu injeksi kolom 40^{o}C-260^{o}C.

Hasil analisis GC-MS yang didapatkan pada parameter ini yaitu waktu retensi selama 19 menit didapatkan 20 puncak senyawa, dari 20 puncak (senyawa) yang muncul ada 12 puncak yang teridentifikasi, dimana 12 puncak (senyawa) yang teridentifikasi tidak ada satupun yang merupakan senyawa alkaloid pada suhu injeksi tersebut. Hal ini tidak sesuai dengan hasil uji alkaloid menggunakan pereaksi mayer dan wagner yang menunjukkan hasil positif pada ekstrak kental metanol daun kumbi. Senyawa yang teridentifikasi adalah senyawa-senyawa yang dominan pada ekstrak kental metanol yaitu, beberapa senyawa mayor yang teridentifikasi yaitu 1,2,3-propanetriol (CAS) gliserol pada peak 3 dengan persentase area sebesar (7,65%), asam kuinat (3,31%) pada peak 8, mome inositol (62,13%), dan terdapat senyawa (-)-loliolida

meskipun dengan persentase area yang kecil (1,33%) pada peak 12.

Senyawa yang teridentifikasi merupakan senyawa golongan asam lemak yaitu gliserol, yang muncul pada peak 3 dengan waktu retensi 7,771. Pada gliserol didapatkan puncak utama (base peak) 61,05 dan memiliki *m/z* 92. Senyawa yang dihasillkan dominan dengan persentase area sebesar 62,13% yaitu mome inositol, menurut (Solomon, 2012) senyawa ini merupakan senyawa kimia dengan rumus $C_7H_{14}O_6$ yang termasuk dalam senyawa alam yaitu inositol. Inositol memiliki fungsi atau aktivitas biologis sebagai antineuropati, kolesterolitik, lipotropik, dan pemanis. Senyawa ini memiliki m/z yaitu 194 muncul pada waktu retensi 11,049 menit. Senyawa berikutnya yang dihasilkan adalah (-)-loliolida yang merupakan senyawa lakton monoterpene. Senyawa (-)-loliolida muncul pada waktu retensi 11,390 menit dengan m/z yaitu 196. Senyawa ini memiliki aktivitas sebagai antioksidan. Yang et al. (2011) berhasil mengisolasi senyawa (-)-loliolida dari rumput laut cokelat. Hasil penelitian tersebut memperlihatkan bahwa senyawa (-)-loliolida mampu mengurangi kerusakan sel yang disebabkan oleh radikal H_2O_2.

Hasil yang didapatkan pada analisis GC-MS yaitu baik pada program suhu 40^{o}C-260^{o}C, 150^{o}C-270^{o}C, 100^{o}C-280^{o}C dan 100^{o}C-290^{o}C terdapat beberapa puncak atau peak yang menunjukkan bahwa terdapat senyawa pada sampel tetapi tidak ada yang teridentifikasi sebagai golongan senyawa alkaloid pada setaip variasi program suhu baik pada ekstrak kental metanol, fraksi asam, dan fraksi basa. Senyawa yang teridentifikasi pada seluruh program suhu yaitu senyawa golongan asam lemak (asam palmitat, asam sinamat dan gliserol) dan senyawa golongan alkohol (2-klorosikloheksanol), serta senyawa monoterpene.

Senyawa alkaloid tidak teridentifikasi pada fraksi ekstrak kental metanol, fraksi asam, dan fraksi basa ini dapat disebabkan karena senyawa alkaloid tersebut memiliki persentasi area yang sangat kecil sehingga senyawa yang muncul pada hasil GC-MS adalah senyawa-senyawa yang dominan pada ekstrak tersebut. Dapat pula disebabkan karena suhu injeksi kolom pada GC-MS terlalu tinggi mengakibatkan senyawa terdekomposisi atau rusak, serta dapat disebabkan karena pelarut yang digunakan tidak melarutkan ekstrak dengan baik yang berbeda kepolaran.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh dapat disimpulkan bahwa :

1. Uji aktivitas antibakteri untuk setiap fraksi ekstrak kental metanol, fraksi asam, dan fraksi basa daun tumbuhan kumbi menunjukkan bahwa terlihat adanya zona hambatan karena mampu menghambat bakteri Gram positif dan Gram negatif, dimana semakin tinggi variasi konsentrasi pada setiap jenis fraksi menyebabkan zona hambatan yang semakin tinggi.
2. Berdasarkan hasil penapisan fitokimia daun tumbuhan kumbi *(Voacanga foetida* (B.I) Rolfe*)* positif mengandung senyawa golongan alkaloid, tetapi berdasarkan analisis GC-MS tidak teridentifikasi jenis senyawa golongan alkaloid.
3. Hasil analisis menggunakan GC-MS pada daun kumbi menunjukkan bahwa pada fraksi basa dengan variasi program suhu yang berbeda (40^{o}C-260^{o}C, 150^{o}C-270^{o}C, 100^{o}C-280^{o}C dan 100^{o}C-290^{o}C) senyawa yang teridentifikasi yaitu senyawa golongan asam lemak (asam palmitat, asam sinamat dan gliserol) dan golongan alkohol (2-klorosikloheksanol), sedangkan untuk fraksi asam juga teridentifikasi senyawa golongan asam (asam palmitat) dan juga golongan alkohol (2-klorosikloheksanol) serta untuk fraksi ekstrak kental metanol senyawa yang teridentifikasi yaitu senyawa golongan asam, senyawa mome inositol serta senyawa (-)-loliolida.

SARAN

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk isolasi senyawa metabolit sekunder daun tumbuhan kumbi (*(Voacanga foetida* (B.I) Rolfe*)* yang diperkirakan mempunyai aktivitas antibakteri.
2. Perlu dilakukan isolasi dan pemurnian yang dilanjutkan dengan karakterisasi untuk mengetahui jenis senyawa golongan alkaloid yang terdapat pada daun tumbuhan kumbi (*(Voacanga foetida* (B.I) Rolfe*).*

DAFTAR PUSTAKA

Agoes, G., 2007, *Teknologi Bahan Alam*, ITB Press, Bandung, p 27-32.

Corwin, E.J., 2008. *Buku Saku Patofisiologi Corwin*, Edisi ke 3, EGC, Jakarta, p76-89.

Cowan, 1999, *Plant Product As Antimicrobial Agents, Clinical Microbiology Reviews*, Vol. 12, No. 4, Hal 564-582.

Elsani, L. Syamsul, H., 2010. *Penapisan Senyawa Metabolit Sekunder pada Ekstrak Metanol Buah Kumbi (Voacanga foetida (BI.) Rolfe) yang berpotensi Sebagai Agen Antibakteri*, Skripsi Kimia-FMIPA, Universitas Mataram.

Fowlis, Ian A.,1998, *Gas Chromatography Analytical Chemistry by Open Learning*, John Wiley & Sons Ltd: Chichester.

Gibson, J.M, 1996, *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*, Jakarta, EGC, Hal 22 – 23

Hadi, S,. dan Bremner, J. B., 2001, *Initial Studies On Alkaloids From Molekules* [online Computer File] 6.117-129.

Hadi, Surya. 2002, *Bioactive Alkaloid From Medicinal Plants Of Lombok*, Australia: The University Of Wollongong (Thesis).

Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimiaedisi II*, ITB Press, Bandung.

Hugo W., & Russell A. 1983. *Pharmaceutical Microbiology. Hugo WB, Russell A.D (eds) 3rd edition Blackwell, Scientific Publications*, 33-35, 51.

Jawetz, E., Melnick, J. dan Adelberg, E.A., 2005, *Mikrobiologi Kedokteran, diterjemahkan oleh Mudihardi. E., Kuntaman, Wasito, E.B., Mertaniasih, N.M., Harsono, S., Alimsardjono, L. Edisi XXII*, Jakarta, Penerbit Salemba Medika, hal 327-335.

Jawetz., et al., 2007, *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick, & Adelberg, Ed.23, Translation of jawetz, Melnick, and Adelberg's Medical Microbiology, 23thEd*, Alih bahasa oleh Hartanto, H., et al, EGC, Jakarta.

Jawetz, E., 1996, *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan, edisi 16, 303-306*, EGC, Jakarta.

Jones, W.P., Kinghorn, A.D., 2006, *Extraction Of Plant Secondary Metabolites. In:Sharker, S.D. Latif Z., Gray A.L, Eds, Natural Product Isolation, 2nd Edition*, New Jersey, Humana Press.

Khuluq, Khusnul, 2010, *Isolasi Senyawa Alkaloid Fraksi Basa Dari Daun Tumbuhan Kumbi (Voacanga Foetida (Bl.) rolfe) Phenotipe Pulau Lombok yang Berpotensi Sebagai Antibakteri*, Skripsi Kimia-Fmipa, Universitas Mataram.

Mariana, Baiq, 2010, *Isolasi Metabolit Sekunder Dari Fraksi Asam Dan Netral Daun Tumbuhan Kumbi (Voacanga Foetida (Bi) Rolfe) dan Potensinya Sebagai Antibakteri*, Skripsi Kimia-Fmipa, Universitas Mataram.

Pelczar, M.J. dan Chan, E.C.S., 1988, *Dasar – Dasar Mikrobiologi*, Jakarta, Universitas Indonesia.

Poeloengan, M., Dan Praptiwi, 2010, *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Manggis (Garcinia Mangostana Linn)*, Media Penelitian Kesehatan, Vol. 20, No. 2, Hal 54-61

Radji, M., 2011, *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*, 107, 118, 201-207, 295, Buku Kedokteran EGC, Jakarta.

Riswan, Soedarsono, dan Andayananingsih, D., 2008, *Keanekaragaman tumbuhan obat yang Digunakan Dalam Pengobatan Tradisional Masyarakat Sasak Lombok Barat*, Fakultas Biologi, Universitas Nasional.

Ryan, K.J., J.J. Champoux, S. Falkow, J.J. Plonde, W.L. Drew, F.C. Neidhardt, and C.G. Roy. 1994. *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases.* 3rd ed, Connecticut, Appleton&Lange. p.254.

Sastrohamidjojo, H.,1991, *Kromatografi*, 16-18, 32, Liberty Press, Yogyakarta.

Solomon, K.Anand., et al., 2012, *Penentuan GC-MS Konstituen Bioaktif Dari Cycas beddomeicones*, International Journal of Pharma and Bio Sciences, India.

Sudarma, I. M., 2010, *Uji Fitokimia, Ekstraksi, Isolasi Dan Tranformasi Senyawa Bahan Alam*, Penerbit Media Pustaka, Universitas Mataram, Mataram.

Sudarma, I.M., 2014, *Kimia Bahan Alam*, Universitas Mataram, Mataram.

Svehla, G., 1985, *Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro*, PT. Kalman Media Pustaka, Jakarta.

Volk dan Wheeler., 1990, *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid Dua*, Erlangga, Jakarta.

Yang X, Kang MC, Lee KW, Kang SM, Lee WW, Jeon YJ. 2011. *Antioxidant activity and cell protective effect of loliolide isolated from Sargassum ringgoldianum subsp. Coreanum, Algae*.doi: 10.4490/algae.2011.26.2.201.