

POTENSI FRAKSI ETIL ASETAT KULIT BATANG KESAMBI SEBAGAI BAHAN ENKAPSULASI

THE POTENTIAL OF ETHYL ACETATE FRACTION OF KESAMBI STEM AS ENCAPSULATING MATERIAL

Afif Hidayatul Mustafid^{1,2}, Yeyen Maryani^{1*}, Sri Agustina^{1,3}, Boima Situmeang²

¹ Magister Teknik Kimia, Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Jl. Jendral Sudirman km 03 Cilegon, 42435, Banten

² Department of Chemistry, Sekolah Tinggi Analis Kimia Cilegon, 42161, Indonesia

³ Laboratorium Biomaterial Terapan dan Rekayasa Produk, Fakultas Teknik Universitas Sultan Ageng Tirtayasa, Jl. Jendral Sudirman km 03 Cilegon, 42435, Banten

*Corresponding author: yeyen.maryani@untirta.ac.id

ARTICLE INFO

Article history:

Received xx xx xxxx

Accepted xx xx xxxx

Available online

xx xx xxxx

Keywords:

kesambi, *Schleichera oleosa*, antibacterial, *E. coli*

ABSTRACT (TNR11, single space) in English

In our previous research, ethyl acetate extract of kesambi stem bark have the highest antibacterial activity against *Escherichia coli* compared with *n*-hexane and methanol extract. In our present study we report antibacterial activity of fraction from ethyl acetate extract against *Escherichia coli*. The method of fractionation was used column and thin layer chromatography. Antibacterial activity use Kirby Bauer methods. The characterization of active fractions used spectrometer infrared. The result showed fractions 6 and 7 have the highest antibacterial activity with inhibition zone 11.65 and 7.1 mm. The characterization of fractions 6 and 7 showed functional group C=O, O-H, and C=C. The ethyl acetate fraction has potential as antibacterial encapsulation materials.

1. Pendahuluan

Tumbuhan kesambi (*schleichera oleosa*) merupakan tumbuhan yang banyak tersebar di Asia seperti India, Nepal, Malaysia dan Indonesia. Di Indonesia tumbuhan ini banyak terdapat di pulau Jawa tepatnya daerah Cilegon, Jember dan Bali. Tumbuhan Kesambi merupakan tumbuhan yang dikenal kaya akan manfaat. Di Indonesia, khususnya daerah Cilegon Banten tumbuhan kesambi dimanfaatkan sebagai obat penyakit kulit dengan cara merendam bagian kulit yang sakit dengan air rebusan kulit batang kesambi. Selain itu air rebusan kulit batang kesambi juga telah dimanfaatkan sebagai obat penyakit diare dengan cara meminum air rebusan kulit batang kesambi^[1].

Metabolit sekunder adalah senyawa hasil biogenesis dari metabolit primer yang terdapat dalam bagian-bagian tumbuhan^[2]. Senyawa metabolit sekunder pada tumbuhan misalkan flavonoid, terpenoid, tanin, dan saponin berdasarkan beberapa hasil penelitian diduga mempunyai kemampuan untuk menghambat pertumbuhan bakteri^[3]. Berdasarkan penelusuran pustaka, sampai saat ini belum ada penelitian yang melaporkan struktur senyawa metabolit sekunder yang berhasil diisolasi dari kulit batang tumbuhan kesambi berasal dari Indonesia sehingga penelitian tentang eksplorasi senyawa kimia

yang terkandung pada kulit batang tumbuhan kesambi masih perlu dilakukan di Indonesia.

Penyakit diare merupakan salah satu penyakit infeksi yang disebabkan bakteri *Escherichia coli*. Di Indonesia prevalensi kematian akibat penyakit diare masih tergolong tinggi sehingga perlu dilakukan pencarian obat baru dari bahan alam yang lebih aman dari obat sintetik yang memiliki beberapa efek samping^[1]. Mengingat potensi dari tumbuhan kesambi yang sangat besar sebagai antibakteri, maka dalam penelitian ini dilakukan karakterisasi fraksi aktif antibakteri dari ekstrak kulit batang kesambi dan berpotensi sebagai bahan enkapsulasi cangkang kapsul antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

2. Metodologi

2.1. Bahan dan alat

Bahan yang digunakan yaitu kulit batang kesambi, etil asetat, aquades, silika Gel G60, plat KLT G254, H₂SO₄ pekat, HCl pekat, NaOH 10%, etanol 70%, dragendroff, kloroform, strain bakteri *escherichia coli*, *nutrient broth*, dan *nutrient* agar.

Alat yang digunakan yaitu alat gelas beaker, gelas ukur, *magnetic stirrer*, pipet ukur, FTIR, plat KLT, kromatografi kolom, lampu UV, neraca analitik, evaporator, incubator memmert dan laminar *air flow*.

2.2. Prosedur Kerja

Preparasi Sampel

Sampel yang digunakan yaitu kulit batang kesambi (*schleichera oleosa*), yang didapat dari Jombang, Cilegon-Banten. Sampel dikeringkan pada suhu ruang 19-30°C selama 7 hari. Kemudian sampel kulit batang kesambi ditumbuk sampai didapat serbuk halus kulit batang kesambi (*schleichera oleosa*).

Ekstraksi

Serbuk halus kulit batang kesambi yang telah kering didapatkan sebanyak 1800 g diekstraksi dengan cara maserasi menggunakan 4 L etil asetat selama 3 x 48 jam dengan dilakukan pengadukan, lalu disaring dengan kertas saring^[4]. Filtrat yang dihasilkan sebanyak ± 2,5 L dievaporasi pada suhu 40°C sampai diperoleh ekstrak kering etil asetat kulit batang kesambi^[5].

Skrining Fitokimia Senyawa Metabolit Sekunder

Uji fitokimia senyawa metabolit sekunder dilakukan pada ekstrak etil asetat kulit batang kesambi.

Alkaloid

Sampel sebanyak ± 2 mL dipipet dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sampel ditambahkan 5 mL kloroform dan amoniak, kemudian dipisahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan pereaksi Dragendorff. Endapan kemerahan yang terbentuk menunjukkan positif mengandung alkaloid^[6].

Flavanoid

Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi, lalu ditambahkan dengan H₂SO₄ 2N beberapa tetes, kemudian kocok kuat. Warna mencolok yang terbentuk seperti merah, kuning, atau coklat menunjukkan adanya flavonoid^[12].

Fenolik

Sampel sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 2–3 tetes. Senyawa fenol ditunjukkan jika terjadi perubahan warna biru kehitaman.

Saponin

Sampel sebanyak ± 2 mL dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan diekstraksi dengan air panas, dikocok kuat, kemudian ditambahkan HCl 2 N dan dikocok kuat kembali. Saponin ditunjukkan jika terbentuk buih yang tidak hilang setelah didiamkan dalam waktu 10 menit^[1].

Triterpenoid

Sampel sebanyak 2 mL ditambahkan 5 mL larutan kloroform: air (1:1) dan dikocok kuat. Hasil ekstrak kloroform dipisahkan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan 10 tetes asam asetat anhidrat dan 3 tetes asam sulfat pekat. Jika mengalami perubahan warna merah atau coklat menunjukkan adanya triterpenoid^[11].

Isolasi dan Karakterisasi

Isolasi dan pemurnian dilakukan dengan teknik kromatografi. Untuk mengetahui eluen yang cocok untuk tahap pemisahan dengan kromatografi maka dilakukan dahulu pencarian eluen yang cocok. Eluen yang di gunakan adalah heksan 100:0 etil asetat sampai heksan 0 : 100 etil asetat dengan tingkat gradien 10%. Selanjutnya dilakukan pemisahan dengan kromatografi kolom grafitasi dengan fasa diam silika gel 60 (70-230 mesh) sampai diperoleh fraksi yang aktif. Selanjutnya dilakukan Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Langkah awal untuk pemisahan secara KLT adalah potong plat berukuran panjang 6 cm lebar 1,2 cm kemudian garis 0,5 cm bagian lebar atas dan bawah. Mengambil sedikit ekstrak kemudian dilarutkan dengan metanol. Eluen yang akan digunakan adalah fasa gerak yang akan memisahkan sampel dengan baik, kemudian ditotolkan pada plat KLT yang sudah di siapkan menggunakan pipa kapiler. Setelah kering dimasukkan dalam chamber. Bila fase gerak telah mencapai batas yang telah ditentukan, plat diangkat dan dikeringkan di udara terbuka. Selanjutnya noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV 254 dan 366 nm kemudian dihitung nilai Rf-nya. Selanjutnya terhadap fraksi aktif dilakukan karakterisasi dengan infra merah (IR).

Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Kirby Bauer

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode *Kirby Bauer* dilakukan dua tahapan, tahapan pertama yaitu peremajaan bakteri. Pada tahapan peremajaan bakteri masing-masing sejumlah satu ose bakteri (*E. coli*) dari stock diinokulasikan ke dalam tabung reaksi steril yang berisi suspensi NaCl fisiologis sebanyak 5 mL hingga mencapai tingkat kekeruhan 1/2 Mac Farland. Pencapaian kekeruhan dilakukan dengan cara membandingkan dengan standar kemudian diinkubasi selama 16-18 jam pada 37°C didalam incubator . Tahapan kedua yaitu pengujian sampel. Pada tahapan pengujian sampel, kapas lidi dicelupkan dalam metanol bakteri kemudian dioleskan pada permukaan media padat hingga merata, selanjutnya sebanyak 15 μ L sampel, kontrol positif, kontrol negatif ditetaskan pada kertas samir (*paper disk*) kemudian diletakkan diatas media padat, diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam didalam inkubator.. Setelah 24 jam, diameter zona bening disekitar disk diamati dan diukur menggunakan jangka sorong.

3. Hasil dan pembahasan

3.1. Ekstraksi

Sampel kulit batang kesambi dipotong berdiameter ± 1 cm dan dikeringkan pada suhu ruang. Setelah kering dihaluskan menggunakan lumpang. Tujuan dari penghalusan adalah untuk memperluas permukaan sehingga memudahkan proses ekstraksi senyawa-senyawa kimia yang berada dalam kulit batang kesambi dengan baik. Kemudian setelah kulit batang kesambi halus dimaserasi menggunakan etil asetat sebanyak 4 L selama 2×24 jam menghasilkan ekstrak sebanyak 2,5 L kemudian di evaporasi dengan suhu 50°C, hasil dari evaporasi ini menghasilkan ekstrak kering sebanyak 5,35 g.

3.2. Skrining Fitokimia

Ekstrak kering kulit batang kesambi diidentifikasi menggunakan pereaksi-pereaksi yang dapat menunjukkan adanya senyawa metabolit sekunder. Berikut hasil uji fitokimia senyawa metabolit

sekunder ekstrak etil asetat kulit batang kesambi (Tabel 1).

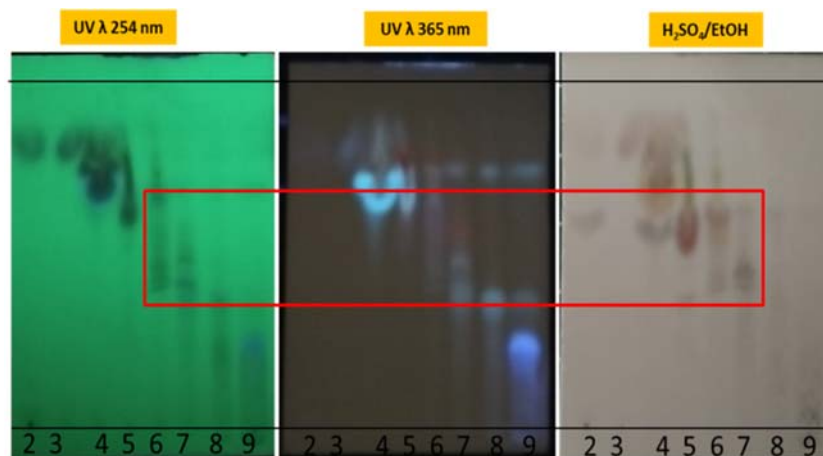
Tabel 1. Hasil uji fitokimia ekstrak etil asetat kulit batang kesambi

Jenis Uji	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Dragendorff	Positif
Flavanoid	H ₂ SO ₄	Positif
Fenolik	FeCl ₃	Positif
Saponin	HCl	Negatif
Triterpenoid	Lieberman Buchard	Positif

3.3. Isolasi dan Karakterisasi

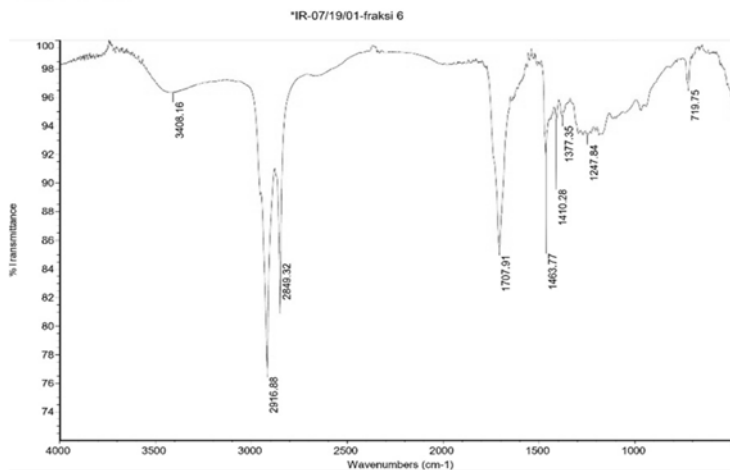
Ekstrak kental etil asetat 5 g dilakukan pemisahan dengan cara kromatografi kolom gravitasi secara bergradien. Fasa gerak yang digunakan pelarut *n*-heksan dimasukkan kedalam kolom dengan batas tertentu dan dialirkan kedinding kolom secara berlahan menggunakan pipet tetes dengan keadaan kran terbuka, Fasa diam (silika gel) dimasukkan kedalam kolom dengan panjang silika gel 30 cm., selanjutnya fasa gerak *n*-heksan dialirkan secara berlahan kedalam kolom sampai fasa diam (silika gel) padat selanjutnya sampel ekstrak kental etil asetat 5 g dimasukkan kedalam kolom, menggunakan pelarut (eluen) *n*-heksan : etil asetat secara bergradien mulai dari *n*-heksan 100% sampai etil asetat 100% (9:1), (8:2), (7:3), (6:4), (5:5), (4:6), (3:7), (2:8), (1:9) dengan kenaikan kepolaran pelarut sebesar 10%. Secara bergradien menghasilkan 9 fraksi. Pola pemisahan komponen-komponen fraksi hasil kromatografi kolom gravitasi fraksi campuran *n*-heksana : etil asetat dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan fasa gerak campuran *n*-heksana : etil asetat (7 : 3) dan campuran *n*-heksan : etil asetat (5 : 5), silica yang digunakan kromatografi kolom adalah silika gel 60 (70 – 230 mesh).

Langkah awal untuk pemisahan secara KLT adalah mengambil sedikit ekstrak kemudian dilarutkan dengan metanol. Eluen yang akan di gunakan adalah fasa gerak yang akan memisahkan sampel dengan baik, kemudian ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Setelah kering dimasukkan dalam chamber. Bila fase gerak telah mencapai batas yang telah ditentukan, plat diangkat dan dikeringkan di udara terbuka. Selanjutnya noda yang terbentuk diamati dengan lampu UV 254 nm dan 365 nm kemudian dihitung nilai Rf-nya, dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Hasil KLT Fraksi 2-9.

Dari hasil KLT fraksi 2-9 dapat dilihat bahwa fraksi 6 dan 7 memiliki aktivitas antibakteri yang paling tinggi sehingga dapat dilakukan pengukuran spektrum inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam fraksi 6 dan 7.

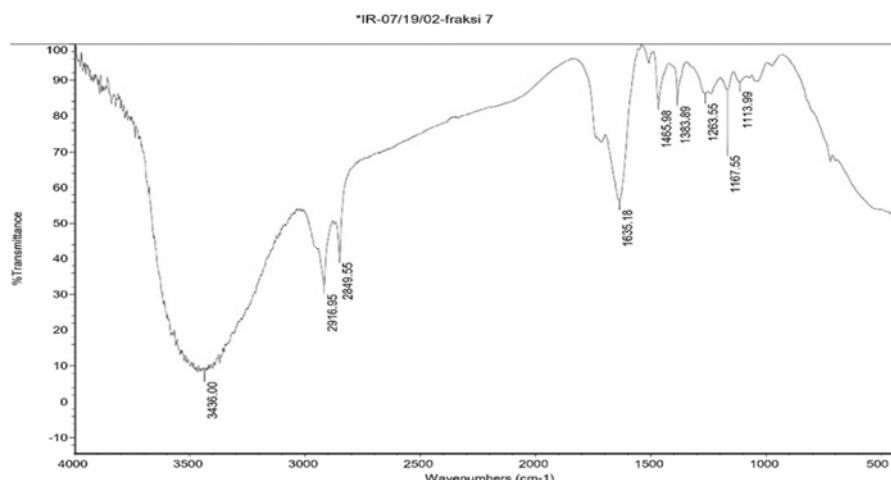


Gambar 2. Spektrum Inframerah (IR) Fraksi 6

Spektrum inframerah pada Gambar 2 menunjukkan bahwa fraksi 6 menunjukkan serapan pada daerah bilangan gelombang 3408.16 cm^{-1} yang diduga adalah serapan uluran O-H. Absorpsi OH terikat hidrogen terlihat pada daerah $3000-3750 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan sebagai pita yang lebar dan kuat^[5]. Adanya pita tajam dengan intensitas kuat pada bilangan $2916,88 \text{ cm}^{-1}$ dan $2849,32 \text{ cm}^{-1}$ diduga menunjukkan adanya gugus C-H alifatik, jika dibandingkan dengan literatur yang ada, maka serapan panjang gelombang tersebut tidak jauh beda^[8]. Pita serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1707,91 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=O keton. Selanjutnya pada daerah bilangan gelombang $1463,77 \text{ cm}^{-1}$, $1410,28 \text{ cm}^{-1}$, dan $1377,35 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H alifatik^[6]. Pita serapan pada gelombang $1247,84 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus C-O. Diduga kulit batang kesambi mengandung senyawa golongan terpenoid karena memiliki gugus samping OH pada saat uji fitokimia ekstrak kulit batang kesambi positif terpenoid karena terbentuknya perubahan warna menjadi merah kecoklatan serta tidak berpendar di bawah lampur UV 254 dan 365 nm ^[9,10].

Tabel 2. Bilangan Gelombang Fraksi 6 (cm^{-1})

No	Isolat	Pustaka ^[8]	Pustaka ^[10]	Bentuk Pita	Intensitas	Kemungkinan Gugus Fungsi
1	3408,16	3435-3000	3000-3750	Melebar	Kuat	Uluran O-H
2	2916,88	2850-2921	2700-3000	Tajam	Kuat	Uluran C-H alifatik
3	1707,91	1717-1654	1650-1900	Tajam	Kuat	Uluran C=O keton
4	1463,77	1495-1457	1300-1475	Tajam	Lemah	Uluran C=C aromatik
5	1377,35	-	1330-1420	Tajam	Lemah	Uluran C-H alifatik



Gambar 3. Spektrum Inframerah (IR) Fraksi 7

Spektrum inframerah pada Gambar 3 menunjukkan bahwa fraksi 7 menunjukkan serapan pada daerah bilangan gelombang 3436.00 cm^{-1} yang diduga adalah serapan uluran O-H. Absorpsi OH terikat hidrogen terlihat pada daerah $3000\text{-}3750\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan sebagai pita yang lebar dan kuat^[4]. Adanya pita tajam dengan intensitas kuat pada bilangan $2916,95\text{ cm}^{-1}$ dan $2849,55\text{ cm}^{-1}$ diduga menunjukkan adanya gugus C-H alifatik, jika dibandingkan dengan literatur yang ada, maka serapan panjang gelombang tersebut tidak jauh beda^[10]. Pita serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang $1635,18\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C=C aromatik. Selanjutnya pada daerah bilangan gelombang $1465,39\text{ cm}^{-1}$ dan $1383,89\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus C-H alifatik^[5]. Pita serapan pada gelombang $1113,99\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan gugus C-O. Diduga kulit batang kesambi mengandung senyawa golongan terpenoid karena memiliki gugus samping OH dan pada saat uji fitokimia ekstrak kulit batang kesambi positif terpenoid karena terbentuknya perubahan warna menjadi merah kecoklatan serta tidak berpendar di bawah lampu UV 254 dan 365 nm^[9,10].

Tabel 3. Bilangan Gelombang Fraksi 7 (cm^{-1})

No	Isolat	Pustaka ^[8]	Pustaka ^[10]	Bentuk Pita	Intensitas	Kemungkinan Gugus Fungsi
1	3436,00	3435-3000	3000-3750	Melebar	Kuat	Uluran O-H
2	2916,95	2850-2921	2700-3000	Tajam	Kuat	Uluran C-H alifatik
3	1707,91	1717-1654	1650-1900	Tajam	Kuat	Uluran C=O keton
4	1465,89	1495-1457	1300-1475	Tajam	Lemah	Uluran C=C aromatik
5	1113,99	-	1330-1420	Tajam	Lemah	Uluran C-H alifatik

Dari interpretasi data fraksi 6 dan fraksi 7 dapat disimpulkan bahwa fraksi 6 dan 7 mempunyai karakteristik gugus fungsi O-H, C-H, dan C=O.

3.4. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas anti bakteri Terhadap Bakteri *Escherichia coli* ini dilakukan dengan menggunakan metode Kirby-Baure. Tahap persiapan meliputi peremajaan bakteri, pembuatan suspensi bakteri, persiapan kontrol positif, persiapan kontrol negatif, dan pembuatan seri konsentrasi. Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat kesambi ditunjukkan pada Tabel 4 berikut.

Tabel 4. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etil Asetat Kesambi

Fraksi	Kontrol (+) 1.000 ppm	10.000 ppm	5.000 ppm	1.000 ppm	Kontrol (-)
Etil Asetat	20,3	16,5	13,9	13,7	0

Ekstrak aktif terdapat pada ekstrak etil asetat dengan hasil rata-rata uji antibakteri ekstrak etil asetat pada konsentrasi 1000; 5000; dan 10.000 ppm berturut-turut sebesar 13,7; 13,9; 16,5 mm. Kontrol positif menggunakan amoxicillin dengan konsentrasi 1000 ppm memiliki zona hambat sebesar 20,3 mm dan kontrol negatif menggunakan metanol 96 % dengan nilai zona hambat 0. Hasil uji aktivitas antibakteri fraksi hasil kolom ditunjukkan pada Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Sampel	Zona hambat pada konsentrasi 5000 ppm (mm)
Fraksi 2	0
Fraksi 3	0
Fraksi 4	0
Fraksi 5	0
Fraksi 6	11,65
Fraksi 7	7,1

Fraksi 8	0
Fraksi 9	0
Kontrol positif	6,9
Kontrol negative	0

Dari pengujian aktivitas antidiare yang telah dilakukan, fraksi 6 dan 7 (11,65 mm dan 7,1 mm) merupakan fraksi aktif yang dapat digunakan untuk menghambat aktivitas bakteri *E. coli*. Kontrol positif menggunakan amoxicilin dengan konsentrasi 1.000 ppm memiliki nilai zona hambat sebesar 6,9 mm dan kontrol negatif menggunakan metanol 96 % dengan nilai zona hambat 0. Dilihat dari hasil uji aktivitas antibakteri bahwa fraksi 6 dan 7 memiliki aktivitas zona hambat melebihi kontrol positif sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi 6 dan 7 memiliki aktivitas kuat.

Kesimpulan

Dari sampel kulit batang kesambi kering sebanyak 1,8 kg di dapat ekstrak etil asetat sebanyak 5,35 g. Berdasarkan hasil Spektrum Inframerah (IR) fraksi 6 dan 7 memiliki gugus fungsi O-H, C-H, dan C=O yang di duga memiliki senyawa terpenoid. Senyawa terpenoid memiliki aktivitas antibakteri dan didapatkan hasil pada uji aktivitas antibakteri bahwa fraksin 6 dan 7 yang memiliki zona hambat melampaui kontrol positif. Sehingga fraksi etil asetat kulit batang kesambi sangat berpotensi untuk bahan enkapsulasi cangkang kapsul antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

- [1] Situmeang, B., Ibrahim, A.M., Bialangi, N., Musa, W.J.A., Silaban, S. 2019. Antibacterial activity and phytochemical screening of Kesambi (*Sapindaceae*) against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *J. Pend. Kimia*. 11 (1): 14-17.
- [2] Mustaffa, F., Indurkar, J., Ismail, S., Shah, M., and Mansor, S. (2011). An Antimicrobial Compounds Isolated from *Cinnamoum iners* Leaves with Activity Agains Metichilin- Resistant *S. Aureus*. *Molecules*. 1420-3049.
- [3] Agustina, W.E.S., Retno, S.D.A., Ashadi, Mulyani, B., & Puti, C.R. (2014). Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (*Durio zlbethinus* Murr) Varietas Petruk. *Prosiding Seminar Nasional Kimia dan Pendidikan Kimia IV*, Surakarta, 2014:271-280.
- [4] Ajileye, O.O., Obuotor, E.M., Akinkunmi, E.O., & Aderogba, M.A. (2015). Isolation and characterization of antioxidant and antimicrobial compounds from *Anacardium occidentale* L. (*Anacardiaceae*) leaf extract. *King Saud University*, 27:244-252.
- [5] Trisharyanti, I., Melannisa, R., & Ratri, K. 2011. Korelasi Kandungan dan Aktivitas Antioksidan Daun Jambu Mete. *Biomedika*, 3(2):25-29.
- [6] Marlinda, M., Sangi, M.S., & Wuntu, A.D. (2012). Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Biji Buah Alpukat (*Persea americana* Mill.). *Jurnal Mipa Unsrat Online*, 1(1):24-28.
- [7] Sukadana, (2007). Isolasi dan identifikasi senyawa antimakan dari batang tumbuhan brotowali. *undergraduate research*. Universitas Udayana, Bukit Jimbaran.
- [8] Cahyadi. F. (2017). Isolasi dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder dari Kulit Batang Kesambi (*Schleichera oleosa*). *undergraduate research*. Cilegon: Sekolah tinggi Analis Kimia Cilegon.
- [9] Creswell, Runquist, Campbell. (2005). Analisis Spektrum Senyawa Organik. Bandung ITB.
- [10] Harborne, J. B, (1987). Metode Fitokimia Penentuan Cara Modern Menganalisis Tumbuhan, Edisi kedua: ITB Press, Bandung.

- [11] Endang, 2013. Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Kulit Buah Manggis (*Garcinia mangostana* L) Sebagai Antibakteri Terhadap *Acinetobacter baumannii* Secara *in Vitro*. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. Pp. 29(11):1_13. Fessenden and Fessenden. 1986. *Kimia Organik*. Edisi Ketiga, Jilid 1, Erlangga, Jakarta. Gilbert. 1989. *Cryptograms: Fern and Fern Allies*. Jakarta: Pustaka Utama.
- [12] Naim, R. 2005. *Senyawa Antimikroba dari Tanaman*. Bogor : IPB