

UJI DAYA HAMBAT EKSTRAK DAUN TUMBUHAN *Harrisonia perforata* (BLANCO) MERR. TERHADAP PERTUMBUHAN BAKTERI *Staphylococcus aureus*

Fitri Maija¹⁾, Orryani Lambui¹⁾, dan Ramadhanil Pitopang¹⁾

¹⁾Jurusan Biologi Fakultas MIPA, Universitas Tadulako Kampus Bumi Tadulako Tondo Palu, Sulawesi Tengah 94117
E-mail: Fitrimaija027@yahoo.com

ABSTRACT

Research of inhibition test from the leaves extract of *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. on the growth of *Staphylococcus aureus* was carried out in February and March 2015. This study was aimed to determine the effectiveness of the leaves extracts from *H. perforata* (Blanco) Merr. for inhibiting the bacterial growth. The extraction used maceration methods and the inhibition assay from the extracts for *S. aureus* used wells diffusion method. The treatment was arranged in Completely Randomized Design (CRD) with 6 treatments and 3 replications. Concentration for this treatment leaves extract were 10%, 25%, 40%, and 65%, amoxicillin 2% as a positive control and NA-CMC 1% as a negative control. The results showed that the concentration leaves extract of 65% formed the highest in inhibition zone, which was 19,3 mm. It means that the leaves extract of *H. perforata* (Blanco) Merr. was better to inhibit the bacterial growth.

Keywords : Leaves extract, *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr., *Staphylococcus aureus*.

PENDAHULUAN

Infeksi merupakan penyebab utama penyakit di dunia terutama di daerah tropis seperti Indonesia karena temperatur yang tropis, dan kelembaban tinggi sehingga mikroba dapat tumbuh subur (Davey, 2005). Infeksi dapat disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti virus, jamur, riketsia, protozoa, dan bakteri (Gibson, 1996).

Salah satu bakteri yang dapat menyebabkan penyakit infeksi pada hewan dan manusia adalah *Staphylococcus aureus*, bakteri ini dapat

menyebabkan infeksi *supuratif* pada hewan maupun manusia. Infeksi *S. aureus* pada manusia dapat ditularkan secara langsung melalui selaput mukosa yang bertemu dengan kulit. Bakteri ini dapat menyebabkan *endokarditis*, *osteomielitis* akut hematogen, *meningitis*, ataupun infeksi paru-paru (Gibson, 1996).

Pemberian antibakteri merupakan salah satu pilihan dalam menangani penyakit infeksi. Namun penggunaan antibakteri yang tidak terkontrol dapat mendorong terjadinya perkembangan resistensi terhadap antibakteri yang

diberikan (Wardani, 2008). Adanya resistensi ini dapat menimbulkan banyak masalah dalam pengobatan penyakit infeksi, sehingga diperlukan usaha untuk mengembangkan obat tradisional berbahan herbal yang dapat membunuh bakteri untuk menghindari terjadinya resistensi tersebut. Salah satu tumbuhan yang dimanfaatkan sebagai tanaman obat adalah tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. memiliki kemampuan sebagai tanaman obat, mulai dari daun, batang, kulit hingga akarnya dapat dipergunakan dalam aktifitas medis sebagai antimalaria (Bremner 1992). *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. merupakan salah satu jenis tumbuhan yang banyak hidup di daerah tropis seperti di Sulawesi Tengah yang dimanfaatkan sebagai antidiare oleh masyarakat lokal.

Manfaat daun *H. perforata* (Blanco) Merr. sebagai antibakteri pada infeksi kulit yang disebabkan oleh bakteri *S. aureus* belum diketahui jelas sehingga perlu dilakukan penelitian aktivitas daun *H. perforata* (Blanco) Merr. yang terkandung dalam tumbuhan tersebut untuk menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*.

Daun *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. ini masih kurang dimanfaatkan oleh masyarakat khususnya di Sulawesi Tengah. Hal ini mendorong perlu dilakukan penelitian uji daya hambat ekstrak daun tumbuhan *H. perforata* (Blanco) Merr. terhadap bakteri *S. aureus*.

BAHAN DAN METODE

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian adalah; autoklaf (Tony 5x-700), inkubator (Memer), Oven (Eyela), neraca analitik (Mettler Toledo), bunsen, water bath, hotplate (Stirring Hotplate), rotari evaporator (Eyela OSB-2100), cawan petri steril (Anumra), erlenmeyer 100 ml (Pyrex), gelas kimia 1000 ml, gelas ukur 500 ml (Pyrex), mess 40, jangka sorong, ose steril, corong, pipet mikron (Socorex), rak tabung, pinset, parang, pisau, tip pipetmikro, toples, mangkuk, loyang, spidol, bulpoint, mistar dan kamera.

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah; biakan bakteri *Staphylococcus aureus* diperoleh dari UPT Laboratorium Kesehatan Provinsi, medium *Brain Heart Infusion Broth* (BHIB) (Merck), medium *Nutrien Agar* (Merck), Na-CMC (*Natrium Carboxymethyl Cellulose*) 1%, *Amoxicillin* (Dankos Farma), aquades, NaCl fisiologis 0,9% (Merck), etanol 96 % (PA), daun *H. perforata* (Blanco) Merr., aluminium foil, kapas, kertas saring 1,2 μ m, dan sarung tangan.

Prosedur Kerja

a. Sterilisasi Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan sebelumnya dicuci terlebih dahulu, lalu dikeringkan. Mulut tabung reaksi dan erlenmeyer disumbat dengan kapas lalu dibungkus dengan aluminium foil, sedangkan untuk cawan petri dan tip pipetmikro dibungkus kertas, serta media *Nutrien Agar*, BHIB, NaCl fisiologis dan aquades dimasukkan dalam erlenmeyer dan disumbat dengan kapas serta ditutup dengan

aluminium foil. Semua bahan dan alat disterilkan dalam autoklaf dengan suhu 121°C pada tekanan 1 atm selama 15 – 30 menit.

b. Pengambilan sampel daun tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.

Pengambilan dan pengumpulan daun tumbuhan *H. perforata* (Blanco) Merr. diperoleh di Kelurahan Tondo, Palu (Sulawesi Tengah). Metode yang digunakan untuk penelitian ini yaitu maserasi, karena bahan yang memiliki struktur yang sesuai dengan prinsip dari maserasi.

c. Metode Ekstraksi sampel daun tumbuhan *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.

Daun muda dan daun tua *H. perforata* (Blanco) Merr. yang telah diambil mengacu dari cara kerja Aimang (2014), ditimbang sebanyak 3600 g, setelah itu dibersihkan terlebih dahulu (sortasi basah), kemudian dicuci pada air yang mengalir sampai bersih, selanjutnya daun tersebut kemudian dirajang sampai berukuran kecil dan didapatkan berat basah sebesar 3000 g, selanjutnya dikeringkan dengan menggunakan oven selama 8 jam. Menurut Katno dkk., (2008) pengeringan dilakukan selama 8 jam pada suhu 40°C dengan jumlah kadar air kurang lebih 5 %. Daun yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak menggunakan mesh 40 maka diperoleh bentuk struktur daun yang sangat halus, setelah dikeringkan simplisia ditimbang kembali sehingga berat

kering dari sampel daun (simplisia) tersebut yaitu 2700 g. Daun tersebut langsung di rendam dengan menggunakan pelarut etanol 96 %. Setelah itu hasil ekstraksi di saring dan langsung dipisahkan antara pelarut dengan ekstrak yang menggunakan alat rotari evaporator dan didapatkan ekstrak sebanyak 128 g. Untuk mengetahui kadar air dalam sampel maka digunakan rumus :

$$KA = \frac{BB - BK}{BB} \times 100\%$$

Keterangan

KA : Kadar air

BB : Berat basah

BK : Berat Kering

d. Pembuatan Suspensi Bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pada penelitian ini menggunakan biakan murni bakteri *S.aureus* yang diperoleh dari UPT Laboratorium Kesehatan Provinsi Sulawesi Tengah. Bakteri yang akan digunakan, dilakukan peremajaan kembali (subkultur) pada media *Nutrien Agar* diambil 1 ose kemudian disuspensikan kedalam media BHIB sebagai media penyubur dan pertumbuhan bakteri, lalu diinkubasikan selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah itu dilakukan pengenceran bertingkat dengan menggunakan larutan NaCl fisiologi 0,9% (Chasanah, 2011).

Sampel yang mengandung bakteri dimasukkan kedalam tabung pengenceran pertama (1/10 atau 10⁻¹) secara aseptis. Perbandingan sampel dengan volume tabung pertama adalah

1 : 9. Setelah sampel masuk lalu dihomogenkan. Pemindahan dilanjutkan hingga tabung pengenceran terakhir dengan cara yang sama (Radji dkk, 2010). Tujuan dari pengenceran bertingkat yaitu memperkecil atau mengurangi jumlah mikroba yang tersuspensi dalam cairan penentuan besarnya atau banyaknya tingkat pengenceran tergantung kepada perkiraan jumlah mikroba dalam sampel. Digunakan perbandingan 1 : 9 untuk sampel dan pengenceran pertama dan selanjutnya, sehingga pengenceran berikutnya mengandung 1/10 sel mikroorganisme dari pengenceran sebelumnya (Purwoko, 2009). Jumlah bakteri yang digunakan dalam perlakuan *S. aureus* 193×10^5 CFU/ml.

e. Pengenceran Ekstrak Daun *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr.

Pengenceran konsentrasi ekstrak daun *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. menggunakan pelarut Na-CMC 1% yang terdiri dari 4 konsentrasi yaitu 10%, 25%, 40%, dan 65%. Setiap seri konsentrasi dibuat dalam stok 10 ml dengan jumlah ekstrak secara berturut-turut sebesar 1 g, 2,5 g, 4 g, dan 6,5 g.

f. Uji Daya Hambat

Pada pengujian daya hambat, konsentrasi ekstrak daun yang dipakai dalam setiap perlakuan yaitu 10%, 25%, 40%, dan 65%. Dan setiap perlakuan baik pengujian ekstrak daun diulang sebanyak 3 kali. Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* pada larutan NaCl 0,9 % diambil sebanyak 1 ml dan dituangkan kedalam cawan petri

steril. Kemudian medium *Nutrien Agar* padat dicairkan dengan cara dipanaskan di atas hot plate. Setelah itu 20 ml medium dituangkan ke cawan petri yang telah terisi dengan suspensi bakteri *S. aureus* dan dihomogenkan kemudian dibiarkan hingga memadat. Setelah medium padat, pada medium yang telah bercampur dengan suspensi bakteri dibuat sumur dengan menggunakan pelubang steril dengan ukuran diameter 7 mm. Sumur tersebut diisi sebanyak 100 μ l ekstrak daun tumbuhan *H. perforata* (Blanco) Merr. dan *Amoxicillin* 2% sebagai kontrol positif serta 1 kontrol negatif menggunakan Na-CMC 1%. Selanjutnya cawan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

g. Pengamatan zona hambat

Pengamatan zona hambat dilakukan dengan cara mengukur diameter zona hambat dari masing-masing perlakuan dengan menggunakan jangka sorong. Pengukuran dilakukan pada tiap cawan yang masing-masing dari pengujian ekstrak daun terdapat 4 konsentrasi yaitu 10%, 25%, 40% dan 65% dengan tambahan kontrol positif.

h. Analisis Data

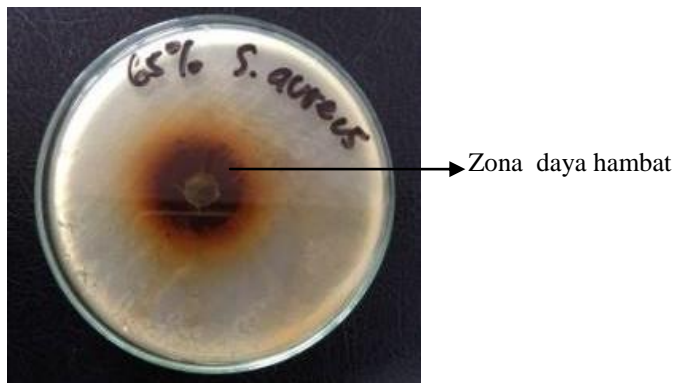
Hasil pengukuran dianalisis secara statistik menggunakan software SPSS versi 16 "One Way Anova".

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil

Uji daya hambat ekstrak daun *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. Terhadap pertumbuhan bakteri

Staphylococcus aureus dengan menggunakan metode sumur, yang ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar sumur. Gambar zona daya hambat dapat dilihat pada Gambar 1.



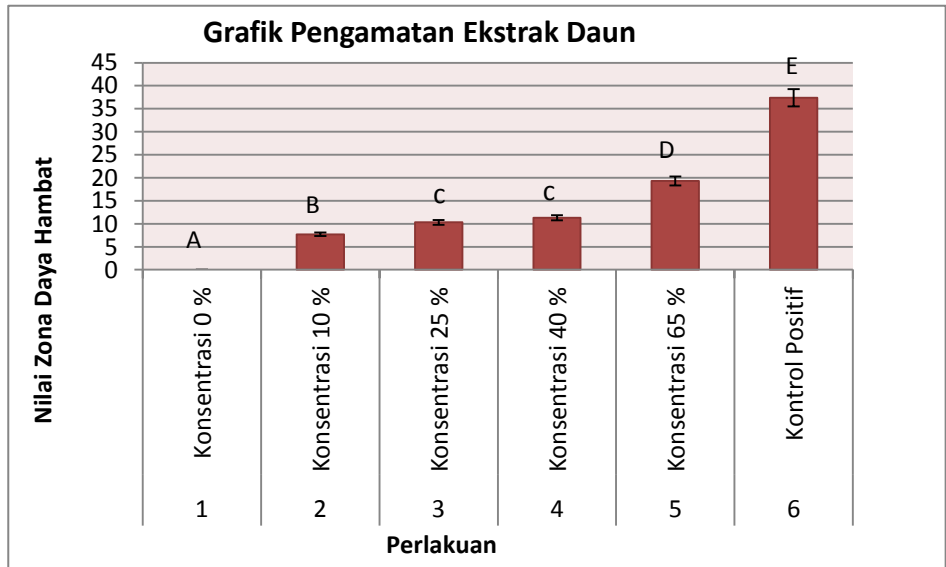
Gambar 1. Zona daya hambat yang terbentuk di sekeliling sumur.

Tabel 1 Diameter rata-rata zona daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Konsentrasi	Pengamatan Zona Hambat Tiap			Jumlah	Rata-rata
	Ulangan (mm)				
	U1	U2	U3		
10%	8	8	7	23	7,6
25%	11	10	10	31	10,3
40%	12	12	10	34	11,3
65%	18	21	19	58	19,3
Kontrol positif	36,7	38,5	36,9	112,1	37,36
Konsentrasi 0 %	0	0	0	0	0

Dari tabel diatas dapat dilihat bahwa peningkatan konsentrasi suatu ekstrak juga dapat menyebabkan bertambahnya

diameter zona daya hambat yang dihasilkan. Peningkatan zona daya hambat dapat dilihat pada gambar berikut:



Gambar 2. Grafik zona daya hambat ekstrak daun *H. perforata* (Blanco) Merr. terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*.

Pembahasan

Penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri patogen dapat disembuhkan oleh beberapa obat antibakteri. Namun dalam perkembangannya penanganan terhadap beberapa penyakit ini menemui kesulitan (Awoyinka *et al.*, 2007). Oleh karena itu penelitian mengenai analisis tanaman obat tradisional telah menjadi hal penting dalam sasaran pencarian obat baru atau tanaman obat alternatif. Kembali ditegaskan oleh Awoyinka *et al.*, (2007) perkembangan penggunaan obat tradisional khususnya dari tumbuh-tumbuhan dapat membantu meningkatkan derajat kesehatan masyarakat secara meluas. Selama ini penyakit infeksi diatasi dengan menggunakan antibiotika. Penggunaan antibiotika yang berlebihan bisa membuat mikroba patogen menjadi resisten (Refdanita dkk., 2004) dan munculnya mikroba resisten ini penyebab utama kegagalan pengobatan penyakit

infeksi (Ibrahim dkk., 2011). Oleh sebab itu, diperlukan alternatif dalam mengatasi masalah ini dengan memanfaatkan bahan-bahan aktif antimikroba dari tanaman obat.

Menurut Ushimaru *et al.*, (2007), pemanfaatan tumbuhan obat secara tradisional dapat berdasarkan verifikasi efek farmakologi dan anti infeksi dari senyawa yang dihasilkan tumbuhan tersebut terhadap aktifitas mikroorganisme. Pemanfaatan *H. perforata* (Blanco) Merr. sebagai antibakteri khususnya bakteri *S. aureus* dapat diidentifikasi berdasarkan uji daya hambat ekstrak tumbuhan terhadap pertumbuhan bakteri tersebut. Pemberian ekstrak daun tumbuhan *H. perforata* (Blanco) Merr. dengan berbagai konsentrasi (10%, 25%, 40%, 65%) dan kontrol positif menggunakan *Amoxicillin* 2%, menunjukkan adanya daya hambat ekstrak terhadap pertumbuhan bakteri *S. aureus* sedangkan pada perlakuan

konsentrasi 0% (kontrol negatif) tidak menunjukkan adanya zona hambat hal tersebut dikarenakan larutan Na-CMC 1 % tidak memiliki aktivitas antibakteri.

Berdasarkan Gambar 1 perlakuan dengan pemberian konsentrasi ekstrak daun 65% menghasilkan diameter zona hambat yang rata-rata 19,3 mm lebih besar dibandingkan dengan pemberian konsentrasi lainnya. Namun demikian zona hambat pada konsentrasi tersebut masih lebih kecil dibandingkan dengan daya hambat yang terbentuk pada kontrol positif *Amoxicillin* 37,36 mm. Sedangkan untuk daya hambat paling kecil terjadi pada pemberian konsentrasi ekstrak paling rendah 10% yaitu 7,6 mm.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi tingkat konsentrasi suatu ekstrak maka semakin baik pula dalam menghambat pertumbuhan bakteri (Santoso dan Harry, 2004). Hasil pengujian menunjukkan bahwa dari berbagai konsentrasi memberikan perbedaan diameter zona hambat yang bervariasi. Perbedaan besar diameter zona hambat ini kemungkinan disebabkan adanya perbedaan kecepatan ekstrak berdifusi ke medium agar. Faktor lain yang menyebabkan perbedaan diameter zona hambat dari ekstrak tersebut adalah perbedaan konsentrasi senyawa aktif yang terdapat pada ekstrak (Prescott, 2005).

Pada ekstrak daun juga mengandung senyawa polifenol dan flavonoid yang merupakan golongan fenol (Karou *et al.*, 2005). Senyawa fenol menghambat pertumbuhan bakteri dengan menginaktivasi protein (enzim) pada membran sel (Singh, 2005) dan menghambat sintesis asam nukleat bakteri (Cusnhie dan Lamb., 2005). Ekstrak daun

tumbuhan *H. perforata* (Blanco) Merr. juga mengandung senyawa tanin. Menurut Juliantina dkk. (2009), senyawa tannin dapat mengkoagulasi protoplasma bakteri dan menghambat pembentukan dinding sel bakteri.

Amoxicillin merupakan antibakteri spektrum luas yang bersifat bakterisid dan efektif terhadap sebagian bakteri Gram-positif dan beberapa Gram negatif yang patogenik. *S. aureus* merupakan salah satu bakteri patogenik yang sensitif terhadap *amoxicillin* (Werckenthin *et al.*, 2001; Pengov *et al.*, 2003).

Berdasarkan Gambar 2 secara statistik uji Duncan, semua perlakuan konsentrasi menunjukkan perbedaan yang signifikan akan tetapi pada konsentrasi 25% dan 40% tidak memiliki perbedaan yang signifikan. zona hambat pada pemberian konsentrasi ekstrak 10%, 25%, 40%, dan 65% dikelompokkan sebagai zona hambat yang kuat. Ekstrak daun *H. perforata* (Blanco) Merr. membentuk zona hambat yang paling baik yakni pada konsentrasi 65% dan zona hambat terkecil pada pemberian ekstrak 10%. Hal tersebut menandakan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak daun *H. perforata* (Blanco) Merr. yang diberikan, maka semakin besar pula daya hambat yang dihasilkan. Menurut Pelczar and Chan (1988), konsentrasi bahan antimikroba berbanding lurus terhadap aktifitasnya, sehingga konsentrasi bahan antimikroba yang melimpah akan membentuk zona hambat yang lebih besar. Hal tersebut diduga juga berkaitan dengan kandungan golongan senyawa pada ekstrak daun *H. perforata* (Blanco) Merr.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa ekstrak daun *Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* berdasarkan zona daya hambat yang terbentuk. Serta konsentrasi ekstrak yang lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan bakteri tersebut yaitu konsentrasi 65%.

DAFTAR PUSTAKA

- Aimang, I.O. 2014. *Uji Daya Hambat Daun Harrisonia perforata* (Blanco) Merr. Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* dan *Salmonella thypi*, Skripsi. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako. Palu.
- Awoyinka, O.A. Balogun, I. O., and Ogunnowo, A.A. 2007. Phytochemical Screening and In Vitro Bioactivity Cnidoscopus aconitifolius (Euphorbiaceae). *J. of Medicinal Plants Resources*.
- Bremner, J. B. 1992. *Proceedings of the Seventh Asian Symposium of Medicinal Plants, Spices and Other Natural Products*. Manila, Philippines. p. 75.
- Cusnhie T., and Lamb A.J. 2005. *Antimicrobial activity of Flavonoids. International J. of Antimicrobial Agents*. (26), pp. 343 – 356.
- Chasanah, N. 2011. *Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Biduri (Calotropis gigantea R. Brown) Terhadap Eshricia coli Penyebab infeksi Saluran kemih*. Skripsi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Tadulako. Palu.
- Davey, P. 2005. *At a Glance Medicine*. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Gibson, J.M. 1996. *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*. LK. G Diterjemah oleh Somasprasada. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- Ibrahim, T.A., B. O. Opawale and J. M. A. Oyinloye. 2011. Antibacterial activity of Herbal Extracts Against Multi Drug Resistens Strains of Bacteria from Clinical Original. *Life sciences Leaflets*. 15:490-498.
- Juliantina R.F., Citra M.D.A., Nirwani B., NurmasitohT., Bowo E.T. 2009. *Manfaat sirih merah (piper crocatum) sebagai agen anti bacterial terhadap bakteri gram positif dan gram negative*. Jurnal kedokteran dan kesehatan Indonesia.
- Katno, Awal P. K., dan Sutjipto. 2008. *Pengaruh Waktu Pengeringan Terhadap Kadar Tanin Daun Jati Belanda (Guazuma ulmifolia Lamk.)*, Balai Besar Litbang Tanaman Obat dan Obat Tradisional. Tawangmangu. Karanganyar. Jawa Tengah.
- Karou, D., M.H. Dicko, J. Simpore, and A.S. Traore. 2005. Antioxidant and Antibacterial Activities of Polyphenols From Etnomedicinal Plant Of Burkina Faso. *African J. Of Biotechnology*, 4 (8), pp. 823-828.
- Pelczar, Jr. M. J. dan Chan, E. C. S. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Jilid 2*, Alih Bahasa: Ratna Sri Hadioetomo dkk. UI Press. Jakarta.
- Pengov, A and Ceru, S. 2003. *Antimicrobial drug susceptibility of Staphylococcus aureus strains*

- isolated from buvine and ovine mammary glands. J. Dairy Sci.* 86: 3157-3163.
- Prescott, L. M. 2005. *Microbiology*. Mc. Graw – Hill, New York.
- Purwoko, T. 2009. *Fisiologi Mikroba*, Bumi Aksara, Jakarta.
- Refdanita, R. Maksum, A. Nurgani dan P. Endang. 2004. *Pola Kepekaan Kuman Terhadap Antibiotik di Ruang Rawat Intensif Rumah Sakit Fatmawati Jakarta. Makara Kesehatan.* 8(2): 41- 48.
- Radji, M., Anglia, P., dan Atiek S. 2010. *Deteksi Cepat Antibakteri Escherichia coli Dalam Sampel Air Dengan Metode Polymerase Chain Reaction Menggunakan Primer 16E1 dan 16E2. Makara Sains,* 14 (1) : 39 – 43.
- Santosa, dan Herry. 2004. *Operasi Teknik Kimia Ekstrasi*. Jurusan Teknik Kimia. Fakultas Teknik. Universitas Diponegoro.
- Singh, I.P., S.B. Bharate. 2005. Anti-HIV Natural Products, *J. Current Science*, 89 (2), pp. 269-290
- Ushimaru, P. I., Nogueira da Silva, M. T., Di Stasi, L. C., Barbosa, L., and Fernandes, A. 2007. Antibacterial activity of medicinal plant extracts, *Braz. J. Microbiology*, 38 (4).
- Werckenthin, C., Cardoso, M., Lousmartel J. and Schwarz, S. 2001. Antimicrobial resistance in Staphylococci from animals with particular reference to bovine *S. aureus*. Porcine *S. hyicus* Canine *S. Intermedius*. *J. Vet. Res* 32:341-362
- Wardani, A.K. 2008. *Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi Residu Ekstrak Etanolik Daun Arbenan (Duchesnea indica (Andr. Facke.) terhadap Staphylococcus aureus dan Pseudomonas aeruginosa Multiresisten Antibiotik Beserta Profil Kromatografi Lapis Tipis*. Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah. Surakarta.