

ISBN NO: 978-602-51262-0-8

Rustakez.

PROSIDING



SEMINAR NASIONAL

**INOVASI TEKNOLOGI DALAM MEWUJUDKAN
KEMANDIRIAN PANGAN NASIONAL
BERKELANJUTAN**

**GEDUNG SERBA GUNA POLITANI
RABU 4 OKTOBER 2017**

DISELENGGARAKAN OLEH



**POLITEKNIK PERTANIAN NEGERI
PAYAKUMBUH**

DIDUKUNG OLEH:



TEMA

**Inovasi Teknologi Dalam Mewujudkan Kemandirian Pangan
Nasional Berkelanjutan**

PAYAKUMBUH, 04 OKTOBER 2017



**Penyelenggara:
POLITEKNIK PERTANIAN
NEGERI PAYAKUMBUH**



ISBN : 978-602-51262-0-8

UWIH	MATOA (PometiাপinnataForst&Forst) SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIBAKTERI POTENSIAL	
A-7	<i>Neni Trimedona, Hazli Nurdin, Djaswir Darwis, Mai Efdi</i>	A-66
H BERBASIS	KONTRUKSI INSTALASI BIOGAS DAN KOMPOR GAS UNTUK PETERNAK SAPI DIDAERAH JORONG SUBALADUANG	
A-8	<i>Muhammad Yusuf, Nurmeji, Ilham Mardotillah, Sri Aulia Novita, Indra Laksana</i>	A-72
SUBSTRAT	PENGONTROL SOLAR CELL MENGIKUTI ARAH CAHAYA MATAHARI BERBASIS MIKROKONTROLER AT89S51	
A-17	<i>Irawati</i>	A-78
RAKTERISTIK	RANCANG BANGUN PROTOTIPE MESIN PENYANGRAI KOPI TIPE SILINDER HORIZONTAL	
A-18	<i>Hendra, Jamaluddin, Indra Laksana, Fithra Herdian dan Futri Nilam</i>	A-84
ISTIK KIMIA	REDUCTION OF CHILLING INJURY IN CHILLING-SENSITIVE PRODUCTS TO IMPROVE EXPORT VALUE OF INDONESIAN FRUITS AND VEGETABLES	
A-22	<i>Khandra Fahmy</i>	A-91
BERAPA	PENDUGAAN UMUR SIMPAN BUAH PEPAYA HIBRIDA BALITBU TROPIKA	
A-29	<i>Noflindawati, Tri Budiyaniti dan Dewi Fatria</i>	A-92
CE OF	PERANCANGAN ALAT UKUR KELEMBABAN TANAH MENGGUNAKAN SENSOR YL – 69 BERBASIS MIKROKONTROLER	
A-30	<i>Ranti Irsa, Egi Virma Nanda</i>	A-93
COOKIES	APLIKASI ALAT PERAJANG MEKANIS UNTUK MENINGKATAN PRODUKSI DAN RENDEMEN MINYAK SERAI WANGI KELOMPOK TANI ATSIRI DESA BALAI BATU SANDARAN	
A-36	<i>Yuni Ernita, Sriaulia Novita, dan Jamaluddin</i>	A-100
AP HARD	MODIFIKASI ALAT BRONGSONG (PEMBUNGKUS) PISANG (Musa paradisiaca)	
A-42	<i>Mislaini, R., dan Omil Chamyn Chatib</i>	A-106
ENDUDUK	PERANCANGAN SYSTEM E-JOURNAL POLITEKNNIK PERTANIAN NEGERI PAYAKUMBUH MENGGUNAKAN OPEN JURNAL SYSTEM (OJS)	
A-48	<i>Amrizal dan Mohammad Riza Nurtam</i>	A-115
A-54	EVALUASI JENIS SILO SEBAGAI MEDIA PENYIMPANAN TERHADAP MUTU SILASE YANG DIHASILKAN	
	<i>Renny Eka Putri, Khandra Fahmy dan Elsa Dwi Oktarini</i>	A-123
DENGAN	PETA KLASIFIKASI DAERAH RAWAN BANJIR LIMPASAN KAWASAN DASARAU	
A-61	<i>Sopla Dialoka, Reni Ekawaty</i>	A-135



MATOA (*POMETIA PINNATA* FORST & FORST) SEBAGAI SUMBER SENYAWA ANTIBAKTERI POTENSIAL

Neni Trimedona¹, Hazli Nurdin², Djaswir Darwis², Mai Efdi²

¹Program Studi Teknologi Pangan Politeknik Pertanian Negeri Payakumbuh

²Jurusan Kimia FMIPA Universitas Andalas Padang

Email : nenitrimedona60@gmail.com

Abstract: The purpose of this research are to phytochemical and antibacterial activity test of the matoa (*Pometia pinnata* Forst & Forst) stem bark extract. The samples of stem bark were extracted with maceration methods used *n*-heksane, ethyl acetat, acetone and methanol solvent. The result of phytochemical screening showed the stem bark of matoa are contain phenolic, flavonoid, kumarin, saponin, triterpenoid and steroid. The evaluation of antibacterial activity using Resazurin Microtiter Assay (REMA) methods for *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas aeruginosa* bacteria. The result showed the acetone extract have potentially as antibacterial component because its minimal inhibitory concentration (MIC) have same with control (cefadroxil) with value is 0,1563 µg/mL.

Keywords: Matoa, phytochemical, REMA, MIC

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki ribuan tumbuhan yang tersebar di berbagai daerah, dimana keanekaragaman hayati yang ada tersebut dapat dimanfaatkan dalam semua aspek kehidupan manusia diantaranya sebagai senyawa obat, pewarna, pestisida, pewangi dan bahan kosmetik. Pemilihan tumbuhan dalam rangka pencarian komponen bioaktif baru dapat dilakukan melalui pendekatan secara etnobotani yaitu berdasarkan pada penggunaan bahan alam oleh suatu etnik atau kelompok tertentu untuk berbagai tujuan terutama pengobatan (Partomuan, 2003).

Matoa (*Pometia pinnata* Forst & Forst) merupakan salah satu tumbuhan yang secara tradisional telah digunakan dalam bidang pengobatan, antara lain di Papua dan Papua Nugini kulit batang matoa digunakan untuk mengobati luka atau luka bakar dan cacar. Selain itu kombinasi daun dengan kulit batang matoa dapat digunakan untuk mengobati berbagai macam penyakit seperti infeksi mulut, sakit perut, diare, disentri, penyakit ringan (tulang, otot, sendi, sakit kepala), kedinginan, flu, diabetes dan bisul. (Thomson and Thaman. 2006). Dilihat dari kegunaan kulit batang matoa sebagai obat tradisional pada pengobatan luka terdapat adanya keterkaitan dengan sifat antibakteri senyawa atau metabolit sekunder yang terkandung didalamnya. Berdasarkan hal tersebut maka diperlukan kajian tentang profil fitokimia dan aktifitas antibakteri dari tumbuhan ini.

METODOLOGI

Sampel yang digunakan dalam penelitian adalah kulit batang matoa (*Pometia pinnata* Forst & Forst) yang diperoleh dari daerah Tunggul Hitam Air Tawar Padang.

Bahan kimia yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah kloroform, amoniak, asam sulfat (H₂SO₄) pekat, pereaksi Dragendorff, Mayer dan Wagner, bubuk magnesium (Mg), asam klorida (HCl) pekat, besi klorida (FeCl₃), asam asetat anhidrat dan natrium hidroksida (NaOH). Untuk proses ekstraksi digunakan pelarut yang berkualitas teknis dan sudah didistilasi diantaranya, metanol (MeOH), etil asetat (EtCOOH), *n*-heksana dan aseton (Me₂CO).

Bahan yang digunakan untuk pengujian aktifitas antibakteri adalah media uji NB (*Nutrien Broth*) (Merck), air salin (0,85 % NaCl) (Merck), resazurin (Sigma), DMSO (Merck), aquades dan antibiotik *cefadroxil*, sedangkan bakteri yang diuji adalah *Escherichia coli* (LPKOK UR CC 13), *Staphylococcus aureus* (LPKOK UR CC 14), *Bacillus subtilis* (LPKOK UR CC 16), *Pseudomonas aeruginosa* (LPKOK UR CC 15)

Peralatan yang digunakan dalam penelitian antara lain seperangkat alat distilasi, *rotary evaporator*, peralatan gelas biasa, *microplate* 96-well, *microplate reader*, pipet mikro, cawan petri, lampu spritus, jarum ose, neraca analitik, plat KLT (kromatografi lapisan tipis), lampu ultraviolet dan inkubator



Skrining fitokimia

Skrining fitokimia dilakukan berdasarkan Harbone (1987). Identifikasi yang dilakukan adalah uji alkaloid, fenolik, flavonoid, saponin, kumarin, steroid, dan triterpenoid.

Pengujian Alkaloid

2-5 gram sampeldirajang dan digerus dalam lumpang dengan penambahan sedikit pasir dan 10 ml kloroform-amoniak 0,05 N. Fraksi kloroform dipisahkan dan diasamkan dengan 5 tetes H_2SO_4 2M. Fraksi asam dibagi menjadi 3 tabung kemudian masing-masing ditambahkan pereaksi Dragendorf, Mayer dan Wagner. Adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih pada pereaksi Mayer, endapan merah pada pereaksi Dragendorf, dan endapan coklat pada pereaksi Wagner.

Pengujian flavonoid, fenolik, saponin.

Sampel segar (sebanyak 5 gram) dipotong halus dan dimaserasi dengan metanol dan dipanaskan selama 10 menit. Larutan disaring, lalu ditambahkan kloroform : aquadest (1:1), diaduk dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan (kloroform dan air). Lapisan kloroform dibagian bawah digunakan untuk pengujian senyawa triterpenoid dan steroid.

Sebagian lapisan air diambil dan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambahkan dengan bubuk magnesium dan beberapa tetes HCl pekat. Terbentuknya warna jingga sampai merah menunjukkan adanya senyawa flavonoid. Pemeriksaan senyawa fenolik dilakukan dengan penambahan pereaksi FeCl_3 1%, ke dalam tabung reaksi yang berisi lapisan air. Warna biru tua atau hitam kehijauan yang terbentuk menunjukkan adanya senyawa fenolik. Lapisan air dalam tabung reaksi dikocok kuat-kuat, terbentuknya busa yang tidak hilang dengan penambahan beberapa HCl pekat menunjukkan adanya saponin.

Pengujian triterpenoid dan steroid (Liebermann Burchard)

Lapisan kloroform daripengujian sebelumnya dimasukkan ke dalam plat tetes dan ditambahkan dengan pereaksi Liebermann Burchard (3 tetes asetat anhidrida dan 1 tetes H_2SO_4 pekat). Warna merah atau ungu yang terbentuk menunjukkan adanya triterpenoid dan warna hijau menunjukkan adanya steroid.

Pemeriksaan kumarin

2 gram sampel dirajang halus dan diekstrak dengan pelarut metanol. Ekstrak ditotolkan pada batas bawah plat KLT dengan menggunakan pipa kapiler, dibiarkan kering, kemudian dielusi dalam bejana yang berisi 10 ml eluen etil asetat. Noda yang dihasilkan dimonitor dibawah lampu UV ($\lambda = 365 \text{ nm}$). Adanya fluoresensi yang bertambah terang setelah disemprot dengan NaOH 1% menandakan adanya senyawa kumarin.

Aktifitas antibakteri

Aktifitas antibakteri ditentukan dengan menghitung nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) menggunakan metode *Resazurin Microtiter Assay* (REMA) (Sarker, *et.al.* 2007). Semua alat yang akan digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan, alat-alat gelas yang memiliki mulut ditutup dengan kapas yang dibalut kain kasa, lalu semua alat dibungkus dengan kertas koran, kemudian disterilkan dengan oven pada suhu 160°C selama 2 jam. Spatel dan jarum ose disterilkan dengan cara pemijaran diatas nyala api lampu spiritus selama 20 detik. Alat-alat yang terbuat dari plastik direndam dengan alkohol 70%. Semua pengerjaan dilakukan secara aseptik.

Pembuatan media uji

Media yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu NB (*Nutrient Broth*). Proses pembuatan media dengan cara menimbang sebanyak 8 gram NB dilarutkan dalam 1000 mL aquades dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing sebanyak 15 mL. Media ditutup dan disterilisasi pada suhu 121°C dan tekanan 15 psi selama 15 menit.



Peremajaan Mikroba

Peremajaan mikroba bertujuan untuk meremajakan kembali bakteri dari agarmiring ke dalam larutan NB. Media NB yang telah dibuat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi. Bakteri dari agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose steril, kemudian diinokulasi ke dalam media NB. Tabung ditutup dengan kapas kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam.

Pembuatan standar koloni bakteri uji

Biakan mikroba diukur OD (*Optical Density*) dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 600 nm untuk memperoleh nilai OD = 0.8 – 1.0 yang setara dengan jumlah koloni 10⁶CFU/mL dengan cara mengencerkan suspensi dengan penambahan larutan NaCl fisiologis 0,85 %.

Persiapan larutan Resazurin

Larutan resazurin disiapkan dengan melarutkan 270 mg resazurin dalam 40 mL aquades steril kemudian di *Vortex* untuk memastikan resazurin larut dengan baik dan homogen.

Persiapan larutan sampel dan kontrol positif

Sebanyak 2 mg sampel uji dilarutkan dalam 2 ml DMSO sehingga diperoleh konsentrasi sampel uji 1000 µg/mL kemudian diencerkan menjadi 100 µg/mL dan 2 mg *Cefadroxil* dilarutkan dalam 20 ml DMSO sehingga diperoleh konsentrasi 100 µg/mL sebagai kontrol positif.

Persiapan uji antibakteri dalam mikroplate

Mikroplate 96 sumur steril disiapkan dan diberi label. Sumur baris A diisi 90 µL media NB, 10 µL sampel uji (100 µg/mL) dan kontrol positif *Cefadroxil* (100 µg/mL) sehingga diperoleh konsentrasi sampel uji 10 µg/mL dan kontrol positif 10 µg/mL. Masing – masing sampel uji dan kontrol positif diencerkan dengan *metode two fold dilution* (setengah dari konsentrasi awal) dengan menambahkan 50 µL media NB. Kemudian ditambahkan 10 µL suspensi bakteri (10⁶CFU/mL) ke masing – masing sumur uji. 50 µL media yang tidak mengandung suspensi bakteri disiapkan sebagai kontrol perlakuan steril (kontrol pertumbuhan bakteri) dan semua sumur uji ditambahkan 10 µL larutan resazurin sebagai indikator pertumbuhan bakteri. Mikroplate ditutup dan dibungkus dengan plastik wrap atau plastik para film pada bagian dalam dan kertas HVS pada bagian luar agar tidak terjadi dehidrasi pada bakteri. Selanjutnya mikroplate diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam. Semua perlakuan dilakukan secara aseptik dan diulang sebanyak dua kali.

Penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM)

Nilai KHM dapat ditentukan dari warna indikator resazurin pada sumur mikroplate. Warna biru berarti tidak ada pertumbuhan bakteri, warna pink terjadi pertumbuhan bakteri dimana jumlah resazurin yang mengalami reduksi membentuk resorufin sama dengan jumlah bakteri sedangkan warna putih menandakan bahwa resorufin mengalami oksidasi oleh bakteri membentuk hidroresorufin. Nilai KHM ditentukan dengan cara melihat sumur yang berwarna biru pada konsentrasi terendah sampel uji dan kontrol positif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Profil fitokimia

Pengujian profil fitokimia suatu bahan atau sampel tumbuhan bertujuan untuk mengetahui kandungan metabolit sekunder yang terdapat didalamnya. Hasil pengujian fitokimia dari kulit batang matoa dapat dilihat pada Tabel 1.

**Tabel 1. Hasil pengujian fitokimia kulit batang matoa**

No	Metabolit sekunder	Pereaksi	Pengamatan	Hasil Uji
1	Alkaloid	Mayer	Kabut putih	-
2	Fenolik	FeCl ₃	Biru-kehitaman	+
3	Flavonoid	Sianidin (HCl+Mg)	Merah muda	+
4	Kumarin	NaOH 1% Fluorisensi UV	Fluorisensi makin terang	+
5	Saponin	Air	Busa	+
6	Steroid	Liebermann Burchard	Warna hijau	+
7	Triterpenoid	LiebermannBurchard	Warna merah	+

Keterangan :

+ : Ada - : tidak ada

Metabolit sekunder merupakan senyawa yang disintesa pada sel pada tingkat pertumbuhan dalam proses pertahanan diri tumbuhan terhadap ancaman lingkungan seperti iklim maupun gangguan herbivora, serangga dan hama penyakit. Dari hasil pengujian terlihat hanya satu jenis metabolit sekunder yang tidak terdeteksi pada kulit batang matoa yaitu kelompok senyawa alkaloid. Adanya kandungan senyawa saponin pada tumbuhan ini sejalan penelitian yang dilakukan Mohammad, *et.al.* 2010, yang berhasil mengisolasi suatu senyawa saponin triterpenoid dari kulit batang matoa yang dinamakan pometin (*3-O-[\beta-D-glucopyranosyl-(1\rightarrow2)-\beta-D-glucopyranosyl-(1\rightarrow3)-\beta-D-glucopyranosyl]-oleanolic acid*).

Senyawa golongan fenolik merupakan senyawa yang memiliki satu atau lebih cincin aromatik dengan satu atau lebih gugus hidroksil. Senyawa ini terdistribusi luas pada tumbuh-tumbuhan dan merupakan metabolit sekunder paling melimpah pada tumbuh-tumbuhan, dengan lebih 8000 struktur fenolik yang diketahui, mulai dari yang sederhana seperti asam fenolat sampai pada substansi polimer yang tinggi seperti tanin. Fenolik tumbuh-tumbuhan umumnya menyangkut pada pertahanan melawan radiasi ultraviolet atau serangan pathogen, parasit dan predator sebagai kontribusi warna dari tumbuhan (Dai and Mumper. 2010). Dari hasil pengujian kulit batang matoa mengandung kelompok senyawa fenolik yang dibuktikan dengan terbentuknya warna hijau kehitaman sewaktu direaksikan dengan larutan feriklorida. Flavonoid dan kumarin merupakan bagian dari kelompok senyawa fenolik, namun tetap dilakukan identifikasi karena tidak semua tumbuhan yang mengandung senyawa fenolik juga terdapat senyawa flavonoid dan kumarin.

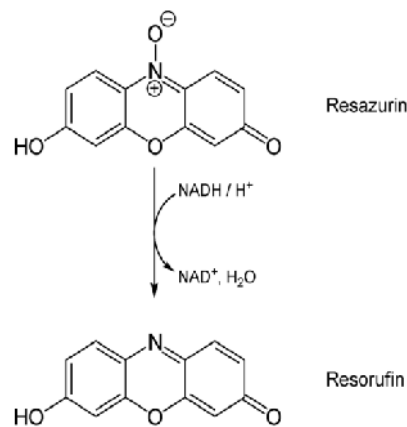
Metabolit sekunder triterpenoid dan steroid merupakan kelompok senyawa non polar yang biasanya larut dalam pelarut n-heksana, kloroform, eter dan lainnya. Hasil uji dengan reagen Liebermann Burchard menunjukkan bahwa tumbuhan ini mengandung senyawa triterpenoid dengan terbentuknya warna merah pada plat KLT.

Aktifitas antibakteri

Aktifitas antibakteri dilakukan untuk menentukan nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) yaitu konsentrasi terkecil senyawa/komponen kimia yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Dalam penelitian ini, nilai KHM ditentukan dengan metode REMA (*Resazurin Microtiter Assay*) yaitu suatu metode mikrodilusi yang menggunakan perubahan warna resazurin sebagai indikator pertumbuhan bakteri. Resazurin merupakan suatu indikator reaksi oksidasi reduksi yang digunakan untuk mengevaluasi pertumbuhan sel terutama dalam berbagai pengujian sitotoksitas. Perubahan warna biru yang berfluorisensi menjadi warna pink yang berfluorisensi terjadi karena reduksi resazurin menjadi resofurin oleh enzim oksidoreduktase di dalam sel hidup. Resofurin selanjutnya direduksi menjadi hidroresofurin yang tidak berwarna dan tidak berfluorisensi (Sarker, 2007). Teknik mikrodilusi mempunyai beberapa kelebihan, diantaranya dapat menganalisa beberapa sampel yang berbeda sekaligus, menggunakan sampel dalam jumlah kecil dan membutuhkan waktu yang singkat (Klančnik, *et.al.* 2010).



Reaksi reduksi resazurin menjadi resorufin dapat dilihat pada Gambar 1.



Gambar 1. Reduksi resazurin menjadi resorufin

Hasil pengujian nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari ekstrak kulit batang matoa dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai KHM dari ekstrak dan senyawa hasil isolasi.

Bahan uji	Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) µg/mL			
	<i>Escherichiacoli</i> (-)	<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (-)	<i>Bacillus subtilis</i> (+)
Ekst. n-heksana	0,625	0,625	1,25	0,625
Ekst. etil asetat	0,3125	0,3125	0,3125	0,1563
Ekstrak aseton	0,1563	0,1563	0,3125	0,1563
Ekstrak methanol	0,3125	0,3125	0,1563	0,1563
Cefadroxil	0,1563	0,1563	0,1563	0,1563

Dilihat dari hasil pengujian nilai KHM yang tersaji pada Tabel diatas, nilai KHM ekstrak aseton terhadap bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dan nilai KHM ekstrak etil asetat dan metanol terhadap bakteri *Bacillus subtilis* menyamai nilai KHM cefradroxil sebagai kontrol positif. Artinya keaktifan dari ekstrak tersebut terhadap bakteri yang diuji menyamai keaktifan zat antibiotik yang digunakan sebagai kontrol. *Cefadroxil* termasuk golongan antibiotika β -laktam yang aktif terhadap bakteri gram positif maupun gram negatif dengan spektrum bervariasi. Antibiotik β -laktam bekerja membunuh bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding selnya.

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa merusak dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Senyawa antibakteri dapat bekerja sebagai bakteristatik, bakterisidal, dan bakterilitik (Pelczar & Chan 1986).

Dari hasil pengujian aktifitas antibakteri ini menunjukkan bahwa ekstrak kulit batang matoa berpotensi untuk dikembangkan menjadi komponen aktif antibakteri dari sumber alami.

KESIMPULAN

1. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang terdapat pada kulit batang matoa adalah golongan senyawa fenolik, flavonoid, saponin, kumarin, triterpenoid dan steroid.



2. Hasil pengujian aktifitas antibakteri menunjukkan ekstrak aseton paling berpotensi dikembangkan sebagai komponen aktif antibakteri karena nilai KHM nya menyamai nilai KHM control positif (*cefadroxil*) sebesar 0,1563 µg/mL kecuali untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa*. Sedangkan ekstrak ekstrak metanol menyamai keaktifan kontrol untuk bakteri *Pseudomonas aeruginosa* dan *Bacillus subtilis* dan ekstrak etil asetat menyamai keaktifan kontrol untuk bakteri *Bacillus subtilis*.

DAFTAR PUSTAKA

- Dai, J and Mumper, R.J. 2010. Plant phenolic : Extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties [Review]. *Molecules*. 15: 7313-7352
- Harborne, J.B. 1996. Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Penerjemah Kosasih Padmawinata. Cetakan ke-2. Penerbit ITB.
- Klančnik, A., Piskernik, S., Jeršek, B, and Možina, S.S. 2010. Evaluation of diffusion and dilution methods to determine the antibacterial activity of plant extracts. *Journal of Microbiological Methods* 81: 121–126
- Mohammad, F.V., Ahmad, V.U., Noorwala, M dan Lajis, N.H., 2010. A new triterpenoid saponin from stem bark of *Pometia pinnata*. *Natural Product Communication*. 5(2): 191-195
- Partomuan, S. 2003. Strategi Pencarian Senyawa Bioaktif Baru dari Sumber Bahan Alami Tumbuhan. *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*. 1(2): 19-23.
- Pelczar MJ, Chan ECS. 1986 *Dasar-dasar mikrobiologi* 2. Diterjemahkan oleh Hadioetomo RS, Imas T, Tjitrosomo SS, Angka SL. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia
- Thomson, L.A.J and Thaman, R.R. *Pometia pinnata* G.R. Forst & G. Forst (tava). ver. 2.1. In: Elevitch, C.R. (ed.). *Species Profiles for Pacific Island Agroforestry*. Permanent Agriculture Resources (PAR) Publishers, Holualoa, Hawai'i. 2006. 1-17
- Sarker, S.D., Nahar, L and Kumarasamy, Y. 2007. Microtitre plate-based antibacterial assay incorporating resazurinas an indicator of cell growth, and its application in *their vitro* antibacterial screening of phytochemicals. *Methods*. 42: 321–324.