

**Investigasi Senyawa Kimia Utama Fraksi Aktif Antimikroba Tumbuhan Tampa
Badak (*Voacanga foetida*)¹**

**Investigation of major components from antimicrobial active fraction of Tampa
Badak (*Voacanga foetida*)**

Dachriyanus², Marlina² dan Fahrurozi²

Abstrak

Voacanga foetida (Bl.) K. Schum (Apocynaceae) adalah suatu tumbuhan yang sudah digunakan secara tradisional untuk mengobati penyakit infeksi pada kulit. Kegunaan ini mengindikasikan adanya aktivitas antimikroba. Hasil penelitian pendahuluan menunjukkan bahwa ekstrak metanol dari kulit batang tumbuhan ini menunjukkan adanya aktifitas antimikroba. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian lanjut untuk mengetahui senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas ini. Penyarian zat aktif dilakukan dengan cara memaserasi kulit batang yang sudah dihaluskan didalam metanol yang dilanjutkan dengan cara fraksinasi memakai kepolaran yang bertingkat menggunakan pelarut yang tidak bercampur. Dari hasil pengujian antimikroba dari masing-masing fraksi terlihat bahwa etil asetat adalah fraksi yang paling aktif. Isolasi zat utama dari fraksi ini dilakukan dengan cara kromatografi. Posisi dari zat aktif ditentukan dengan metoda bioautografi. Dua senyawa telah berhasil diisolasi. Berdasarkan data spektroskopi salah satu senyawa diidentifikasi sebagai 16-epivoacarpine, sedangkan struktur senyawa yang lain masih dalam penyelesaian.

¹ Dibiayai oleh Proyek Penelitian Dasar, DIKTI, No:05/P2IPT/DPPM/PID/III/2003

² Jurusan Farmasi, FMIPA, Universitas Andalas, Padang

Abstract

Traditionally *Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum (Apocynaceae) has been used for treatment skin infection which was related to antimicrobial activity. Preliminary investigation on methanolic extract of the bark of this plant showed an antimicrobial activity. It was compulsory to do further investigation to determine the active components. The bark was macerated using methanol followed by fractionation using immiscible solvent with increasing polarity. Each fraction was subjected to antimicrobial study. It was found that ethyl acetate was the most active fraction. The major component was isolated by chromatography method and the location of the active components was determined by bioautography method. Two compounds were isolated. Based on their spectroscopic data one of them was elucidated as 16-epivoacarpine. Structure determination of another compound was still in progress.

1. PENDAHULUAN

Biodiversiti dari flora Sumatra adalah salah satu yang terbesar di dunia mengandung ribuan spesies yang banyak diantaranya adalah bersifat endemik dan unik. Megadiversiti ini menyebabkan tingginya keanekaragaman senyawa kimia sehingga kemungkinan untuk menemukan senyawa kimia yang baru yang mempunyai aksi terapeutik yang unik serta baru sangat besar.

Voacanga foetida (Bl.) K. Schum (Apocynaceae) adalah salah satu species yang mempunyai kandungan alkaloid yang tinggi serta telah digunakan secara tradisional sebagai obat penyakit kulit (Bremner, 2000). Berdasarkan tinjauan pustaka yang telah dilakukan, genus ini mengandung alkaloid indol yang diketahui mempunyai aktivitas antimikroba dan farmakologi yang beragam (Annonimus, 2001).

Hasil uji pendahuluan dari ekstrak metanol kulit batang menunjukkan hasil yang positif sebagai antimikroba. Diduga aktivitas ini berasal dari kandungan alkaloid tumbuhan ini (Hamburger and Hastettmann, 1991, Dachriyanus, 2001). Bertitik tolak dari banyaknya kandungan alkaloid dan aktivitas antimikroba tumbuhan ini maka dicoba untuk mengisolasi senyawa alkaloid dari fraksi yang aktif sebagai antimikroba dari kulit batang *Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum.

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas antimikroba dari kulit batang *Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum. Dengan mengetahui senyawa yang bertanggung jawab terhadap aktifitas antimikroba ini akan memberikan data ilmiah yang mendukung terhadap kegunaan tumbuhan ini secara tradisional. Diharapkan sediaan phytopharmaka dapat dihasilkan dari tumbuhan ini sehingga nilai ekonominya dapat ditingkatkan.

II. METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan yang digunakan

Alat destilasi, bejana kromatografi, alat pengukur titik leleh (John Melting Point Apparatus), botol semprot, corong pisah, erlenmeyer, gelas ukur, kapiler, kapas, kertas saring, kolom kromatografi berbagai ukuran, lampu UV $\lambda=254$ nm, oven, penangas air, plat tetes, rotary evaporator, spatel. Spektroskopi UV_{vis}-1601 SHIMADZU, spektroskopi IR dengan plat KBr FT-IR Perkin Elmer FTIR System, Proton NMR dilakukan didalam pelarut terdeuterasi yang sesuai memakai Spektrometer Varian Unity Inova pada 500 MHz, Karbon NMR dilakukan dengan alat yang sama pada frekuensi 125 MHz. Analisa spektrum dibantu dengan teknik DEPT, COSY, HSQC, HMBC, Spektroskopi Massa dengan metoda Elektron Impact dengan energi ionisasi pada 70 eV dan Fisher-Jhon Point Aparatus.

Air suling, asam sulfat, logam Mg, asam klorida, asam asetat anhidrat, Besi (III) klorida, pereaksi Mayer, pereaksi Dragendorff, metanol, n-heksana, etil asetat, n-butanol, amoniak, kloroform, natrium sulfat anhidrat, plat silika GF 254 (Merck), silika gel BDH (40-63 μ m), Nutrient Agar (Merck), Sabouraud Dextrose Agar (SDA) (Merck).

Mikroba Uji yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Micrococcus luteus* ATCC 9342, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442, *Candida albicans* ATCC 10231.

Prosedur Kerja Isolasi

Sampel diambil pada bulan Agustus 2001, di daerah Muko-muko, Maninjau, Kabupaten Agam, Sumatera Barat sebanyak 1,5 kg dan identifikasi tumbuhan dilakukan di Herbarium Universitas Andalas (ANDA) dengan nomor koleksi DR-167.

Kulit batang *Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum sebanyak 1.5 kg dirajang, dimacerasi dengan metanol 3 x 10 liter masing-masing selama 5 hari. Gabungan maserat diuapkan *in vacuo* sampai kental, kemudian difraksinasi dengan n-heksana 13 x 250 ml, sehingga diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi n-heksana dan fraksi air. Fraksi n-heksana diuapkan dengan rotavapor dan didapatkan fraksi kental n-heksana sebanyak 1,7 gram.

Fraksi air selanjutnya difraksinasi dengan etil asetat 20 x 500 ml, sehingga diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi etil asetat dan fraksi air. Fraksi etil asetat diuapkan dengan rotavapor dan didapatkan fraksi etil asetat sebanyak 5.9 gram.

Fraksi air selanjutnya dibasakan dengan amoniak pekat. Fraksi ini selanjutnya difraksinasi lagi dengan etil asetat 15 x 500 ml, didapatkan dua fraksi yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat basa. Fraksi etil asetat basa diuapkan dengan rotavapor sehingga didapatkan fraksi kental etil asetat basa sebanyak 1.3 gram.

Fraksi air difraksinasi dengan n-butanol 15 x 500 ml, sehingga diperoleh dua fraksi, yaitu fraksi n-butanol dan fraksi air. Fraksi n-butanol diuapkan dengan rotavapor dan didapatkan fraksi n-butanol sebanyak 9,8 gram.

Ekstrak metanol dan setiap fraksi dilakukan uji antimikroba. Disini terlihat bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif, maka isolasi senyawa utama dilakukan terhadap fraksi ini.

Fraksi etil asetat sebanyak 5.9 gram dikromatografi kolom dengan menggunakan fasa diam silika gel BDH (40-63 μ m) dan fasa gerak n-heksana, etil asetat dan metanol yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap. Fraksi yang keluar ditampung dengan erlenmeyer, diuapkan dengan *rotary evaporator* dan dimasukkan dalam vial. Tiap fraksi dimonitor dengan KLT dan penampak noda lampu UV₂₅₄ nm. Fraksi dengan pola noda yang sama digabung, diperoleh fraksi A (vial 1), fraksi B (vial 2-3), fraksi C (vial 4-7), fraksi D (vial 8-11) dan fraksi E (vial 12-14).

Fraksi D (1.3 gram) difraksinasi secara asam basa dengan larutan asam sulfat 2 N, sehingga terbentuk dua lapisan, yaitu lapisan etil asetat dan lapisan asam. Lapisan asam dipisahkan dari lapisan etil asetat dan dinetralkan dengan ammoniak pekat yang ditandai dengan kabut putih. Fraksi ini selanjutnya diekstraksi dengan CHCl₃,

sehingga terbentuk fraksi air dan fraksi CHCl_3 , lapisan CHCl_3 dipisahkan dari lapisan air dan diuapkan dengan rotary evaporator. Diperoleh fraksi D setelah difraksinasi secara asam basa ini sebanyak 0,082 gram.

Selanjutnya fraksi D dikromatografi kolom lebih lanjut dengan eluen CHCl_3 dan CHCl_3 -Metanol (9,5:0,5) yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap, sehingga diperoleh fraksi D_1 (vial 1-2), fraksi D_2 (vial 3-5), fraksi D_3 (vial 6-10), dan fraksi D_4 (vial 11-15). Fraksi D_2 (3-5) dipisahkan dengan kromatografi radial menggunakan fasa gerak CHCl_3 dan CHCl_3 -Metanol yang ditingkatkan kepolarannya secara bertahap sehingga diperoleh fraksi D_{2A} (vial 1-3), fraksi D_{2B} (vial 4-7), fraksi D_{2C} (vial 8-10), fraksi D_{2D} (vial 11-12) dan fraksi D_{2E} (vial 13-15). Fraksi D_{2A} dan D_{2D} memperlihatkan satu noda pada plat KLT. Fraksi D_{2A} berupa minyak (15 mg) sedangkan fraksi D_{2D} berbentuk kristal. Struktur dari senyawa D_{2A} masih dalam pengerjaan. Fraksi D_{2D} direkristalisasi menggunakan pelarut etil asetat-n-heksana dan diperoleh alkaloid murni D_2 seberat 10 mg. Senyawa D_2 berbentuk amorf kuning kecoklatan dengan titik leleh 290°C (dari etil asetat-metanol); $\alpha_{\text{max}}/\text{nm}$ (MeOH) 230,8 ; 283,3 ; 292,3 dan 314,1 nm ; $\epsilon_{\text{max}}/\text{cm}^{-1}$ (KBr) 3411 , 3050, 2950, 2000, 1710 dan 1455 cm^{-1} ; $^1\text{H-NMR}$ (pelarut CD_3OD) δ 1,68 ; 1,80 ; 2,86 ; 3,07 ; 3,63 ; 3,78 ; 4,16 ; 5,42 ; 6,95 ; 7,06 ; 7,30 ppm; $^{13}\text{C-NMR}$ (pelarut CD_3OD) δ 13,36; 24,38; 33,48; 38,05; 49,57; 51,63; 52,09; 63,28; 68,58; 84,22; 108,46; 112,34; 117,81; 119,29; 119,85; 122,71; 127,44; 137,86; 138,83; 174,42 ppm; HREIMS m/z 368,17 $[\text{M}]^+$, 130 , 184, 265 dan 103.

Prosedur Pengujian Antimikroba

Pembuatan media pembenihan

1. Nutrient Agar (NA) (Merck[®])

Sebanyak 20 g serbuk Nutrient Agar, dilarutkan dalam 1 liter air suling, dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih. Kemudian disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

2. Sabouraud Dekstrosa Agar (SDA) (Merck®)

Sebanyak 65 g serbuk Sabouraud Dekstrosa Agar dilarutkan dalam 1 liter air suling, dipanaskan sambil diaduk sampai mendidih. Kemudian disterilisasi di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit.

Peremajaan Mikroba Uji

Mikroba uji dari stok kultur murni ditanam pada agar miring NA dan SDA, lalu diinkubasi selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan 3-5 hari pada suhu kamar (25-27°C) untuk jamur.

Pembuatan suspensi mikroba uji

Koloni mikroba uji disuspensikan dalam NaCl fisiologis dengan jalan mengencerkannya dalam tabung reaksi, kemudian dihomogenkan dengan vorteks. Kekeruhan dari suspensi diukur dengan spektrofotometer UV-Vis sehingga diperoleh suspensi dengan transmittan 25% pada panjang gelombang 580 nm untuk bakteri dan transmittan 90% pada panjang gelombang 530 nm untuk jamur.

Uji aktivitas antimikroba dengan metoda difusi (Barry, 1980)

Alat-alat yang digunakan terlebih dahulu dicuci bersih dan dikeringkan. Tabung reaksi, erlenmeyer, gelas ukur, vial dan pipet ditutup mulutnya dengan kapas, kemudian dibungkus dengan kertas perkamen. Cakram kertas dimasukkan ke dalam salah satu cawan petri dan semua cawan petri dibungkus satu persatu. Kemudian semua alat disterilkan di dalam autoklaf pada suhu 121°C dan tekanan 15 lbs selama 15 menit. Pinset, jarum ose disterilkan dengan cara flambier pada lampu spiritus. Lemari aseptis dibersihkan dari debu lalu disemprot dengan etanol 70 %.

Pengujian aktivitas antimikroba dengan metoda Bioautografi (Betina, 1973)

Sebanyak 0,1 ml suspensi mikroba uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi terpisah yang masing-masing berisi 12 ml media NA untuk bakteri dan media SDA untuk jamur, lalu dihomogenkan. Kemudian dituangkan ke dalam cawan petri steril. Setelah media memadat diletakkan kromatogram plat silika GF₂₅₄ (Merck) yang telah ditandai dan dibiarkan selama 15-30 menit agar terjadi difusi sampel ke permukaan agar dan ditandai bercak kromatogram dengan spidol pada alas cawan petri. Setelah

15-30 menit plat KLT diangkat dari permukaan agar. Untuk alkaloid hasil isolasi, kertas cakram yang telah ditetesi larutan sampel diletakkan di permukaan agar dan sebagai pembanding digunakan larutan gentamisin sulfat 0,1 %. Kemudian dilanjutkan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk bakteri dan selama 3-5 hari pada suhu kamar (25-27°C) untuk jamur. Diamati adanya pertumbuhan mikroba uji dan diamati bercak kromatogram yang memberikan daerah bening.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengujian aktivitas antimikroba (Tabel 1) dari sampel uji menunjukkan bahwa fraksi heksan, fraksi etil asetat, fraksi etil asetat basa dan fraksi butanol menghambat pertumbuhan bakteri baik Gram positif (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*) maupun bakteri Gram negatif (*Pseudomonas aeruginosa*) kecuali fraksi heksan hanya menghambat pertumbuhan bakteri gram positif. Sedangkan ekstrak metanol aktif menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif dan Gram negatif tetapi tidak menghambat pertumbuhan ragi *Candida albicans*. Keseluruhan ekstrak dan fraksi tidak aktif terhadap *Escherichia coli*.

Metoda bioautografi dilakukan untuk mengetahui posisi dari zat aktif yang akan dicari. Disini terlihat bahwa zat aktif berada pada RF 0,9 dengan menggunakan eluent CHCl₃-MeOH (9,5 : 0,5).

Table 1. Aktifitas antimikroba ekstrak dan fraksi dari kulit batang *Voacanga foetida*

Sample	Conc (mg/ml)	Daerah hambat				
		1	2	3	4	5
MeOH	100	18.06	11.38	10.85	14.06	-
Hexane	100	11.35	15.84	8.67	-	-
EtoAc	100	22.82	21.66	21.02	21.83	-
BuOH	100	15.34	18.90	16.11	18.00	-

1 = *Micrococcus luteus* ATCC 9342

2 = *Staphylococcus aureus* ATCC 6538

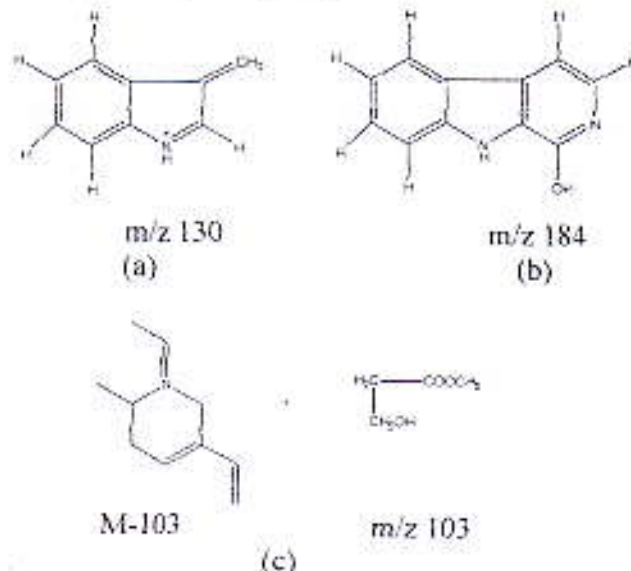
3 = *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228

4 = *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442

5 = *Escherichia coli* ATCC 25922

Penentuan aktivitas dan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari masing-masing zat uji memperlihatkan bahwa fraksi etil asetat memiliki aktivitas antimikroba yang lebih tinggi dibandingkan dengan sampel uji yang lain. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari fraksi etil asetat ini memberikan hasil bahwa terdapat tiga harga KHM yang berbeda yaitu : 1-1,25 mg/ml untuk *Staphylococcus aureus* dan *Pseudomonas aeruginosa*, 1,25-2,5 mg/ml *Micrococcus luteus* dan *Staphylococcus epidermidis*. Aktivitas terbanding antimikroba fraksi etil asetat adalah hampir sama dengan gentamisin sulfat 1 µg/cakram dan klotrimazol 2,5 µg/cakram terhadap semua mikroba uji yaitu 1,34 µg/cakram untuk *Micrococcus luteus*, 1,17 µg/cakram untuk *Staphylococcus aureus*, 1,22 µg/cakram untuk *Staphylococcus epidermidis* (mewakili bakteri Gram positif) dan 1,09 µg/cakram untuk *Pseudomonas aeruginosa* (bakteri Gram negatif). Penentuan aktifitas antimikroba terhadap zat hasil isolasi tidak bisa dilakukan karena keterbatasan zat murni hasil isolasi.

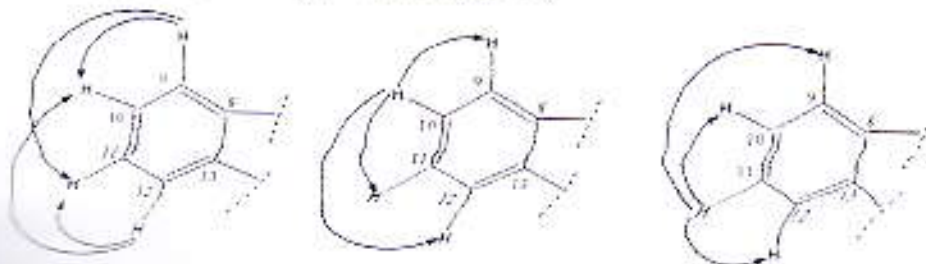
Pemeriksaan spektrum massa alkaloid D₂ dengan metoda HREI (High Resolution Electron Impact) menunjukkan BM molekul 368,173806 dengan rumus molekul C₂₇H₂₄N₂O₄. Fragmen dengan m/z 130 merupakan fragmen yang umum lepas pada alkaloid genus Voacanga (a), fragmen lain dengan m/z 184 (b), dan puncak dengan m/z 265 mengindikasikan lepasnya fragmen dengan m/z 103 (c). (Budzikiewics *et al.*, 1964, Shriner, *et al.*, 1980)



Pemeriksaan spektrum inframerah alkaloid D_2 memperlihatkan serapan pada bilangan gelombang 3411 cm^{-1} diduga berasal dari serapan OH dan kemungkinan berhimpit dengan serapan NH. Pada bilangan gelombang sekitar 1455 cm^{-1} memperlihatkan regang C=C aromatis dan pada bilangan gelombang sekitar 1710 cm^{-1} memperlihatkan regang C=O. Serapan yang lemah pada bilangan gelombang 2000 cm^{-1} berasal dari benzen, regang CH alifatis terlihat pada bilangan gelombang sekitar 2950 cm^{-1} . Pada bilangan gelombang sekitar 3050 cm^{-1} memperlihatkan regang CH aromatis. (Silverstein *et al.*, 1993, Shriner, *et al.*, 1980)

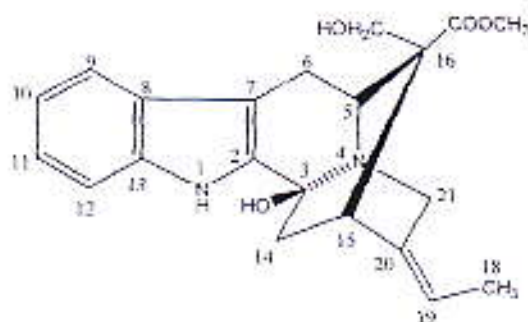
Pemeriksaan spektrum ultraviolet alkaloid D_2 dalam CHCl_3 memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 230.8 nm ($\epsilon=1987,2$) $283,3$ ($\epsilon=589,10$) ; $292,3$ ($\epsilon=515,46$) dan $314,1\text{ nm}$ ($\epsilon=294,55$) yang spesifik untuk alkaloid indol (Silverstein *et al.*, 1993, Shriner, *et al.*, 1980).

Spektrum $^1\text{H-NMR}$ alkaloid D_2 dalam CD_3OD memperlihatkan tiga sinyal pada daerah aromatis yang terkopling satu sama lain pada pergeseran kimia $7,30\text{ ppm}$; $7,06$ dan $6,95\text{ ppm}$. Pada pergeseran kimia $7,30\text{ ppm}$ terdapat satu sinyal yang diduga berasal dari dua proton H-9 dan H-12 yang berhimpit. Sinyal "broad doublet of doublet" pada pergeseran kimia $6,95\text{ ppm}$ berasal dari proton H-10 yang terkopling dua kali oleh H-9 dan H-11 ($J_{10-9} = J_{10-11} = 7,25\text{ Hz}$) dan sinyal "broad doublet of doublet" pada pergeseran kimia $7,06\text{ ppm}$ berasal dari proton H-11 yang juga terkopling dua kali oleh H-10 dan H-12 ($J_{11-10} = J_{11-12} = 7,61\text{ Hz}$). Sinyal metil muncul pada pergeseran kimia $1,67\text{ ppm}$ sebagai sinyal singlet dan sinyal metoksi muncul sebagai sinyal singlet pada pergeseran kimia $2,86\text{ ppm}$. Pada pergeseran kimia $5,42\text{ ppm}$ terdapat sinyal "broad singlet" yang berasal dari H-19 yang hanya terkopling oleh H-18 ($J_{19-18} = 6,263\text{ Hz}$) (Webb, G.A.,1979).



Spektrum ^{13}C -NMR alkaloid D_2 dalam CD_3OD dengan teknik DEPT dapat diketahui bahwa terdapat 1 metil, 1 metoksi, 4 metilen, 7 metin dan 8 C kuartener. Gugus ester terlihat dengan adanya C kuartener pada 174,42 ppm, 7 buah C kuartener lainnya terdiri dari 4 buah C kuartener pada cincin indol yaitu 138,844 ; 138,739 ; 127,443 dan 108,443 ppm untuk C-2 ; C-13 ; C-8 dan C-7. Tiga C kuartener lainnya muncul pada pergeseran kimia 137,777 ; 84,257 dan 52,089 ppm yang berasal dari C-20 ; C-3 dan C-16. Gugus metil muncul pada pergeseran kimia 13,372 ppm dan gugus metoksi muncul pada pergeseran kimia 51,652 ppm. 4 buah gugus metilen terlihat pada 68,580 ; 49,613 ; 38,061 dan 24,395 ppm, masing-masing berasal dari C-17 ; C-21 ; C-14 dan C-6. Gugus metin yang berjumlah 7 buah muncul pada pergeseran kimia 122,730 ; 119,859 ; 117,859 dan 112,363 ppm yang terikat pada inti benzen, yaitu C-11 ; C-9 ; C-10 dan C-12 3 gugus metin lainnya muncul pada pergeseran kimia 119,268 ; 63,274 dan 33,488 ppm masing-masing berasal dari C-19 ; C-5 dan C-15 (Webb, G.A.,1979).

Dari perbandingan data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR alkaloid D_2 dengan spektrum senyawa 16-epi voacarpine (Ponglux *et al.*, 1988) memperlihatkan data yang berdekatan. Dengan kemiripan data spektrum ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR kedua alkaloid ini maka diduga alkaloid D_2 merupakan alkaloid 16-epivoacarpine.



16-Epi-voacarpin

Aktifitas antimikroba dari zat hasil isolasi belum dapat dilakukan karena jumlah zat yang didapatkan tidak memadai.

IV. KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Hasil pengujian antimikroba terhadap fraksi-fraksi dari ekstrak tumbuhan *foetida* (Bl.) K. Schum terlihat bahwa fraksi etil asetat adalah fraksi yang paling aktif terhadap mikroba uji. Dari fraksi ini dengan bantuan metoda bioautografi diperoleh suatu senyawa alkaloid 16-epi-voacarpin dan alkaloid lain yang strukturnya belum diketahui

Saran

Isolasi zat aktif dalam skala yang besar perlu dilakukan sehingga zat hasil isolasi yang didapatkan bisa mencukupi untuk dilakukan uji antimikroba.

V. UCAPAN TERIMA KASIH

Terima Kasih diucapkan kepada Departemen Pendidikan Nasional melalui Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Pada Masyarakat, Direktorat Jendral Pendidikan Tinggi atas dana yang diberikan melalui PROYEK PENELITIAN ILMU PENGETAHUAN DASAR No:05/P2IPT/DPPM/PID/III/2003 TANGGAL 27-3-2003

VI. DAFTAR PUSTAKA

- Anonimus, "Natural Products Alert (NAPRALET)" The university of Illinois, Chicago, online service, 27 Maret 2001.
- Barry, A. L., "Prosedure for testing Antimicrobial Agent in Agar Medical": Theoretical Considerations in Laboratory Medicines, Ed. Lorian, The William and Wilkins Co, Baltimore, 1980.
- Betina, V., Bioautography in Paper and Thin Layer Chromatography and Its Scope in The Antibiotic Field, *J. of Chromatography*, 78 : 41-51(1973)
- Budzikiewics, H., C. Djerasi and D.H. William., Structure Elucidation of Natural Products by Mass Spectrometry, Vol 1: Alkaloids, Holden-day, INC, San Fransisco, 1964.
- Dachriyanus. Chemical and Biological Activity Studies of Some Sumatran Plants Parts II, Fine Chemicals From Natural Resources 17 th National Semnar on Natural Products. Malaysia 17 & 18 October 2001
- Bremner, J.B., "Alkaloid and New Drug Discovery Some Directions for The Future", Asomps X, Bangladesh, Dhaka, Nov. 2000.
- Hamburger, M. and Hastettmann, K., Bioactivity in Plants: The Link Between Phytochemistry and Medicine. *Phytochemistry*, 30(12): 3864-3874 (1991)
- Ponglux, D., Wonscripipatana, S., Subhadhirasakul, S., Takayama, H., Hiromitsu, Y., Yokota, M., Ogata, K., Phisalaphong, G., Aimi, N., Sakai, S. Studies on the indole alkaloids of *Gelsemium elegans* (Thailand). Structure elucidation and proposal of a biogenetic route, *Tetrahedron*, 44(16), 5075-94(1988).
- Shriner, R.L., R.C. furson., D.Y. Curtin. And T.C. Morrill, The Systematic Identification of Organic Compounds A Laboratory Manual, 6th Ed., John Wiley & Sons, New York, Chichester, brisbane, toronto, Singapore, 1980.
- Silverstein, R.M., G.C. Blasler and T.C. Morrill, Spectrometric, Identification of Organic Compounds, 5th Ed., John Wiley & Sons, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, 1993.
- Webb, G.A., "Annual Reports On NMR Spektroskopy", Volume 8, Academic Press, London, 1979.