

## UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI EKSTRAK ETANOL DAUN KEREHAU (*Callicarpa longifolia* Lam) TERHADAP *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*

Submitted : 27 Oktober 2016

Edited : 18 November 2016

Accepted : 30 November 2016

Eko Kusumawati<sup>1</sup>, Anita Apriliana<sup>2</sup>, Khusnul Khatimah<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Biologi Fakultas MIPA Universitas Mulawarman Samarinda

<sup>2</sup>Akademi Farmasi Samarinda

Email : ekokusumawati@fmipa.unmul.ac.id

### ABSTRACT

*Kerehau (Callicarpa longifolia Lam) is a plant that has traditionally efficacious as a cure colds and diarrhea. Part used as medicine are the leaves. This study aims to determine the antibacterial activity of ethanol extract of leaves kerehau on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. Kerehau leaf extract prepared by maceration method using ethanol 70%, with a test concentration of 10%, 25%, 50%, and 100% and chloramphenicol 0.1% (w / v) as a positive control and dimethyl sulfoxide 1% (v / v) as a negative control. The results of antibacterial activity test with extract concentrations of 25%, 50% and 100% in Escherichia coli is 9.45 mm, 12.21 mm and 17.38 mm, for the positive control is 21.85 mm. The results of antibacterial activity test with extract concentrations of 10%, 25%, 50% and 100% in Staphylococcus aureus was 7.3 mm, 9.85 mm, 13.65 mm and 20.58 mm, for the positive control was 24.05 mm. The antibacterial activity was analyzed by One Way ANOVA showed significant differences between treatments.*

**Keywords :** *Callicarpa longifolia Lam, antibacterial , disc diffusion, Escherichia coli, Staphylococcus aureus*

### PENDAHULUAN

Penyakit akibat infeksi bakteri merupakan masalah serius dalam kesehatan, seperti halnya *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*<sup>(1)</sup>. Untuk mengatasi penyakit ini digunakan obat-obatan sintesis dan kimiawi yang dapat menimbulkan ketergantungan serta resistensi. Salah satu upaya untuk mencegah terjadinya resistensi tersebut adalah dengan memanfaatkan tumbuhan-tumbuhan obat yang diduga efektif menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri penyebab penyakit<sup>(2)</sup>.

Tumbuhan kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam) secara tradisional digunakan untuk pengobatan sebagai obat

jerawat yang dibuat dalam bentuk sediaan bedak dingin, obat pasca melahirkan dalam bentuk sediaan ramuan serta masuk angin dan obat diare, bagian tumbuhan yang digunakan sebagai obat adalah daunnya. Stephanus (2015)<sup>(3)</sup> mengemukakan bahwa daun kerehau mengandung senyawa kimia berupa flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid. Selain itu daun kerehau juga mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes* pada konsentrasi 10%, 25%, 50%, 100% dan memiliki diameter zona hambat berturut-turut sebesar 7,03 mm, 8 mm, 10,01 mm, dan 11,73 mm.

Berdasarkan latar belakang diatas, dilakukan penelitian mengenai uji aktivitas

antibakteri ekstrak etanol daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam) terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sebagai perwakilan bakteri Gram negatif dan Gram positif yang dapat menyebabkan penyakit diare dengan melihat zona hambat yang terbentuk dari konsentrasi hambat minimum yang digunakan dengan dugaan bahwa daun tersebut dapat digunakan sebagai obat diare.

## METODE PENELITIAN

### Pengumpulan sampel

Sampel berupa daun kerehau tua dipetik langsung tanpa menggunakan alat, yang diperoleh dari desa kecamatan Sangasanga, Kabupaten Kutai Kertanegara, Kalimantan Timur.

### Determinasi Tumbuhan

Determinasi daun kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) dimaksudkan untuk mengetahui kebenaran sampel. Determinasi dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (FMIPA) Universitas Mulawarman Samarinda.

### Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kerehau

Daun kerehau yang telah dikumpulkan dicuci dibawah air mengalir, ditiriskan dan dikeringkan. Pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan tanpa terkena sinar matahari langsung. Simplisia dibuat serbuk menggunakan blender selanjutnya diayak dan hasil ayakan disimpan didalam wadah tertutup rapat. Ditimbang 100 g serbuk simplisia daun kerehau, kemudian diekstraksi dengan cara maserasi dengan perbandingan 1:10, menggunakan 1 L etanol 70% sebagai cairan penyari. Maserasi dilakukan selama 5 hari dengan cara pengadukan manual setelah itu dilakukan remaserasi, Selanjutnya ekstrak disaring dengan kertas

saring. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian diuapkan diatas penangas air hingga kental<sup>(4)</sup>.

### Pengujian Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kerehau terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* menggunakan metode kertas cakram dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, dan 100%.

Media MHA dituang ke dalam 5 cawan petri masing-masing dituang sebanyak 20 mL, dibiarkan hingga memadat. Dichelupkan lidi kapas steril ke dalam suspensi bakteri, setelah itu dioleskan pada seluruh permukaan medium MHA dan dibiarkan selama 5 menit supaya suspensi bakteri meresap ke dalam media agar.

Kertas cakram yang telah direndam dalam ekstrak daun kerehau dengan konsentrasi 10%, 25%, 50%, dan 100% (b/v), kemudian pada media ditempelkan kertas cakram dengan bermacam-macam konsentrasi, untuk kontrol negatif yaitu kertas cakram yang direndam dengan DMSO 1%. Jarak antara disk satu dengan lainnya tidak kurang dari 15 mm. kemudian dinkubasi dalam inkubator dengan suhu 37°C selama 18-24 jam. Diukur zona hambat (mm) dari masing-masing konsentrasi sampel dengan menggunakan jangka sorong. Diameter zona hambat yang diukur yaitu daerah jernih disekitar kertas cakram (tidak ada pertumbuhan bakteri), diukur dari ujung yang satu ke ujung yang lain melalui tengah-tengah kertas cakram dan dihitung rata-rata zona hambatnya<sup>(5)</sup>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Determinasi Tumbuhan

Hasil determinasi menunjukkan bahwa sampel yang digunakan adalah *Callicarpa longifolia* Lam, dengan nama daerah Kerehau.

### **Pembuatan Simplisia Daun Kerehau**

Pada pembuatan simplisia daun kerehau, diperoleh 1,8 kg daun kerehau segar, kemudian dicuci dan ditiriskan lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan terlindung dari sinar matahari. Setelah kering daun kerehau ditimbang, diperoleh sebanyak 450 g. Susut pengeringan pada simplisia daun kerehau sebesar 25%.

### **Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Kerehau**

Simplisia daun kerehau diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Keuntungan proses maserasi adalah cara dan peralatan mudah dilakukan dengan alat-alat sederhana, dan cara penarikan zat aktif yang tidak menggunakan pemanasan dan digunakan etanol 70% sebagai pelarutnya. Penggunaan cairan penyari ini atas dasar bahwa etanol lebih selektif, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan, panas yang diperlukan untuk pemekatan lebih rendah, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam konsentrasi alkohol lebih dari 20% sehingga dapat mencegah tumbuhnya jamur pada ekstrak<sup>(6)</sup>.

Simplisia daun kerehau dihaluskan dengan menggunakan blender. Proses penghalusan simplisia kering dilakukan untuk memperkecil ukuran simplisia, sehingga luas permukaan yang kontak dengan cairan penyari lebih luas dan proses penarikan kandungan kimia yang terdapat didalam simplisia lebih optimal, kemudian ditimbang dengan perbandingan 1 : 10 yaitu sebanyak 100 g serbuk daun kerehau dalam 1000 ml etanol 70%. Etanol 70 % dipilih karena dapat melarutkan senyawa polar dan non polar, etanol juga merupakan senyawa yang mudah menguap, sehingga pada proses pemekatan waktu yang membutuhkan lebih sedikit dibandingkan dengan menggunakan pelarut air. Ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi yaitu 100 g

serbuk yang direndam dalam etanol 70% sebanyak 1000 mL selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Pengadukan yang dilakukan sesekali secara teratur juga membantu agar semua bagian simplisia terendam dan kontak dengan cairan penyari merata. kemudian disaring lalu diendapkan dan diambil maseratnya. Maserat berupa ekstrak cair ini kemudian dilakukan pemekatan dengan cara ditangas diatas penangas air, dengan tujuan untuk menghilangkan pelarut yang digunakan selama maserasi. Hasil penguapan tersebut adalah ekstrak pekat yang berwarna coklat tua dengan konsistensi berupa pasta. Ekstrak kental yang diperoleh sebesar 25,89 g, sehingga rendemen yang diperoleh sebesar 25,89%. Ekstrak kental ini akan digunakan dalam uji aktivitas antibakteri.

### **Pengujian Aktivitas Antibakteri**

Uji ini dilakukan untuk mengetahui pengaruh ekstrak etanol daun kerehau terhadap pertumbuhan *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Konsentrasi ekstrak etanol daun kerehau yang digunakan pada penelitian ini adalah 10%, 25%, 50% dan 100% (b/v) yang telah digunakan pada penelitian sebelumnya.

Metode yang digunakan pada pengujian ini adalah metode kertas cakram (metode difusi agar). Metode ini digunakan karena memiliki kelebihan; mudah dilakukan, tidak memerlukan peralatan khusus dan relatif murah, sedangkan kelemahannya adalah ukuran zona bening yang terbentuk tergantung oleh kondisi inkubasi, inokulum, predifusi dan preinkubasi serta ketebalan medium. Apabila keempat faktor tersebut tidak sesuai maka hasil dari metode kertas cakram relatif sulit untuk ditentukan. Selain itu, metode kertas cakram ini tidak dapat diaplikasikan pada mikroorganisme yang pertumbuhannya lambat dan mikroorganisme yang bersifat anaerob

obligat<sup>(2)</sup>. Sebelum melakukan uji aktivitas antibakteri semua alat dan bahan disterilisasikan menggunakan *autoclave* dengan suhu 121°C selama 15 menit untuk mencegah terjadinya kontaminasi dengan mikroorganisme lain. Zat uji yang digunakan adalah ekstrak etanol daun kerehau dengan konsentrasi 10%, 25%, 50% dan 100% (b/v) yang sebelumnya ekstrak dibuat dalam bentuk larutan stok pada konsentrasi 100%.

Hasil uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun kerehau dengan konsentrasi 10%, 25%, 50% dan 100% (b/v) serta kloramfenikol 0,1% (b/v) sebagai kontrol positif dan Dimetil Sulfoksida 1% (v/v) sebagai kontrol negatif terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* dapat dilihat pada tabel 1 dan 2.

Berdasarkan hasil pada Tabel 1 dan 2 diketahui bahwa dengan meningkatnya

konsentrasi perlakuan maka meningkat juga zona hambat terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*, namun daya hambat tersebut lebih kecil bila dibandingkan dengan kontrol positif Kloramfenikol 0,1%. Hal ini dikarenakan kloramfenikol merupakan antibiotik dengan spektrum luas dan memiliki daya antimikroba yang kuat<sup>(7)</sup>.

Pada kontrol negatif larutan DMSO 1% tidak ada daya hambat yang dihasilkan karena DMSO hanya digunakan sebagai pengencer ekstrak untuk memperoleh ekstrak dengan kadar konsentrasi tertentu. Hal ini didasarkan pada sifatnya yang tidak toksik, yaitu tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak mengganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar<sup>(8)</sup>.

**Tabel 1.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau Terhadap *Escherichia coli*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)					Kontrol (+) Kloramfenikol 0,1%
	Kontrol (-) DMSO 1%	10%	25%	50%	100%	
1	0	0	9,6	12	18,2	21,8
2	0	0	9,75	12,6	17	20,6
3	0	0	9	11,9	16,9	23
<b>Rata-rata</b>	<b>0</b>	<b>0</b>	<b>9,45</b>	<b>12,21</b>	<b>17,38</b>	<b>21,85</b>

**Tabel 2.** Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau Terhadap *Staphylococcus aureus*

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)					Kontrol (+) Kloramfenikol 0,1%
	Kontrol (-) DMSO 1%	10%	25%	50%	100%	
1	0	7,6	9,4	13,5	20,8	23,8
2	0	7,2	10,5	13,2	20,4	23,6
3	0	7,3	9,5	14,2	20,5	24,7
<b>Rata-rata</b>	<b>0</b>	<b>7,3</b>	<b>9,85</b>	<b>13,65</b>	<b>20,58</b>	<b>24,05</b>

Sampel yang digunakan dalam pengujian antibakteri ini adalah ekstrak etanol daun kerehau yang memiliki daya antibakteri dikarenakan memiliki senyawa kimia berupa flavonoid, tanin, saponin dan terpenoid<sup>(3)</sup>. Senyawa tanin diduga memiliki kemampuan menghancurkan koloni bakteri dengan cara mengkerutkan dinding sel atau membran sel sehingga mengganggu permeabilitas sel bakteri. Akibat terganggunya permeabilitas, sel tidak dapat melakukan aktivitas hidup sehingga pertumbuhannya terhambat atau bahkan mati. Senyawa flavonoid merupakan kelompok senyawa fenol yang mempunyai kecenderungan untuk mengikat protein, sehingga mengganggu proses metabolisme sedangkan senyawa saponin termasuk dalam golongan alkaloid yang merupakan senyawa metabolit sekunder yang bersifat basa dan banyak terdapat pada tumbuhan dikotil, saponin merupakan zat aktif yang dapat meningkatkan permeabilitas membran sehingga terjadi hemolisis sel, apabila saponin berinteraksi dengan sel kuman, kuman tersebut akan pecah atau lisis<sup>(9)</sup>.

*Escherichia coli* merupakan bakteri flora normal yang ada di saluran pencernaan manusia dan hewan yang dapat berubah menjadi oportunistik patogen bila hidup diluar usus. Bakteri ini relatif sangat sensitif terhadap panas dan dapat di inaktifkan selama pemasakan makanan<sup>(10)</sup>.

*Staphylococcus aureus* penyebab berbagai jenis infeksi pada manusia, antara lain infeksi pada kulit, seperti bisul dan furunkolisis, infeksi yang lebih serius, seperti pneumonia, mastitis, flebitis, meningitis dan infeksi saluran urin. Selain itu, *Staphylococcus aureus* merupakan salah satu penyebab utama infeksi nosokomial akibat luka tindakan operasi dan pemakaian alat-alat perlengkapan perawatan dirumah sakit<sup>(11)</sup>.

Adanya perbedaan hasil uji daya hambat pada bakteri Gram positif dan Gram negatif dapat *dihubungkan* melalui perbedaan dinding sel bakteri. Data dari Tabel 1 dan 2 menunjukkan bahwa hambatan terbesar dapat diamati pada *Staphylococcus aureus* yang merupakan bakteri Gram positif. Umumnya bakteri Gram positif lebih peka terhadap senyawa antibakteri dibandingkan dengan bakteri Gram negatif karena dinding sel bakteri Gram positif tidak memiliki lapisan lipopolisakarida sehingga senyawa antimikroba yang bersifat hidrofilik maupun hidrofobik dapat melewati dinding sel bakteri Gram positif kemudian berinteraksi langsung dengan peptidoglikan pada sel bakteri yang sedang tumbuh dan menyebabkan kematian sel<sup>(12)</sup>.

David Stout (1971) dalam Christiani dkk (2015)<sup>(13)</sup> menjelaskan apabila diameter zona hambat yang terbentuk memiliki nilai  $\leq 5$  mm maka *daya* antibakterinya dikategorikan lemah, apabila zona hambat yang terbentuk memiliki nilai 5-10 mm maka *daya* hambat antibakterinya dikategorikan sedang, jika zona hambatnya yang terbentuk 10-20 mm maka *daya* hambat antibakterinya dikategorikan kuat dan bila luas zona hambatnya  $\geq 20$  mm masuk kategori sangat kuat.

Hasil yang diperoleh pengujian antibakteri terhadap *Escherichia coli* untuk konsentrasi 10% tidak memiliki zona hambat, hal ini diduga karena perbedaan bakteri Gram positif dan Gram negatif, *daya* aktivitas ekstrak yang telah menurun serta penyebaran suspensi bakteri ke media agar terlalu banyak sehingga zona hambat tidak terlihat, konsentrasi 25% dengan zona hambat sebesar 9,45 mm dengan respon hambatan sedang dan konsentrasi 50% dengan zona hambat sebesar 12,21 mm dengan respon hambatan kuat, konsentrasi 100% memiliki zona hambat sebesar 17,38 mm *daya* antibakterinya termasuk dalam

respon hambatan kuat dan untuk kontrol positif dengan zona hambat 21,85 mm daya antibakterinya termasuk dalam respon hambatan sangat kuat, dengan konsentrasi minimum yang dapat menghambat bakteri *Escherichia coli* pada konsentrasi 25%.

Hasil pengujian antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* untuk konsentrasi 10% dengan zona hambat sebesar 7,3 mm, konsentrasi 25% dengan zona hambat sebesar 9,85 mm termasuk dalam respon hambatan sedang dan untuk konsentrasi 50% dengan zona hambat 12,65 mm respon hambatan kuat dan untuk konsentrasi 100% memiliki zona hambat sebesar 20,58 mm termasuk dalam respon hambatan kuat, untuk kontrol positif memiliki zona hambat sebesar 24,05 mm termasuk dalam respon hambatan sangat kuat, dengan konsentrasi minimum yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10%.

Berdasarkan uji *distribusi* normal yang menguji apakah suatu nilai perbandingan berbed [=]pa bermakna atau sama dengan nilai rata-rata setiap perlakuan, jika rata-rata sampel ( $> 0,05$ ) maka sampel terdapat perbedaan bermakna dengan nilai perbandingan dan data dapat diterima, dari hasil uji *distribusi* normal didapatkan hasil yang signifikan untuk diameter rata-rata zona hambat yaitu  $0,890 > 0,05$  yang membuktikan bahwa data berdistribusi normal kemudian data dilanjutkan dengan uji *anova* yang bertujuan untuk menganalisa diameter rata-rata zona hambat, jika nilai signifikansi  $> 0,05$  maka rata-rata populasi dinyatakan sama dan data dapat diterima, hasil uji *anova* yaitu nilai signifikansi sebesar 0,000 yang menunjukkan bahwa terdapat perbedaan bermakna pada diameter rata-rata zona hambat karena  $< 0,05$  dan data tersebut ditolak.

Pada hasil *anova* ditemukan bahwa diameter rata-rata zona hambat adalah

berbeda bermakna maka dilanjutkan dengan uji setelah *anova* yaitu uji LSD (*Last Significant Differences*) merupakan prosedur pengujian perbedaan diantara rata-rata perlakuan yang paling sederhana dan paling umum dilakukan untuk uji perbandingan terencana tanpa memperhatikan perlakuan. Hasil dari uji LSD bahwa semua rata-rata konsentrasi mempunyai nilai signifikansi sama yang menunjukkan diameter rata-rata zona hambat memiliki perbedaan jarak yang tidak jauh karena setiap rata-rata konsentrasi zona hambat mempunyai jarak rata-rata yang sama seperti konsentrasi 100%.

#### SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang diperoleh, dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun kerehau memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. Hasil uji aktivitas antibakteri daun kerehau pada konsentrasi 25%, 50% dan 100% terhadap *Escherichia coli* berturut-turut adalah 9,45 mm, 12,21 mm dan 17,38 mm dan untuk kontrol positif adalah 21,85 mm sedangkan hasil uji aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* pada konsentrasi 10%, 25%, 50% dan 100% berturut-turut adalah 7,3 mm, 9,85 mm, 13,65 mm, dan 20,58 mm untuk kontrol positif adalah 24,05 mm. Daya antibakteri diukur menggunakan metode kertas cakram dan data dianalisis dengan *One Way Anova*, menunjukkan adanya perbedaan bermakna antara perlakuan dengan kontrol positif dan kontrol negatif.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Dewi, S, M., N, Handayani., S, Ngaisah., E, N, Seteyowati. Aktivitas Antibakteri Minyak Daun Sirih Merah (*Piper crocatum Ruiz & pav*) *Jurnal Penelitian Kimia Vol 9*.

2. Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 1996. *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi XXII. Jakarta : Buku Kedokteran EGC. Hal 170.
3. Stepanus. R. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Kerehau (*Callicarpa longifolia* Lamk) Terhadap *Propionibacterium acnes*. Karya Tulis Ilmiah. Samarinda : Akademi Farmasi Samarinda.
4. Departemen Kesehatan RI. 2008. Farmakope Herbal. Jakarta : DepKes RI. Hal 4-171.
5. Soemarno. 2000. Isolasi dan Identifikasi Bakteri Klinik. Yogyakarta. Akademi Analisis Kesehatan Yogyakarta Departemen Kesehatan RI.
6. Departemen Kesehatan RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat Cetakan Pertama. Jakarta : DepKes RI. Hal 10-11
7. Tjay, T. H. Dan Rahardja, K. 2007. Obat-Obat Penting: Khasiat, Penggunaan dan Efek-Efek Sampingnya. Jakarta : Elex Media Komputido.
8. Handyani, D., Deapati M., Marlina dan Meilan. 2009. Skrining Aktivitas Antibakteri Beberapa Biota Laut dari Perairan Pantai Painan. Karya Tulis Ilmiah. Padang : Fakultas Farmasi Universitas Andalas.
9. Poeloengan., Masniari., Praptiwi. 2010. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Manggis (*Garcinia mangostana* Lin). Skripsi. Malang : Universitas Negeri Malang.
10. Supardi, I dan Sukamto. 1999. Mikrobiologi Dalam Pengolahan dan Keamanan Pangan. Bandung : Penerbit Alumni Yayasan Adikarya
11. Radji, M. 2010. Buku ajar Mikrobiologi, Panduan mahasiswa farmasi & Kedokteran. EGC. Jakarta.
12. Yasni, S., Syammsir, E., dan Direja, E. 2009. Antimicrobial Activity of Black Cumin Extract (*Nigella sativa*) Against Food Pathogenic and Spoilage Bacteria. *Microbiology Indonesia*. (3). Hal 146-150.
13. Christiani, S., A. Fridayanti, R. Rusli. 2015. Aktivitas Antibakteri Akar Karamunting (*Melastoma malabathricum*). Prosiding Seminar Nasional Kefarmasian Ke-1. Samarinda.