

## AKTIVITAS ANTIBAKTERI KULIT BUAH SIRSAK (*ANNONA MURICATA L.*) DENGAN METODE KLT-BIOAUTOGRAFI

Herlina Rante<sup>1</sup>, Sitti Fauziah Noer<sup>2</sup>, M.Rusdi<sup>3</sup>, Rahmat Hidayat<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin

<sup>2</sup>Farmasi Universitas Islam Makassar

<sup>3</sup>Farmasi Universitas Islam Negeri Makassar

### ABSTRAK

Telah dilakukan uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata L.*) dengan metode KLT-bioautografi. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan adanya aktivitas antibakteri dan golongan senyawa kimia aktif dari ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata L.*) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara KLT Bioautografi. Ekstraksi simplisia kulit buah sirsak dilakukan secara maserasi dengan menggunakan cairan penyari etanol 96%. Dilakukan pengujian awal dengan metode difusi agar, dilanjutkan dengan pengujian KLT-Bioautografi dan pengujian golongan senyawa kimia aktif. Hasil penelitian menunjukkan ekstrak etanol kulit buah sirsak memberikan daya hambat terhadap bakteri *E.coli* dan *S.aureus* pada konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% dengan diameter hambatan (7,94 mm, 9,41 mm, 10,95 mm) dan (6,44 mm, 7,35 mm, 10,57 mm). Pemisahan secara KLT dengan eluenn-heksan : etil asetat (5:1) diamati pada lampu UV panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Pada pengujian KLT-Bioautografi ekstrak memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Escherichia coli* sedangkan pada bakteri *Staphylococcus aureus* ekstrak tidak memberikan aktivitas antibakteri.. Golongan senyawa kimia aktif yang memberikan aktivitas antibakteri secara KLT-Bioautografi dengan nilai Rf 0,83 diduga merupakan golongan senyawa terpenoid.

**Kata Kunci:** Ekstrak kulit buah sirsak, antibakteri, KLT-Bioautografi, Golongan senyawa kimia

### PENDAHULUAN

Penyakit infeksi masih merupakan jenis penyakit yang paling banyak diderita oleh penduduk dinegara berkembang, termasuk Indonesia (Radji, 2009). Infeksi merupakan suatu penyakit yang dapat ditularkan dari satu orang ke orang lain atau dari hewan ke manusia yang disebabkan oleh berbagai mikroorganisme seperti bakteri, virus, riketsia, jamur dan protozoa (Gibson, 1996). Infeksi bakteri dapat disebabkan oleh bakteri patogen yang bersifat bakterisid atau bakteristatik, infeksi ini dapat disembuhkan dengan menggunakan antibakteri.

Senyawa yang bersifat antibakteri dapat diperoleh dari tanaman yang berkhasiat obat yang ada disekitar kita sebagaimana firman Allah Subhanahuwata'ala dalam Al-Qur'an surah An-Nahl ayat 10:

هُوَ الَّذِي أَنْزَلَ مِنَ السَّمَاءِ مَاءً لَكُمْ مِنْهُ شَرَابٌ وَمِنْهُ شَجَرٌ

فِيهِ شُجُومٌ

Terjemahnya:

Dialah, Yang telah menurunkan air hujan dari langit untuk kamu, sebahagiannya menjadi minuman dan sebahagiannya menyuburkan tumbuh-tumbuhan, yang pada (tempat tumbuhnya) kamu mengembalakan ternakmu (Departemen Agama, 2012).

Ayat di atas mengingatkan adanya kekuasaan Allah Subhanallahuwata'ala dalam dunia tumbuhan yang penuh dengan tanda-tanda keagungan dan keperkasaan-Nya. Kekuasaan Allah subhanahu wa ta'ala terlihat pada keanekaragaman tumbuh-tumbuhan yang mempunyai susunan dan bentuk luar yang berbeda-beda. Setiap tanaman yang ditumbuhkan oleh Allah subhanahu wa ta'ala tentunya memiliki kegunaan yang berbeda-beda pula (Ghoffar, 2004).

Salah satu tanaman obat yang digunakan untuk pengobatan adalah sirsak. Penggunaan sirsak sebagai obat-obatan sebenarnya bukan suatu hal yang baru di Indonesia secara turun-temurun, sirsak telah digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia untuk mengobati beberapa penyakit. Masyarakat di Sunda (Jawa Barat) menggunakan buah sirsak yang masih muda untuk penurun tekanan darah tinggi. Selain itu masyarakat di Aceh menggunakan buah sirsak sebagai obat penyakit hepatitis dan daunnya sebagai obat batuk. Pemanfaatan sirsak untuk obat telah dilakukan oleh masyarakat Minahasa (Sulawesi Utara) yaitu dengan memanfaatkan daun mudanya sebagai obat bisul batu agar cepat pecah. Di daerah Sulawesi Selatan, daun sirsak biasanya digunakan sebagai obat penurun panas dengan cara di tempelkan pada badan atau ditumbuk lalu dibalurkan pada bagian kepala dan punggung (Mardiana dkk, 2011).

Menurut penelitian Permatasari (2013) Uji Daya Hambat Perasan Daun Sirsak Terhadap Pertumbuhan Bakteri *Escherichia coli* menunjukkan bahwa perasan daun sirsak dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* secara nyata. Semakin besar konsentrasi perasan daun sirsak maka semakin besar daya hambatnya terhadap pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*.

Menurut Penelitian Lestiani (2013) Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus* beserta Bioautografinya menunjukkan bahwa ekstrak etanol daging buah sirsak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *pseudomonas aeruginosa*, *staphylococcus aureus* dan *shigella sonnei* dengan kadar hambat minimum (KHM) masing-masing sebesar 1,5%, 0,5% dan 0,75%.

Berdasarkan uraian di atas didapatkan permasalahan yakni apakah ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) memiliki aktivitas antibakteri dan golongan senyawa kimia apakah yang ada di dalam ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) yang memberikan aktivitas antibakteri.

Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan adanya aktivitas Antibakteri dari ekstrak etanol kulit buah sirsak dan untuk mengetahui golongan senyawa kimia aktif dari ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap bakteri *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* secara KLT-Bioautografi.

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan yang digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah autoklaf, cawan porselin, cawan petri, corong, gelas kimia, lampu spiritus, mikro pipet, gelas ukur 50 ml, inkubator, spektrofotometri UV-Vis, laminar air flow, oven, penangas air, tabung reaksi, chamber, botol eluen, penotol, lampu UV, Rotavapor dan wadah maserasi.

Bahan-bahan yang digunakan adalah air suling, aluminium klorida, biakan murni bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, Dimethyl sulfoxide (DMSO), Dragendrof HCl, ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.), etanol 96%, etil asetat, feri klorida, heksan, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, lempeng KLT, Lieberman-Burchard, NaCl 0,9% dan Nutrien Agar (NA)

### B. Prosedur Penelitian

#### 1. Pengolahan sampel

Bagian yang digunakan yaitu kulit buah sirsak dicuci dengan air mengalir sampai bersih lalu dipotong-potong kecil. Kemudian ditimbang sampel segarnya, lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan

pada suhu kamar lalu diserbukkan dan diekstraksi dengan etanol 96% dengan menggunakan metode maserasi.

#### 2. Ekstraksi sampel

Sampel kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) ditimbang sebanyak 200 gram kemudian dimasukkan ke dalam wadah maserasi, lalu ditambahkan etanol 96% sebanyak 500 mL dan dibiarkan selama 2 hari dengan pengadukan sesekali dalam bejana tertutup dan terlindung dari cahaya. Setelah itu disaring dan ampasnya direndam lagi dengan cairan penyari yang baru hal ini dilakukan sebanyak 2 kali. Hasil penyarian yang didapat kemudian diuapkan dengan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak etanol kental.

### C. Pengujian Aktivitas Antibakteri

#### 1. Peremajaan bakteri uji

Peremajaan kultur murni bakteri uji berupa bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, diambil dari biakan masing-masing satu ose kemudian diinokulasi pada medium NA miring. Masing-masing bakteri diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Setelah itu dapat digunakan sebagai mikroba uji.

#### 2. Pembuatan suspensi bakteri uji

Mikroba uji hasil peremajaan, masing-masing disuspensikan dengan larutan NaCl fisiologis 0,9% dan dimasukkan ke dalam kuvet, kemudian diukur transmittannya menggunakan spektrofotometer dengan panjang gelombang 580 nm pada 25%. Sebagai blanko digunakan NaCl fisiologis 0,9% steril.

#### D. Pengujian awal antibakteri

Medium NA steril didinginkan hingga suhu 40-45°C kemudian sebanyak 15 mL dicampur dengan 0,1 mL suspensi bakteri uji yang telah disiapkan, dituang secara aseptis ke dalam cawan petri dan dibiarkan hingga memadat.

Paper disc dengan diameter 6 mm ditetaskan dengan 20 µL ekstrak etanol kulit buah sirsak untuk masing-masing konsentrasi uji kemudian diletakkan secara aseptis pada permukaan medium yang telah memadat. kontrol negatif digunakan DMSO. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya diukur daerah hambatan yang terbentuk.

#### E. Pemisahan secara Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Lempeng KLT diaktifkan dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C selama 30 menit sebelum digunakan. Ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) yang menunjukkan daya hambat ditotolkan pada lempeng KLT ukuran 7x1 cm dengan

menggunakan pipa kapiler, lalu dielusi dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (5:1) di dalam chambernya. Lempeng dikeluarkan dari chamber diangin-anginkan hingga cairan pengelusnya menguap. Kemudian kromatogram yang dihasilkan diamati nodanya di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm, serta penampakan noda penyemprotan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10 % dan dihitung nilai Rf-nya.

#### F. Uji KLT- Bioautografi

Hasil pemisahan KLT dilanjutkan dengan uji KLT-Bioautografi langsung dengan cara media NA steril sebanyak 10 ml yang dituang ke dalam cawan petri steril, lempeng KLT yang telah dielusi dengan eluen n-heksan : etil asetat (5:1) diletakkan di atas permukaan medium agar yang telah disuspensi dengan mikroba uji dan dibiarkan selama 60 menit. Setelah itu lempeng tersebut diangkat dan dikeluarkan. Selanjutnya media diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

#### G. identifikasi golongan senyawa kimia dengan pereaksi semprot

1. Dilakukan identifikasi senyawa kimia yang aktif antibakteri meliputi pereaksi penampak bercak alkaloid, flavonoid, fenolik dan terpenoid. Untuk penampak bercak beberapa senyawa tertentu yaitu kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi yang spesifik untuk golongan senyawa tertentu diantaranya Aluminium klorida (AlCl<sub>3</sub>), Dragendorf-HCl, Ferri klorida (FeCl<sub>3</sub>), Lieberman-burchard
2. **Identifikasi golongan senyawa kimia**  
Kromatogram disemprot dengan menggunakan pereaksi untuk masing-masing senyawa kimia berikut :
  - a. Identifikasi flavanoid  
Pereaksi Aluminium klorida  
Dipanaskan kromatogram pada suhu 110°C selama 10 menit dan setelah disemprot diamati noda yang berflourosensi pada lampu UV 366 nm, noda yang berflourosensi kuning adalah senyawa golongan flavanoid.
  - b. Identifikasi alkaloid  
Pereaksi Dragendorf-HCL  
Setelah disemprot di keringkan di udara, tampak bercak berwarna jingga.
  - c. Identifikasi fenolik  
Pereaksi FeCl<sub>3</sub>  
Diamati bercak noda pada kromatogram yang telah disemprot dengan pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Setelah lempeng disemprot dikeringkan di udara akan tampak bercak berwarna hijau atau biru. Warna biru terbentuk karena terjadi kompleks dengan ion Fe. Noda tersebut adalah senyawa fenolik.
  - d. Identifikasi terpenoid  
Pereaksi Liberman-Burchard  
Dipanaskan kromatogram yang telah disemprot pereaksi dalam oven pada suhu

100°C selama lebih kurang 10 menit. Diamati noda yang berflourosensi pada lampu UV, noda yang berflourosensi tampak bercak ungu adalah senyawa golongan terpenoid.

#### HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) dimana buah yang digunakan merupakan buah yang sudah matang. Kulit buah dipilih karena dikalangan masyarakat pada umumnya kulit buah sirsak hanya menjadi limbah, selain itu untuk pemanfaatannya sebagai bahan obat alam juga masih sangat kurang.

Simplisia kulit buah sirsak diekstraksi menggunakan pelarut etanol 96% dengan metode maserasi. Hasil ekstraksi simplisia sebanyak 200 gram dengan menggunakan pelarut sebanyak 1,5 Liter diperoleh ekstrak etanol kental sebanyak 16,61 gram dan persen rendamen sebanyak 8,30%. Metode ekstraksi secara maserasi dipilih karena dilihat dari tekstur sampel yang lunak cocok diekstraksi secara maserasi, selain itu metode ini tidak menggunakan pemanasan pada prosesnya sehingga aman untuk senyawa yang rusak dengan suhu tinggi yang terkandung dalam sampel (Ditjen POM, 1986).

Digunakan pelarut etanol 96% karena memiliki kandungan air yang sedikit sehingga menghindari rusaknya ekstrak karena tumbuhnya mikroba dan tidak toksik, serta bersifat semipolar sehingga dapat menarik senyawa yang bersifat polar maupun non polar (Robinson, 1995).

Hasil pegujian awal aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.), menunjukkan daya hambat pada 3 konsentrasi uji yakni pada konsentrasi 2,5%, 5% dan 10% dengan diameter daerah hambatan pada bakteri *E. coli* sebesar 7,94 mm, 9,41 mm dan 10,95 mm. Pada bakteri *S. aureus* memiliki diameter daerah hambatan sebesar 6,44 mm, 7,35 mm dan 10,57 mm, sedangkan pada konsentrasi 1,25% tidak menunjukkan adanya daya hambat terhadap bakteri uji. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif untuk membuktikan bahwa zona hambat yang terbentuk bukan disebabkan oleh DMSO, melainkan disebabkan oleh senyawa-senyawa antibakteri yang terdapat dalam ekstrak etanol kulit buah sirsak. Hasil pengukuran diameter daerah hambat menunjukkan hasil yang berbeda pada tiap konsentrasi, hal ini disebabkan karena adanya kandungan zat yang berbeda. Peningkatan konsentrasi umumnya diikuti dengan peningkatan diameter daerah hambatan, hal ini disebabkan oleh beberapa faktor seperti kemampuan dari laju difusi bahan aktif dalam ekstrak pada medium, laju pertumbuhan organisme, kepekaan organisme terhadap zat

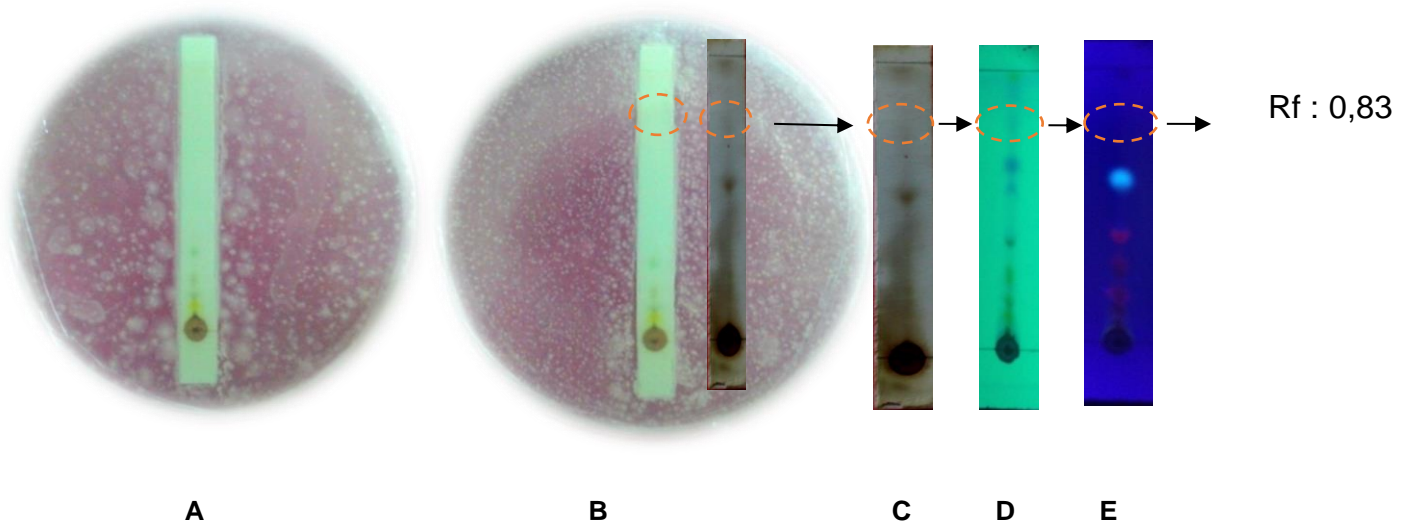
aktif dan viskositas suatu medium (Barnet, 1992).

**Tabel 1. Hasil pengujian awal antibakteri ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.)**

Bakteri uji	Diameter zona hambatan (mm)			
	1,25%	2,5%	5%	10%
<i>E. coli</i>	-	7,94	9,41	10,95
<i>S. aureus</i>	-	6,44	7,35	10,57
Kontrol	-	-	-	-

Pengujian selanjutnya secara KLT-Bioautografi, karena metode ini merupakan pengujian lanjutan yang berfungsi mengetahui golongan senyawa kimia yang manakah yang memberikan aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.). Pemilihan metode ini karena merupakan metode yang paling efisien untuk mendeteksi komponen antibakteri, sebab dapat melokalisir aktivitas meskipun dalam senyawa aktif tersebut terdapat dalam bentuk senyawa kompleks dan dapat pula diisolasi langsung dari komponen yang aktif (Djide, 2005).

Pada pengujian ini ekstrak hanya memberikan aktivitas antibakteri pada bakteri *E. coli* dengan nilai Rf 0,83 sedangkan pada bakteri *S. aureus* ekstrak tidak memberikan aktivitas antibakteri seperti terlihat pada gambar 3. Kemampuan suatu ekstrak menghambat pertumbuhan bakteri dipengaruhi oleh sifat dinding sel bakteri. Bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif mempunyai dinding sel yang berbeda sensitivitasnya terhadap perlakuan fisik, enzim dan antibiotik (Jawetz et al., 2005).



**Gambar 3. Hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.)**

**Keterangan:**

- A : Gambar 3. Hasil pengujian KLT-Bioautografi ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap bakteri *S. aureus*
- B : Hasil Pengujian KLT-Bioautografi ekstrak eyanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) terhadap *E.coli*
- C : Kromatogram pada penyemprotan H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%
- D : Kromatogram yang tampak pada UV 254 nm
- E : Kromatogram yang tampak pada UV 366 nm

Hasil penelitian menunjukkan bahwa larutan uji lebih mudah menghambat bakteri Gram negatif dibandingkan dengan bakteri Gram positif, hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan komposisi dan struktur dinding sel pada bakteri Gram negatif dan bakteri Gram positif. Perbedaan aktivitas antibakteri pada penelitian ini disebabkan oleh faktor perbedaan kepolaran dari senyawa yang terkandung dalam sampel uji. Diduga ekstrak kulit buah sirsak yang aktif lebih bersifat non polar, sehingga senyawa aktif yang keluar lebih banyak bersifat non polar dan membuat lebih mudah terikat pada dinding sel bakteri Gram negatif yang lebih banyak mengandung lipid. Sementara bakteri Gram

positif merupakan bakteri yang memiliki dinding sel terdiri dari 90% peptidoglikan yang mampu mengikat senyawa polar sehingga lebih memberi efek penghambat terhadap senyawa yang lebih polar (Jawetz *et al.*, 2005).

Pada pengujian lanjutan dilakukan identifikasi golongan senyawa kimia aktif. Dari hasil pengujian golongan senyawa kimia yang memberikan aktivitas antibakteri diduga merupakan golongan senyawa terpenoid setelah dilakukan identifikasi dengan menggunakan pereaksi Liebermann-Bouchard dengan penampakan warna noda ungu kehitaman dengan nilai Rf 0,83.

**Tabel 2. Hasil pengujian identifikasi golongan senyawa kimia aktif dari kromatogram ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (5:1)**

No	Rf	Pereaksi penampak bercak	Warna pada senyawa kimia	Golongan
1	0,83	Liebermann-Bouchard	Ungu kehitaman	(+) Terpenoid
2	0,83	AlCl <sub>3</sub>	Bercak tidak Berpendar dalam UV 366 nm	(-) Flavonoid
3	-	Dragendorf	-	(-) Alkaloid
4	-	FeCl <sub>3</sub>	-	(-) Fenolik

Ekstrak etanol kulit buah sirsak memiliki aktivitas antibakteri karena adanya kandungan senyawa terpenoid yang terdapat dalam ekstrak tersebut. Mekanisme kerja terpenoid sebagai antibakteri adalah dengan porin (protein transmembran) pada membran luar dinding sel bakteri, membentuk ikatan polimer kuat sehingga mengakibatkan rusaknya porin. Rusaknya porin yang merupakan pintu keluar masuknya senyawa akan mengurangi permeabilitas dinding sel bakteri yang mengakibatkan sel bakteri akan kekurangan nutrisi, sehingga pertumbuhan bakteri terhambat atau mati (Cowan, 1999).

**KESIMPULAN**

Berdasarkan hasil penelitian, analisis data, dan pembahasan yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Ekstrak etanol kulit buah sirsak (*Annona muricata* L.) memberikan aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli* sedangkan pada bakteri *S. aureus* ekstrak tidak memberikan aktivitas antibakteri.
2. Golongan senyawa kimia aktif yang memberikan aktivitas antibakteri secara KLT

Bioautografi dengan nilai Rf 0,83 diduga merupakan golongan senyawa terpenoid.

**DAFTAR PUSTAKA**

Barnet, M. F., (1992). Microbiology Laboratory Complete Versian, WM. C. Brown Publisher. Dubuge, Indiana.

.Departemen Agama RI., (2012). *Al-Qur'an dan terjemahannya*. Jakarta.

Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, (1986). *Sediaan Galenika*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.

Djide, M. N., Sartini, dan Kadir., (2005). *Analisis Mikrobiologi Farmasi, Laboratorium Mikrobiologi Farmasi dan Bioteknologi Farmasi*, Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Hasanudin. Makassar.

Gibson, J. M., (1996). *Mikrobiologi dan Patologi Modern untuk Perawat*, Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.

Ghoffer, E. M., Muthi, A., dan Alatsari, A. I., (2004). *Al-qur'an tafsir ibnu Katsir*, Pustaka Iman Asy-syafi'i. Jakarta.

- Jawetz, E., J. L, Melnick dan E. A, Adelberg, (2005). *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan* Edisi 4. Penerbit Buku Kesehatan Jakarta.
- Kusumaningtyas, E., Sukmawati, L., dan Astute, E., (2008). *Penentuan Golongan Bercak Senyawa aktif Ekstrak n-heksan Alpinia galanga terhadap Candida albicans dengan Bioautografi dan Kromatografi Lapis Tipis*, Universitas Pancasila, Srengseng Sawah Jagakarsa. Jakarta.
- Lestiani, F. F., (2013). *Aktivitas Anibakteri Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak (Annona muricata L.) terhadap Pseudomonas aeruginosa, Shigella sonnei, Staphylococcus aureus beserta Bioautografinya*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta. Surakarta.
- Mardiana, L., dan Ratnasari, J., (2011). *Ramuan dan Khasiat Sirsak*. Penerbit Penebar Swadaya. Jakarta.
- Radji, M., (2009). *Buku Ajar Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi dan Kedokteran*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta.