



JURNAL BIOSAINS

(Journal of Biosciences)

<http://jurnal.unimed.ac.id/2012/index.php/biosains>

email : jbiosains@unimed.ac.id



UJI TOKSISITAS (LC50 - 24 JAM) EKSTRAK KULIT JENGKOL *Pithecellobium jiringa*) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach

TOXICITY TEST (LC50 - 24 HOURS) *Pithecellobium jiringa* SKIN EXTRACT EXTRACT ON *Artemia salina* Leach SHRIMP LARVA

Indah Sinaga, Rosliana, Riyanto

Fakultas Biologi Universitas Medan Area

ABSTRACT

The objective of this experiment is to determine the amount of toxicity levels (LC50-24 jam) peel extract of Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) against larvae of the *Artemia salina*. The observation method consists of three stages : Observasi, Eksploratory, Full scale test. The concentrations used in the observation were 0%, 5%, 10%, and 15%. In the Eksploratory stage, the concentrations used were 0%, 1%, 3%, 5%, 7%, and 9%. And for the Full scale test concentrations used were 0%, 4%, 4,5%, 5%, 5,5%, and 6%. The result of toxicity test (LC50-24 jam) peel extract of Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) showed that the optimum dose is 5,5% which has mortality 51.1% to the larvae of the *Artemia salina*.

Key words : Toksistisitas, Ekstrak, *Pithecellobium jiringa*, *Artemia salina*, Concentration.

Pendahuluan

Sebagai salah satu negara tropis yang kaya sumber daya hayati, Indonesia memiliki ± 30.000 spesies tumbuhan, dan baru ± 7000 spesies di antaranya yang dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat obat, baik sebagai antiinflamasi, antikanker, antimikroba. Dengan kata lain masih banyak spesies tumbuhan di Indonesia yang belum dikenal manfaatnya, sehingga berpeluang untuk diteliti lebih lanjut. Banyak tanaman saat ini yang telah dikenal secara luas ternyata memiliki manfaat dan nilai ekonomis yang cukup tinggi, khususnya tanaman-tanaman yang memiliki khasiat, baik sebagai obat tradisional maupun sebagai insektisida alami (Kardianan, 2001). Salah satu tanaman yang banyak dikenal dan digunakan secara luas oleh masyarakat Indonesia adalah buah jengkol (*Pithecellobium jiringa*). Buah jengkol mudah sekali ditemukan dan didapatkan hampir di seluruh Indonesia. Masyarakat Indonesia telah sejak lama menggunakan buah jengkol sebagai hidangan sehari-hari dan juga telah lama dipercaya dan digunakan sebagai obat tradisional untuk mengobati berbagai macam penyakit. Hal inilah yang mengundang banyak penelitian mengenai buah jengkol, mulai dari kandungan kimia yang ada didalamnya sampai manfaat atau khasiat yang dapat diperoleh dari buah jengkol sendiri maupun kulitnya. (Tjokronegoro, 1998).

Kulit jengkol selama ini tergolong limbah organik yang melimpah dipasar tradisional dan sampai saat ini masih merupakan limbah yang tidak dimanfaatkan dan tidak memberikan nilai ekonomis. Sampah organik ini dapat mencemari lingkungan dan memberi kontribusi pada banjir yang terjadi di daerah Medan (Hutasuhut, 2012). Tidak hanya di propinsi Sumatera Utara, di propinsi lain juga sampah organik ini tidak dimanfaatkan. Bahkan daerah Pontianak mengeluarkan peraturan untuk menangkap masyarakat yang membuang kulit jengkol sembarangan. Hal tersebut menunjukkan bahwa perhatian akan kulit jengkol masih sangat kurang, terbukti dengan dikategorikannya kulit jengkol sebagai sampah organik yang mengganggu (Lay, 2009).

Senyawa kimia yang khas dalam tanaman jengkol adalah asam jengkolat. Senyawa ini merupakan asam amino alifatik yang mengandung sulfur dan bersifat toksik (Hyeronimus, 2008). Selain asam jengkolat di dalam tanaman jengkol terdapat glikosida, protein, karbohidrat, kalsium, fosfor, vitamin A dan B1, minyak atsiri, saponin, alkaloid, terpenoid, flavonoid, serta tannin yang berpotensi sebagai insektisida, larvasida dan zat toksik terhadap wereng coklat (Pitojo, 1995). Ekstrak etanol kulit jengkol juga dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri terhadap

Streptococcus mutans, dan *Escherichia coli* (Nurussakinah, 2010).

Senyawa aktif yang terdapat dalam tumbuhan hampir selalu toksik pada dosis tinggi. Oleh karena itu perlu dilakukan uji toksisitas untuk mengetahui efek toksik dan ambang batas penggunaan suatu tumbuhan sebagai obat. Uji toksisitas dapat dilakukan dengan menggunakan larva udang *Artemia salina* (Purwakusuma, 2007). larva *Artemia* merupakan organisme sederhana dari biota laut yang sangat kecil dan mempunyai kepekaan yang cukup tinggi terhadap toksik (Pujiati et al., 2002). Selain itu *Artemia salina* memiliki keistimewaan yaitu memiliki toleransi (kemampuan beradaptasi) pada kisaran garam yang sangat luas, waktu siklus hidup yang lebih cepat, dan mudah dibiakan (Makalalag, 2011). Bila bahan yang diuji memberikan efek toksik terhadap larva udang, maka hal ini merupakan indikasi awal dari efek farmakologi yang terkandung dalam bahan tersebut. Beberapa penelitian menunjukkan bahwa *A. salina* memiliki korelasi positif terhadap ekstrak yang bersifat bioaktif (Meyer et al., 1982). Berdasarkan uraian diatas maka peneliti mencoba memanfaatkan ekstrak kulit jengkol sebagai zat toksik terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Berdasarkan latar belakang yang telah diuraikan diatas, maka rumusan masalah dalam penelitian ini adalah berapakah kadar toksisitas (LC50-24 jam) ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

Bahan dan Metode

Waktu dan tempat

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Maret sampai dengan April 2015 di Laboratorium Kimia Universitas Medan Area.

Bahan dan Alat Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini antara lain kulit jengkol, larva *Artemia salina*, air laut buatan, metanol, n-heksan, aquades, HCl 2 N, FeCl₃, KI, Iodine (I₂), asam asetat pa, H₂SO₄ (p.a).

Alat-alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain aerator, water bath, cawan petridish, labu takar, Beaker glass, gelas ukur, spatula, pipet tetes, neraca analitik, mortal dan alu, saringan, kertas label, stopwatch, dan alat dokumentasi.

Penelitian dilakukan dengan metode eksperimental yaitu dengan pengujian ekstrak kulit jengkol terhadap hewan uji yaitu larva udang *Artemia salina* Leach. Penelitian ini terdiri dari 3

tahap yaitu : observasi, eksploratory, dan full scale test untuk mendapatkan nilai LC50 dalam 24 jam.

Penyediaan ekstrak kulit jengkol

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah kulit jengkol yang sudah tua. Kulit jengkol segar ditimbang sebanyak 100 gram dan dipotong kecil-kecil. Lalu dikeringkan dengan cara dijemur dipanas matahari dengan kadar air mencapai 10%. Kemudian kulit jengkol yang telah kering digiling kemudian diayak dengan ayakan berukuran 150 mesh, lalu dimaserasi dengan metanol dan n-heksan dan didiamkan selama 24 jam. Kemudian dipanaskan diatas water bath dengan suhu 70oC untuk menguapkan pelarutnya sehingga diperoleh ekstrak kasar metanol dan n-heksan kulit jengkol. selanjutnya kedua ekstrak tersebut di skrining fitokimia.

Penyediaan larva Udang Artemia salina Leach

Larva *Artemia salina* diperoleh dengan cara menaburkan kista *Artemia* pada air laut buatan dengan cara melarutkan garam tidak beriodium ke dalam air yang telah dialiri udara dengan menggunakan aerator. Konsentrasi yang digunakan adalah 2% yaitu dengan melarutkan 20 g garam tiap 1 L air. Setelah didiamkan selama 18-20 jam kista akan menetas menjadi larva. Setelah menetas larva dipelihara hingga berumur 48 jam yang digunakan untuk uji toksisitas.

Aklimasi Hewan Uji

Larva udang *Artemia salina* diaklimatisasi selama 4 jam yang bertujuan untuk adaptasi larva, pada setiap petri digunakan 20 larva.

Observasi

Tahapan pertama yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu observasi. Observasi bertujuan untuk mengetahui konsentrasi ekstrak yang menyebabkan mortalitas hewan uji 50 % selama 24 jam. Variasi konsentrasi yang digunakan yaitu 0%, 5%, 10%, 15%. Pada observasi ini digunakan 1 media sebagai kontrol dengan volume tiap petri 100 ml dan tiga ulangan. seperti pada gambar 4 bagan berikut ini. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan selang waktu satu jam.

Hasil Dan Pembahasan

Data yang diperoleh dari hasil uji observasi, eksploratory, dan full scale test dianalisis menggunakan ANOVA, apabila ada beda nyata dilanjutkan dengan LSD. Rancangan percobaan yang digunakan dalam uji mortalitas adalah Rancangan Acak Lengkap (RAL). Kemudian data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan korelasi dan regresi untuk mendapatkan nilai LC50 dalam 24 jam.

Tabel 1. Hasil observasi ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* selama 5 jam

Konsentrasi Ekstrak	Larva tiap petri	ULANGAN			Jumlah Larva mati	Rata-rata Mortalitas	(%)
		I	II	III			
P0 (kontrol)	20	0	0	0	0	0	0%
P1 (5%)	20	9	10	9	28	9,3	46,5%
P2 (10%)	20	15	16	15	46	15,3	76,5%
P3 (15%)	20	20	20	20	60	20	100%

Tabel diatas memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah mortalitas larva udang temia salina akan semakinmeningkat. Berdasarkan ANOVA dari data hasil observasi menunjukan ada beda nyata mortalitas pada setiap konsentrasi. kemudian dari nilai ANOVA dilanjutkan dengan LSD dan diperoleh mortalitas tertinggi pada konsentrasi 15%.

Data yang diperoleh dari hasil observasi kemudian dianalisis dengan perhitungan korelasi dengan nilai $r = 0,975$, menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi dengan mortalitas

yang sangat kuat yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka mortalitas larva udang *Artemia salina* akan semakin meningkat. Dari nilai korelasi dilanjutkan dengan persamaan garis regresinya yaitu $y = 1,32x + 1,25$ seperti pada gambar 7 grafik persamaan regresi linier dibawah ini. Jika konsentrasi atau $y = 0$ maka mortalitas atau $x = 0,95$ sedangkan jika $y = 10$ maka $x = 6,6$ maka nilai ini menjadi acuan untuk tahapan uji eksploratory.

Hasil eksploratory uji toksisitas ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap larva udang *Artemia salina* selama 24 jam memperlihatkan data sebagai berikut.

Tabel 2. Hasil eksploratory ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* selama 24 jam

Konsentrasi Ekstrak	Larva tiap petri	ULANGAN			Jumlah Larva Mati	Rata-rata Mortalitas	(%)
		I	II	III			
P0 (kontrol)	20	0	0	0	0	0	0%
P1 (1%)	20	3	3	2	8	2,7	13,5%
P2 (3%)	20	6	7	6	19	6,3	31,5%
P3 (5%)	20	9	10	10	29	9,7	48,5%
P4 (7%)	20	13	11	14	38	12,7	63,5%
P5 (9%)	20	17	15	13	45	15	75%

Tabel eksploratory memperlihatkan bahwa jumlah mortalitas larva udang *Artemia salina* akan semakin meningkat. Berdasarkan ANOVA dari data hasil eksploratory menunjukan ada beda nyata mortalitas pada setiap konsentrasi. kemudian dari nilai ANOVA dilanjutkan dengan LSD dan diperoleh mortalitas tertinggi pada konsentrasi 9%. Data yang diperoleh dari hasil eksploratory kemudian dianalisis dengan perhitungan korelasi dengan nilai $r = 0,99$ menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi dengan mortalitas yang sangat kuat

yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka mortalitas larva udang *Artemia salina* akan semakin meningkat. Dari nilai korelasi dilanjutkan dengan persamaan garis regresinya yaitu $y = 1,65x + 0,8$ seperti pada gambar 8 grafik persamaan regresi linier dibawah ini. Jika konsentrasi atau $y = 0$ maka mortalitas atau $x = 0,48$ sedangkan jika $y = 10$ maka $x = 5,57$ maka nilai ini menjadi acuan untuk tahapan uji full scale test.

Hasil full scale test uji toksisitas ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap larva udang *Artemia salina* selama 24 jam memperlihatkan data sebagai berikut.

Tabel 3. Hasil full scale test ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap larva udang *Artemia salina* selama 24 jam

Konsentrasi Ekstrak	Larva tiap petri	ULANGAN			Jumlah Larva mati	Rata-rata Mortalitas	(%)
		I	II	III			
P0 (kontrol)	20	0	0	0	0	0	0%
P1 (4%)	20	8	8	8	24	8	40%
P2 (4,5%)	20	9	7	10	26	8,7	43,5%
P3 (5%)	20	9	10	9	28	9,3	46,5%
P4 (5,5%)	20	9	11	11	31	10,3	51,5%
P5 (6%)	20	12	12	10	34	11,3	56,5%

Tabel diatas memperlihatkan bahwa semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka jumlah mortalitas larva udang *Artemia salina* akan semakin meningkat. Berdasarkan ANOVA dari data hasil full scale test menunjukkan ada beda nyata mortalitas pada setiap konsentrasi. kemudian dari nilai ANOVA dilanjutkan dengan LSD dan diperoleh mortalitas tertinggi pada konsentrasi 6%.

Data yang diperoleh dari hasil full scale test kemudian dianalisis dengan perhitungan korelasi dengan nilai $r = 0,99$ menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi dengan mortalitas yang sangat kuat yaitu semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka mortalitas larva udang *Artemia salina* akan semakin meningkat. Dari nilai korelasi dilanjutkan dengan persamaan garis regresinya yaitu $y = 1,87x + 0,1$ seperti pada gambar 9 grafik persamaan regresi linier dibawah ini. Jika konsentrasi atau $y = 0$ maka mortalitas atau $x = 0,05$ sedangkan jika $y = 10$ maka $x = 5,29$. Maka nilai LC50-24 jam ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap mortalitas larva udang *Artemia salina* yang paling efektif yaitu konsentrasi 5,5% dengan mortalitas 51,5%.

Senyawa bioaktif yang terkandung didalam ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) antara lain triterpenoid, alkaloid, flavonoid, saponin, dan tanin merupakan zat asing bagi tubuh larva. dimana senyawa triterpenoid memegang peranan sebagai anti feedant yaitu menghambat dalam proses makan larva, sedangkan kandungan senyawa lainnya seperti senyawa alkaloid dapat menyebabkan gangguan sistem pencernaan karena alkaloid bertindak sebagai racun perut yang masuk melalui mulut larva. (Soparat, 2010). Sedangkan menurut (Ambarningrum et al., 2009) senyawa flavonoid bersifat menghambat makan larva dan juga bersifat toksik. Kandungan kulit jengkol lainnya adalah tanin yang dapat mengganggu larva dalam mencerna makanan karena tanin akan mengikat protein dalam sistem pencernaan yang diperlukan

larva untuk pertumbuhan sehingga proses penyerapan protein dalam sistem pencernaan menjadi terganggu. Tanin menekan nafsu makan, tingkat pertumbuhan, dan kemampuan bertahan (Novizan, 2002). Zat lain yang terdapat dalam kulit jengkol adalah saponin yang memiliki sifat seperti deterjen sehingga dinilai mampu meningkatkan penetrasi zat toksin karena dapat melarutkan bahan lipofilik dalam air. Selain itu, saponin juga memiliki rasa pahit sehingga menurunkan nafsu makan larva kemudian larva akan mati karena kelaparan (Hopkins et al., 2004).

Menurut Siswowitzojo dalam Prastiwi (2007), gejala yang muncul bila larva mengalami keracunan terjadi dalam empat fase, yaitu fase perangsangan, kejang-kejang, kelumpuhan dan diakhiri dengan tingkah laku larva dari keadaan yang biasa. Kemudian menjalar sampai tingkat antena dan bagian mulut, gejala ini dilanjutkan pada tingkat kelumpuhan dan berlanjut pada organ respirasi dan akhirnya mengalami kematian. Pengamatan untuk gejala efek sublethal pada uji toksisitas ini antara lain larva sering muncul permukaan dan frekuensinya sangat lama yang mengindikasikan bahwa kebutuhan oksigen yang terlarut dalam air berkurang, sehingga larva sering permukaan untuk memenuhi kebutuhan oksigen. Gejala lain adalah respon terhadap rangsang berkurang ditandai dengan agresivitas berkurang saat disentuh. Keadaan ini sebagai gejala aktif yang ditimbulkan akibat senyawa bioaktif dalam ekstrak kulit jengkol yang bersifat toksik.

Kesimpulan

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kadar toksisitas (LC50-24 jam) ekstrak kulit jengkol (*Pithecellobium jiringa*) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. yang efektif yaitu 5,5% dengan persentase mortalitas 51,5%.

Daftar Pustaka

- Abatzopoulos, Th. J., Beardmore, J. A., Clegg, J.S., dan Sorgeloos, P. 1996. *Biology of Aquatic Organism: Artemia-Basic and Applied Biology*. <http://www.captain.at/artemia/> [25 Agustus 2009]. [skripsi]. UNSEMAR, Surakarta, 2010.
- Ambarningrum T.B., Praktinyo H., dan Priyanto S. 2009. Indeks Nutrisi Dan Kesintasan Larva Spodoptera Litura F. Yang Diberi Pakan Mengandung Ekstrak Kulit Jengkol (*Pithecellobium lobatum* Benth.). *J.HPT Tropika*. 9 (2): 109-114
- Anonim, 2009. Petroleum Ether. <http://www.itbaker.com/msds/englishhtml/P1696.htm>. Diakses Tanggal 28 November 2009
- Atmoko ,T dan A, Ma'ruf. 2009. Uji Toksisitas Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Tumbuhan Sumber Pakan Orang Utan Terhadap Larva *Artemia salina* Leach. *Jurnal penelitian Hutan Dan Konservasi Alam VI* (1): 39.
- Elysa, 2011. Uji Efek Ekstrak Etanol Biji Jengkol (*Pithecellobium jiringa*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar yang diinduksi Aloksan. Skripsi. Sumatera Utara : Universitas Sumatera Utara.
- Emslie, S 2003. *Artemia salina* Leach.-Brine Shrimp-Ses Monkeys. http://www.animaldiversity.ummz.umich.edu/site/accounts/information/Artemia_salina.html [21 April 2009].
- Hopkins, W. G. and N. P. A.HOner. 2004. *Introduction to Plant Physiology*. Third Edition. John Wiley and Sons, Inc. Ontario.
- Hutahuruk, J.E., (2010), Isolasi Senyawa Flavonoida Dari Kulit Buah Tanaman Jengkol (*Pithecellobium lobatum* Benth.), Skripsi, FMIPA, USU
- Hutasuhut, A.B., (2012), Banjir, Jengkol, Rahudman,<http://www.hariansumutpos.com/2012/01/23377/banjir-jengkol-rahudman.html>, 13 Maret 2012.
- Hyeronimus S.B 2008. *Ragam dan Khasiat Tanaman Obat*. 1st ed. Agro Media. Jakarta.
- Kanwar, A.S. 2007. Brine Shrimp (*Artemia salina*) a Marine Animal for Simple and Rapid Biological Assays. *Chinese Clinical Medicine* 2 (4): 35-42.
- Kardinan, A. 2001. *Pestisida nabati, ramuan, dan aplikasi*. PT Penebar Swadaya, Jakarta.
- Lay, A., (2009), *Pembuang Kulit Jengkol sedang Diintai*, <http://www.borneotribune.com/pontianak-kota/pembuang-kulit-jengkol-sedang-diintai.html>, Jumat, 6Maret 2009, 14:58
- Makalalag, A. *Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Turi (Sesbania Gandiflora Pers)*. [skripsi]. UNSRAT, Manado, 2011.
- Meyer, B.N., N.R. Ferrighni, J.E. Put-nam, L.B. Jacobson, D.E. Nichols and J.L McLaughlin, 1982. *Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent*. *Planta Me-dica*. 45 : 31-34.
- Mudjiman, A. 1995. *Makanan Ikan*. Jakarta:PT. Penerbit Swadaya.
- Novizan. 2002. *Membuat dan Memanfaatkan Pestisida Ramah Lingkungan*. Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Nurussakinah, (2010), *Skrining Fitokimia dan Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kulit Buah Tanaman Jengkol (Pithecellobium jiringa (Jack) Prain) Terhadap Bakteri Streptococcus mutans, Staphylococcus aureus, dan Eschericia coli*, Skripsi, Fakultas Farmasi, USU, Medan
- Opinion. 15 Januari 2008. *Artemia, Pakan Alami Berkualitas untuk Ikan dan Udang*. <http://www.opinion.com/MembangunIndonesia.htm> [27 April 2009]
- Pitoyo, 2004. *Artemia salina*(kegunaan, Biologi dan Kulturanya). INFIS Manual Seri No.12. Direktorat Jendral Perikanan dan International Development Research Centre.
- Prastiwi, DT. 2007 *Indeks Pertumbuhan Larva Nyamuk Aedes aegypti yang terdedah dalam Ekstrak Kulit jengkol*. Unsoed. Pwt.
- Pulungan, A. S. S. (2017). *Aktivitas Antijamur Ekstrak Etanol Daun Kunyit (Curcuma longa LINN.) Terhadap Jamur Candida albicans*. *BIOLINK (Jurnal Biologi Lingkungan, Industri, Kesehatan)*, 3(2), 124-128.
- Pujiati, I., S. Ningsih, S. Palupi dan Tri Windono, 2002. Uji toksisitas ter-hadap larva *Artemia salina* Leach. Dari fraksi n-heksan, khloroform, etil asetat dan air ekstrak etanol rimpang temungga (*Curcuma mangga* VaL). *Prosiding Seminar Nasional Tumbuhan Obat Indonesia XXI*. Universitas Surabaya, Surabaya : 109-115.
- Purwakusuma, Wahyu, (2007), *Artemia salina (Brine Shrimp)*. <http://www.ofish.com/PakanIkan/artemia.php>. 30 Oktober 2007.
- Soparat, S. 2010. *Chemical Ecology and Function of Alkaloids*. <http://pirun.ku.ac.th/~g4686045/media/alkaloid.pdf>.

Tjokronegoro, R.K., Sofjatin, T., Supatmijati, J.1998.
Pemanfaatan Kulit Jengkol Sebagai
Insektisida : isolasi dan Identifikasi
Pemula dari Senyawa-senyawa Aktif.
Laporan Penelitian (tidak dipublikasikan).
FMIPA Universitas Padjadjaran, Bandung.