

AKTIVITAS ANTIJAMUR EKSTRAK n-BUTANOL DARI DAUN TREMBESI (*Albizia saman* (Jacq.) Merr) TERHADAP JAMUR *Candida albicans* DAN PENENTUAN TOTAL FLAVONOID

Adi Djona Silaen*, Wiwik Susanah Rita, I Made Dira Swantara

*Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Udayana,
80361 Bali-Indonesia

*adidjonasilaen24@gmail.com

ABSTRAK. Daun trembesi (*Albizia saman* (Jacq) Merr) belum banyak dimanfaatkan oleh banyak orang meskipun daun trembesi dapat digunakan sebagai obat antijamur. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas ekstrak n-butanol daun trembesi terhadap jamur *Candida albicans* serta mengetahui kandungan total flavonoid pada ekstrak n-butanol. Ekstraksi daun trembesi dilakukan menggunakan metode maserasi dan partisi, pengujian aktivasi antijamur dengan metode sumur difusi, dan penentuan kandungan total flavonoid dilakukan dengan Spektrofotometer UV-Vis. Maserasi 700 g serbuk daun trembesi menghasilkan 68,95 g ekstrak etanol. Hasil partisi menggunakan n-heksana, kloroform, dan n-butanol berturut-turut 34,59; 8,92; dan 4,23 g. Hasil uji antijamur terhadap *C. albicans* menunjukkan bahwa ekstrak n-butanol 30% memiliki aktivitas yang paling tinggi. Nilai Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dari ekstrak n-butanol sebesar 10% dengan diameter hambat 7 mm.

Kata kunci: daun trembesi (*Albizia saman* (Jacq) Merr), antijamur, *Candida albicans*, flavonoid

ABSTRACT. Leaves of Trembesi (*Albizia saman* (Jacq) Merr) has not been used commonly by people eventhough the leaves can be applied as antifungal. The aims of this study were to reveal the activity n-butanol extract against *Candida albicans* and to determine the total content of flavonoid. Extraction of the trembesi leaves was done by maceration and partition method. The antifungal activity was determined by wells diffusion method, and determination of the total flavonoid was done by UV-Vis Spectrophotometer. Maceration of 700 grams of the trembesi leaves produced 68.95 grams of crude ethanol extract. The partition process using n-hexane, chloroform, and n-butanol produced 34.59, 8.92, and 4.23 grams of extracts respectively. The results of antifungal test on *C. albicans* showed that 30% of n-butanol extract had the highest activity compared to the extract of n-hexane and chloroform. The Minimum Inhibitory Concentration (MIC) value of n-butanol extract was 10% with an inhibition diameter of 7 mm.

Keyword: Leaves of trembesi (*Albizia saman* (Jacq) Merr), antifungal, *Candida albicans*, flavonoid

1. PENDAHULUAN

Jamur *Candida albicans* (*C. albicans*) merupakan salah satu penyebab penyakit kandidiasis yang dapat mengganggu kesehatan manusia. Penyakit tersebut dapat menyerang segala usia, baik laki-laki

maupun wanita [1]. Jamur tersebut dapat terjadi pada mulut, tenggorokan, vagina, masuk ke dalam aliran darah dan menyebar ke berbagai organ seperti ginjal, limpa, jantung dan otak [2]. Teknik pengendalian jamur *C. albicans* selama ini masih banyak

menggunakan nystatin, amfoterisin B dan golongan azol [3]. Obat-obat tersebut mempunyai beberapa efek samping seperti mual dan muntah. Penggunaan jangka lama dari obat antijamur ini juga dapat menyebabkan kerusakan hati [4]. Salah satu cara untuk mencegah pertumbuhan jamur *C. albicans* adalah dengan pemanfaatan tanaman yang mengandung metabolit sekunder [5].

Tanaman trembesi merupakan salah satu tanaman yang dapat dimanfaatkan sebagai antijamur. Menurut [6] ekstrak daun trembesi mampu menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, dan *Staphylococcus aerus*, dan jamur *Candida albicans*. Berdasarkan skrining fitokimia yang dilakukan menunjukkan adanya senyawa flavonoid, tanin, steroid, saponin, terpenoid, dan glikosida kardiak. Pada penelitian [7] dilaporkan bahwa senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak n-butanol daun trembesi memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *E. coli*. Pada penelitian [8] ekstrak n-butanol daun trembesi memiliki aktivitas flavonoid sebagai antijamur dikarenakan pembentukan kompleks dengan protein jamur melalui ikatan hidrogen, sehingga dapat menonaktifkan enzim dari jamur

Salah satu senyawa flavonoid genestein, berfungsi menghambat pembelahan atau proliferasi sel jamur. Senyawa ini mengikat protein mikrotubulis dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga menimbulkan penghambatan pertumbuhan jamur. Senyawa flavonoid memiliki peran yang dimana dapat membentuk senyawa kompleks terhadap protein ekstraseluler yang mengganggu integritas membran dan dinding sel serta dapat mengganggu metabolisme sel dengan cara menghambat transport sel. Menurut [9], flavonoid dari ekstrak trembesi dapat menghambat pertumbuhan jamur *Fusarium* sp. dengan kategori sedang pada konsentrasi 10%. Senyawa flavonoid pada daun salam dapat menghambat pertumbuhan jamur *candida albicans*. Senyawa flavonoid golongan

flavon pada daun manga bacang dapat menghambat pertumbuhan jamur *candida albicans* secara *in vitro* [10].

Pada penelitian ini dilakukan uji aktivitas ekstrak n-butanol dari daun trembesi (*AlbiziaSaman* (Jacq.) Merr) sebagai antijamur *Candida albicans* dan kandungan total flavonoid.

2. METODE

Bahan dan Peralatan

Bahan yang digunakan adalah daun trembesi yang diperloeh di jalan kapten tantular, renon, Denpasar Bali. Jamur uji yang digunakan adalah jamur *Candida albicans*. Bahan kimia yang digunakan adalah etanol (teknis), n-heksana (teknis), kloroform (p.a), n-butanol (p.a), metanol (p.a), etil asetat (p.a), tween 80%, kentang, agar-agar, dextro, akuades, silika gel G₆₀, plat KLT GF₂₅₄, aluminium klorida (AlCl₃), asam klorida (HCl) pekat, asam sulfat (H₂SO₄) pekat, logam Mg, asam borat (H₃BO₃), natrium hidroksida (NaOH), kalium bromida (KBr), dan mikonasol 2%.

Alat yang digunakan adalah seperangkat alat gelas, corong pisah, statif dan klem, pengaduk kaca, tabung reaksi, neraca, pipet tetes, blender, pisau, kain kasa, kertas saring, penguap putar vakum (*rotatory vacuum evaporator*), autoklaf, incubator, alat vortex, cawan petri, aluminium foil, kapas, penangas air, dan ultraviolet-visible (UV-Vis).

Ekstraksi Daun Trembesi

Serbuk halus daun trembesi sebanyak 700 g dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama ± 24 jam, pelarut ditambahkan sampai serbuk terendam pelarut seluruhnya. Campuran selanjutnya disaring, filtrat yang diperoleh ditampung dan ampas yang tersisa kembali dimaserasi dengan menggunakan pelarut yang sama. Maserasi dilakukan sebanyak 2 kali pengulangan. Ekstrak etanol digabungkan dan diuapkan dengan menggunakan alat penguap putar vakum (*rotary vacuum evaporator*) pada tekanan rendah dan temperatur ± 40° C sampai

diperoleh ekstrak kental etanol. Ekstrak pekat etanol selanjutnya dilarutkan dengan campuran etanol:air (7:3), etanol yang terdapat dalam campuran kemudian diuapkan sehingga diperoleh ekstrak air. Ekstrak air kemudian dipartisi berturut-turut dengan n-heksana, kloroform, dan n-butanol, sehingga diperoleh tiga fraksi yaitu fraksi n-heksana, kloroform, dan n-butanol. Hasil partisi dari ketiga fraksi selanjutnya diuapkan, ditimbang, serta diuji flavonoid dengan pereaksi pendeteksi flavonoid dan antijamur.

Uji Flavonoid

Uji flavonoid terhadap ekstrak dan fraksi dilakukan dengan beberapa pereaksi. Uji Bate Smith-Matcalfe dimana sejumlah tertentu sampel ditambahkan H_2SO_4 pekat dan dipanaskan selama 15 menit diatas penangas air. NaOH 10% dimana sejumlah tertentu sampel ditambahkan NaOH 10%.

Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Metode yang digunakan dalam penentuan kadar flavonoid total adalah metode kolorimetri dengan kuersetin (QE) sebagai standar [11].

Sebanyak 0,0498 gram sampel (ekstrak n-butanol) dilarutkan ke dalam labu ukur 5 mL menggunakan etanol 50% dan disaring. Filtrat yang dihasilkan kemudian direaksikan dengan etanol 50% dengan perbandingan 125 μ L ekstrak dan 250 μ L etanol 50%. Ekstrak tersebut dimasukkan pada tabung reaksi kemudian ditambahkan 500 μ L $AlCl_3$. Larutan selanjutnya dikocok hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit. Pengukuran absorbansi dilakukan pada panjang gelombang 415 nm. Absorbansi sampel diinterpolasi ke dalam persamaan regresi linier pada kurva standar.

Uji Aktivitas Antijamur

A. Pembuatan Media *Potato Dextro Agar* (PDA)

Kentang yang akan dijadikan media PDA dikupas dan dicuci dengan air bersih.

Sebanyak 150 gram kentang ditimbang, kemudian dipotong kecil-kecil. Kentang direbus dengan air sebanyak 250 mL. Rebusan kentang disaring dan filtratnya ditampung dalam gelas beker, lalu ditambahkan dengan 20 gram agar, 10 gram glukosa, dan akuades sampai volume akhir 500 mL, kemudian dipanaskan. Larutan tersebut dimasukkan ke dalam tabung reaksi masing-masing berisi 10 mL larutan, lalu ditutup dengan kapas, dan dibungkus dengan aluminium foil. Media kemudian disterilisasi dengan autoklaf selama 11-15 menit. Media ini siap digunakan untuk uji antijamur.

B. Pembuatan Suspensi Jamur

Jamur hasil isolasi yang telah dibiakkan ditambah dengan akuades steril dan dikocok. Suspensi jamur dimasukkan ke dalam media PDA.

C. Pengujian Aktivitas Antijamur

Uji aktivitas antijamur ekstrak daun trembesi terhadap jamur patogen *C. albicans* dilakukan dengan metode sumur difusi. Sepuluh buah cawan petri disiapkan, dalam satu cawan petri diisi 5 atau 6 lubang sumur uji. Cawan petri yang telah berisi 10 mL media PDA dan 200 μ L suspensi jamur didiamkan hingga memadat. Setelah padat, dibuat sumur difusi sebanyak 6 buah dengan diameter 5 mm pada setiap cawan petri menggunakan *cork borer*, sebanyak 20 μ L masing-masing ekstrak (n-heksana, kloroform, dan n-butanol) dengan konsentrasi 8; 10; 20; 30; 40; dan 50 %, kontrol positif (mikonazol 2%), kontrol negatif (tween 10%) masing-masing dimasukkan ke dalam setiap sumur difusi. Analisis data untuk pengujian antijamur menggunakan uji *Least Significance Different* (LSD) dengan nilai $P < 0,05$

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Uji Fitokimia Senyawa Flavonoid Dalam Daun Trembesi

Ekstraksi 700 g serbuk kering daun trembesi selama \pm 24 jam dengan

Tabel 1. Hasil Uji Flavonoid dari Ekstrak n-heksana, Kloroform, dan n-Butanol

Ekstrak	Perubahan warna		
	NaOH 10%	Mg-HCl	Ket
n-heksana	Hijau-hijau	Hijau-hijau	(-) Flavonoid
Kloroform	Hijau-kuning kemerahan	Hijau-orange	(+) Flavonoid
n-butanol	Merah bata-kuning	Cokelat-merah bata	(+) Flavonoid

Tabel 2. Hasil Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Trembesi dalam Konsentrasi 30% (b/v)

Ekstrak Uji	Diameter Hambat
Ekstrak n-heksana	0
Ekstrak kloroform	0
Ekstrak n-butanol	9
Kontrol positif (mikonazol 2%)	14
Kontrol negatif (tween 10 %)	0

menggunakan 5 L teknis 96% menghasilkan 68,95 g ekstrak kental etanol yang berwarna hijau pekat. Proses partisi dilakukan dengan menggunakan n-heksana, kloroform, dan n-butanol yang menghasilkan 34,53 g ekstrak n-heksana, 8,92 g ekstrak kloroform, dan 4,23 g ekstrak n-butanol. Selanjutnya masing-masing ekstrak dilakukan uji flavonoid.

Hasil uji fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak n-heksana tidak menunjukkan perubahan warna yang mengindikasikan tidak mengandung senyawa flavonoid, ekstrak kloroform menunjukkan intensitas warna yang lemah, dan n-butanol yang paling positif mengandung flavonoid karena saat penambahan pereaksi warna menunjukkan perubahan warna yang khas untuk senyawa flavonoid. Hasil uji flavonoid ketiga ekstrak disajikan pada Tabel 1.

Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Trembesi

Hasil uji aktivitas antijamur ekstrak terhadap *C. albicans* dipaparkan pada Tabel 2 dan Gambar 1. Tabel 2 menunjukkan bahwa ekstrak n-butanol daun trembesi dengan konsentrasi 30% (b/v) mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* dengan rata-rata diameter hambat sebesar 9mm. Berdasarkan kategori daya

hambat [12], hasil tersebut menunjukkan bahwa senyawa aktif dari ekstrak n-butanol daun trembesi dapat menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans* dengan daya hambat <10 mm, maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak n-butanol memiliki aktivitas antijamur dengan kategori lemah terhadap jamur *C. albicans*. Sedangkan ekstrak n-heksana dan kloroform dari daun trembesi dalam konsentrasi 30% tidak mampu menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*. Kontrol negatif tween10% tidak memberikan aktivitas yang dapat disimpulkan bahwa hanya ekstrak n-butanol yang memberikan aktivitas. Kontrol positif menggunakan mikonazol 2% yang memberikan aktivitas dengan diameter hambat 14 mm.

Berdasarkan zona hambat yang terbentuk pada ekstrak n-butanol karena memiliki senyawa flavonoid yang lebih besar. Ekstrak n-heksana dan kloroform tidak memiliki kadar flavonoid yang cukup untuk menghambat pertumbuhan jamur, hal ini disebabkan pada proses partisi senyawa flavonoid dari daun trembesi tidak banyak terekstrak dalam pelarut n-heksana dan kloroform. Flavonoid memiliki aktivitas dimana dapat mengikat ergosterol dari membran jamur sehingga jamur tidak dapat berkembang biak [13].

Pengujian Aktivitas Antijamur *C. albicans* Dengan Berbagai Konsentrasi

Pengujian aktivitas antijamur dilakukan pada ekstrak n-butanol karena memiliki aktivitas yang paling tinggi terhadap jamur *C. albicans*. Hasil pengujian antijamur dengan berbagai konsentrasi disajikan pada Gambar 2 dan Tabel 3. Ekstrak n-butanol memiliki nilai KHM sebesar 10% dengan diameter hambat 7 mm.

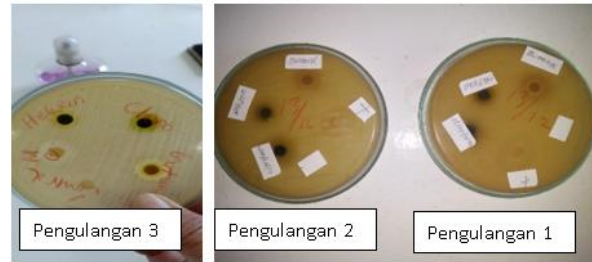
Untuk mengetahui ada atau tidaknya perbedaan yang signifikan antar konsentrasi, maka dilakukan analisis statistika menggunakan Uji One Way ANOVA. Berdasarkan Tabel 3 dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan yang signifikan antar konsentrasi dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Namun, pada konsentrasi pada konsentrasi 30 dan 40 % tidak menunjukkan perbedaan nyata dalam menghambat pertumbuhan jamur *C. albicans*.

Berdasarkan Tabel 3. Menunjukkan bahwa semakin meningkatnya konsentrasi ekstrak semakin besar juga diameter hambat yang diperoleh. Hasil ini didukung oleh penelitian [14] bahwa minyak esensial dari tanaman jeringau dengan konsentrasi tinggi memberikan diameter hambat yang semakin besar dalam menghambat jamur *C. albicans*. Sehingga jika dilihat pada Tabel 3 dapat dikatakan bahwa ekstrak n-butanol pada konsentrasi 10% adalah konsentrasi minimum dalam menghambat jamur *C. albicans* dengan diameter hambat 7 mm.

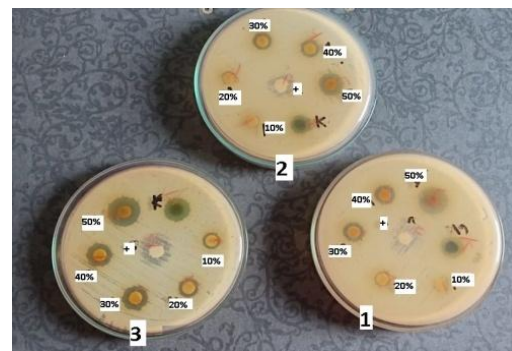
Tabel 3. Hasil Pengujian Aktivitas Antijamur dengan Berbagai Konsentrasi terhadap Jamur *C. albicans*

Konsentrasi (%)	Diameter hambat
8	0 ^a
10,0	7 ^b
20,0	8 ^c
30,0	11,3 ^d
40,0	11,6 ^d
50,0	14,5 ^c

*Angka yang diikuti dengan huruf yang sama menunjukkan tidak berbeda nyata berdasarkan Duncan Multiple Range Test pada sig <0,05



Gambar 1. hasil uji aktivitas antijamur ekstrak n-heksana, kloroform, dan n-butanol daun trembesi terhadap *C. albicans* pada konsentrasi 30%

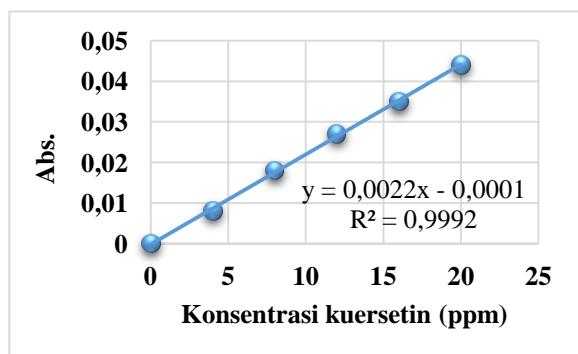


Gambar 2. Hasil aktivitas antijamur ekstrak n-butanol daun trembesi terhadap *C. albicans*

Penentuan Kandungan Total Flavonoid

Penentuan kandungan total flavonoid dilakukan terhadap ekstrak n-butanol yang positif mengandung flavonoid dan memiliki aktivitas antijamur yang tertinggi. Dalam penentuan kandungan total flavonoid digunakan kuersetin (QE) sebagai larutan standar. Kuersetin termasuk senyawa flavonoid kuat golongan flavonol yang mempunyai gugus keto pada atom C-4 serta gugus hidroksi pada C-3 atau C-5 yang bertetangga. Flavonol diketahui sebagai senyawa penciri adanya flavonoid karena keberadaannya yang banyak tersebar pada tumbuhan [15]. Kandungan total flavonoid dari ekstrak n-butanol sebesar 2,12% atau 2120 mg QE/100g. Kadar total flavonoid diperoleh dari perhitungan berdasarkan persamaan regresi linier kurva standar kuersetin yang dapat dilihat pada Gambar 3. Persamaan regresi linier untuk

absorbansi kuersetin konsentrasi 0, 4, 8, 12, 16, 20 ppm yaitu $y = 0,0022x - 0,0001$ dengan nilai koefisien korelasi (r) sebesar 0,9992



Gambar 3. Kurva standar kuersetin

Menurut Rita *et al.*, [16] kontribusi flavonoid juga dapat mengganggu membran jamur yang menyebabkan terganggunya fungsi permeabilitas selektif dan fungsi transport aktif.

4. SIMPULAN

1. Ekstrak n-butanol daun trembesi (*Albizia saman* (Jacq) Merr) mampu menghambat pertumbuhan jamur *Candida albicans* dengan nilai KHM sebesar 10 % yang memberikan diameter hambat sebesar 7mm.
2. Kandungan total flavonoid dalam ekstrak n-butanol sebesar 2,12%

UCAPAN TERIMA KASIH

Terima kasih penulis sampaikan kepada semua pihak yang telah membantu sehingga tulisan ini dapat terselesaikan.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Colombo A.L., Nucci M., Park B.J., Arthington S.B, *et al.*, 2004, *Epidemiology od Candidemia in Brazil: A Nationwide Sentinel Surveillance of Candidemia in Eleven Medical Center.* J Clin Microbiology, 44 (8): 2816-23.
- [2] Maria M.S., 2009, *Candida Albicans.* Departemen Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Sumatera Utara, Medan.

- [3] Sharma P.C., More S.R., Sharmila S.R., 2013. In Vitro Antifungal Susceptibility Spattern of Oropharyngeal and Oesophageal *Candida* spesies in HIV Infected Patients. *International Journal of Health Sciences and Research*, 3(5): 1-6.
- [4] Rianto S., Bahroelim B., 2011. *Obat Jamur dalam Farmakologi dan Terapi* FKUI, ed ke-5, Badan Penerbit FKUI, Jakarta.
- [5] Karlina, C.Y., Muslimin, I., Guntur, T., 2013. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Herba Krokot (*Portulaca oleraceae L.*) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *LenteraBio*, 2 (1): 87-93.
- [6] Prasad, R.N., Viswanathan, S., Devi, J.R., Nayak, Swetha, V.V.C., Archana, B.R., Parathasarathy, N., and Rajkumar, J., 2008. Short Communication, Preliminary phytochemical screening and antimicrobial activity of *Samanea saman*, *Journal of Medicinal Plants Research*, 2 (10): 268-270.
- [7] Suteja, I.K.P., Rita, W.S., Gunawan, I.W.G., 2016. Identifikasi Dan Uji Aktivitas Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Albizia Saman* (Jacq.) Merr) Sebagai Antibakteri *Escherichia Coli*. *Jurnal Kimia*, 10 (1): 141-148.
- [8] Rita, W. S., Swantara, I. M. D., Asih, I. A. R. A., Sinarsih, N. K., dan Suteja, I. K. P., 2016. Total flavonoid and phenolic contents of n-butanol extract of *Samanea saman* leaf and the antibacterial activity towards *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, *AIP Conference Proceedings*, 1718: 060005-1–060005-6.
- [9] Sariningsih, P., Rita, W.S., Puspawati, N.M., 2015. Identifikasi dan Uji Aktifitas Senyawa Flavonoid Dari Ekstrak Daun Trembesi (*Samanea sama* (Jacq.) Merr) Sebagai Pengendali Jamur *Fusarium* sp. Pada Tanaman Buah Naga. *Jurnal Kimia* 9 (1): 20-26.

- [10] Imani, A.Z., 2014. Uji Kativitas Antijamur Iekstrak Etanol Daun Mangga Bacang (*Mangifera foetida* L.) Terhadap *Candida albicans* Secara In Vitro, *Jurnal Mahasiswa PSPD FK Universitas Tanjungpura* 3 (1): 1-18.
- [11] Chang, C., Yang, M., Wen, H., and Chem, J., 2002, Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods, *Journal Food Drug Analysis*, 10: 178-182.
- [12] Puthera, A., Agung, G.N., dan Duniaji, A.S., 2007. Mempelajari Pengaruh Konsentrasi Ekstrak Rimpang Lengkuas (*Alpinia galanga*) terhadap Pertumbuhan *Aspergillus flavus* pada KacangTanah (*Arachis hypogaea* L.).*Labora Medika*, 4(2): 131-136.
- [13] Filho, A.A.D.O., Oliveira, H.M.B.F.D., Sousa, J.P.D., Meireles, D.R.P., Maia, G.L.D.A., Filho, J.M.B., Junior, J.P.D.S., Lima, E.D., 2016. In Vitro anti-Candida Activity and Mechanism of Action of The Flavonoid Isolated from *Praxelis clematidea* Against *Candida albicans* Species. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 6(1): 066-069.
- [14] Rita, W.S., Kawuri, R., Swantara, I.M.D., 2017. The Essential Oil Content of Jeringau (*Acorus calamus* L.) Rhizomes and Their Antifungal Activity Against *Candida albicans*. *Journal of Health Sciences and Medicine UNUD Journals*, 1(1): 33-38.
- [15] Azizah, D. N., Kumolowati, E., dan Faramayuda, F., 2014. Penetapan Kadar Flavonoid Metode AlCl₃ Pada Ekstrak Metanol Kulit Buah Kakao (*Theobroma cacao* L.), *Jurnal Ilmiah Farmasi*, 2 (2): 45-49.
- [16] Rita, W. S., Kawuri, R., Swantara, I. M. D., 2018. Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antimicrobial activity of *Acorus calamus* L. Rhizome Ethanol Extract. *Res. J. Chem. Environ* 22 (2): 65-70