

Aktivitas Antibakteri Resin Pinus terhadap *Staphylococcus aureus* (Antimicrobial Activities of Pines Resin against *Staphylococcus aureus*)

Rita K Sari^{1,2}, Irmanida Batubara^{2,3*}, Mardho Tillah³, Dudi Tohir³

¹Departemen Hasil Hutan Fakultas Kehutanan, Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga, Bogor 16680

²Pusat Studi Biofarmaka Tropika LPPM, Institut Pertanian Bogor, Jalan Taman Kencana No 3, Bogor, 16128

³Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Institut Pertanian Bogor, Kampus Dramaga, Bogor, 16680

*Penulis korespondensi: rita_kartikasari@apps.ipb.ac.id

Abstract

Previous research showed that *n*-hexane extract of *Pinus oocarpa* resin was the most potential extract among extracts of *Pinus* resin from Indonesia as antibacterial against *Staphylococcus aureus*. The purpose of this study were to separate the active antibacterial component of *n*-hexane *P. oocarpa* resin extract and characterize the functional groups of its most active fractions. The component were separated by silica gel column chromatography and detected by antibacterial bioautography method. Fraction F1 is the most active from 11 fractions. Furthermore, F1 separated further by preparative thin layer chromatography and sephadex LH-20 column chromatography. Three fractions (F1.1.1-F1.1.3) retrieved from the separation by sephadex LH-20 column. Furthermore F1.1.2 had the minimum inhibitory concentration and minimum bactericidal concentration of 125 and 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ respectively against *S. aureus* by microdilution method. Characterization of fraction F1.1.2 using Fourier transformed infrared (FTIR) spectrophotometer shows that this fraction allegedly containing diterpenoid compounds..

Keywords: antibacterial, bioautography, *Pinus oocarpa*, resin, separation

Abstrak

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana resin *Pinus oocarpa* merupakan yang paling potensial sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memisahkan senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa* dan mengkarakterisasi gugus fungsi fraksi teraktif tersebut. Komponen yang paling potensial dipisahkan dengan metode kromatografi kolom silika gel dan dideteksi antibakteri dengan metode bioautografi. Fraksi F1 merupakan yang paling aktif dari 11 fraksi. Selanjutnya F1 dilanjutkan pemisahannya dengan metode kromatografi kolom lapis tipis preparatif dan kromatografi kolom Sephadex. Tiga fraksi (F1.1.1–F1.1.3) diperoleh dari pemisahan dengan kolom Sephadex. F1.1.2 mempunyai nilai konsentrasi hambat minimum dan konsentrasi bunuh minimum masing-masing 125 dan 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$ terhadap *S. aureus* dengan metode mikrodilusi. Pencirian fraksi F1.1.2 menggunakan spektrofotometer FTIR menunjukkan fraksi F1.1.2 diduga mengandung senyawa diterpenoid.

Kata kunci: antibakteri, bioautografi, *Pinus oocarpa*, pemisahan, resin

Pendahuluan

Resin merupakan salah satu kelompok hasil hutan bukan kayu yang potensial dikembangkan di Indonesia. Resin sebagai sumber daya terbarukan hutan alam dianggap sebagai produk yang memiliki nilai ekonomi yang bermakna di seluruh dunia, karena merupakan bahan baku untuk produksi berbagai bahan kimia sekunder. Produksi gondorukem (resin pinus) Indonesia pada tahun 2015 sebesar 69718 dan kopal (resin agatis) sebesar 242 ton (BPS 2015, Perhutani 2016) yang menjadikan Indonesia sebagai produsen resin pinus peringkat kedua dunia setelah Tiongkok dan penghasil resin agatis terbesar hingga 80% dari total produksi di dunia (FAO 2010).

Secara tradisional, getah pinus telah digunakan untuk mengobati peradangan, untuk meringankan gejala batuk, dan untuk mengurangi rasa sakit. Dalam pengobatan Cina, getah pinus digunakan untuk pengobatan penyakit kulit, terbakar dan luka melepuh, tuberkulosis paru, dan baik sebagai antiseptik (Yang *et al.* 2010). Penelitian telah menunjukkan bahwa getah pinus terdiri dari abietana dan asam diterpena pimarana, yang dilaporkan memiliki banyak fungsi biologis dan farmakologis, termasuk antitumor, anti-inflamasi, antibakteri, dan antioksidan (Toro *et al.* 2003, Assimopoulou *et al.* 2005, Dimkick *et al.* 2016).

Staphylococcus aureus merupakan patogen manusia yang paling umum berkolonisasi pada sepertiga orang yang sehat di seluruh dunia. Bakteri ini juga sebagai agen etiologi untuk sejumlah besar infeksi manusia, termasuk pneumonia, meningitis, *toxic shock syndrome*, dan endokarditis. *S. aureus*

terkenal cepat mengembangkan resistensi terhadap antibiotik (Mun *et al.* 2013). Beberapa studi menunjukkan bahwa resin alami dari genus Pinus memiliki aktivitas antibakteri. Himejima *et al.* (1992) melaporkan resin dari *P. ponterosa* efektif terhadap bakteri Gram positif *Bacillus subtilis* (ATCC 9372) dan *Brevibacterium ammoniagenes* (ATCC 6872) dengan metode kertas cakram. Shuaib *et al.* (2013) melaporkan bahwa resin dari *Pinus roxburghii* menunjukkan aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri Gram-positif dibandingkan bakteri Gram-negatif.

Tillah (2017) melaporkan bahwa ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa* berpotensi sebagai antibakteri dengan nilai konsentrasi hambat minimum sebesar 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Berkaitan dengan hal tersebut maka penelitian ini bertujuan untuk memisahkan senyawa aktif yang terdapat di dalam ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa*, menentukan aktivitas antibakteri dari fraksi hasil fraksinasi serta mencirikan gugus fungsi fraksi teraktif.

Bahan dan Metode

Penyiapan bahan

Bahan utama yang digunakan dalam penelitian ini adalah getah (oleoresin) pohon *P. merkusii*, *P. oocarpa*, dan *P. insularis* yang diperoleh dari Hutan Pendidikan Gunung Walat (HPGW) Sukabumi yang telah diidentifikasi herbariumnya oleh Badan Penelitian Pengembangan dan Inovasi Pusat Penelitian dan Pengembangan Hutan Bogor.

Ekstraksi dan isolasi

Resin (200 g) digerus untuk digunakan dalam proses ekstraksi. Resin diekstraksi dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat, dan

metanol secara bertahap pada suhu ruang selama 24 jam. Ekstraksi dilakukan sebanyak 3 kali pengulangan. Ekstrak yang diperoleh diuji aktivitas antibakterinya. Ekstrak teraktif dilanjutkan pemisahannya dengan menggunakan kromatografi kolom silika gel 200-300 mesh dielusi dengan *n*-heksana:etil asetat dalam gradien bertahap. Fraksi-fraksi yang dihasilkan dipisahkan kembali menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif dan dilanjutkan pemisahan dengan kolom sephadex LH-20.

Penentuan nilai KHM dan KBM terhadap *S. aureus* (Batubara et al. 2009)

Uji antibakteri dilakukan menggunakan media TSB dengan metode mikrodilusi 96 well plate. Bakteri *S. aureus* diinokulasi dalam media TSB. Ke dalam setiap sumur pada 96 well mikroplate dimasukkan sampel sebanyak 100 µl, 100 µl medium TSB, dan 20 µl inokulan bakteri. Campuran diinkubasi pada 37 °C selama 24 jam. Tetrasiklin digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 20% sebagai kontrol negatif. Nilai konsentrasi hambat minimum (KHM) dari sampel ditentukan setelah inkubasi 24 jam. Sampel yang menunjukkan KHM diinkubasi selama 24 jam pada media baru suhu 37 °C untuk menentukan nilai konsentrasi bunuh minimum (KBM).

Bioautografi agar overlay (Rahalison et al. 1991).

Sampel ekstrak resin yang memiliki aktivitas antibakteri dilarutkan dengan pelarut yang sesuai kemudian ditotolkan pada pelat KLT aluminium jenis silika gel G₆₀F₂₅₄ dari Merck, setelah kering pelat dielusi dalam bejana berisi eluen terbaik yang telah dijenuhkan sebelumnya. Setelah proses elusi selesai

pelat diamati pada lampu UV 254 nm dan 366 nm. Kromatogram dikeringkan di atas hot plate pada suhu 35 °C. Setelah lempeng kromatogram mengering, 10 ml TSA yang telah ditambahkan inokulum bakteri dituangkan pada lempeng untuk membentuk lapisan tipis. Lempeng KLT disimpan dalam cawan petri, lalu diinkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Lempeng disemprot dengan garam tetrazolium (2 mg ml⁻¹) dan diinkubasi pada suhu 37 °C selama 4 jam. Pengamatan dilakukan pada daerah yang berwarna putih kekuningan (warna TTC) yang memandakan adanya aktivitas antibakteri dengan latar belakang warna merah pada daerah yang ditumbuhi bakteri.

Analisis gugus fungsi fraksi teraktif

Gugus fungsi yang terdapat dalam fraksi aktif dianalisis dengan FTIR. Sekitar 3 mg fraksi aktif dicampur dengan kalium bromida (KBr) dan dibuat sebagai pelet. Transmittans diukur pada panjang gelombang 3500-500 cm⁻¹.

Hasil dan Pembahasan

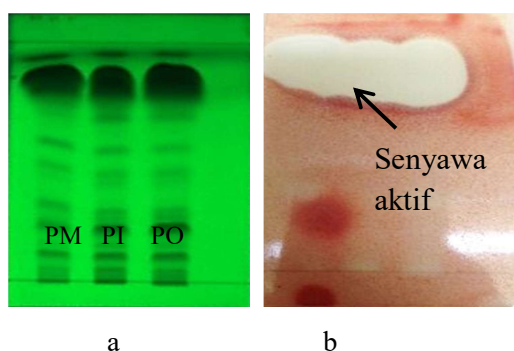
Bioautografi ekstrak pinus

Aktivitas antibakteri ekstrak *n*-heksana tiga jenis pinus yaitu *P. merkusii* (PM), *P. insularis* (PI), dan *P. oocarpa* (PO) dilihat dengan menggunakan metode bioautografi agar overlay (Gambar 1). Gambar 1a menunjukkan kromatogram pemisahan dari ketiga ekstrak resin pinus yang memiliki 9 spot pemisahan dengan nilai Rf 0,1–0,9. Setelah dilakukan penyemprotan (Gambar 1b) dengan menggunakan larutan garam tetrazolium diketahui spot aktif yang berpotensi sebagai antibakteri berada pada Rf 0,80. Hal ini ditandai dengan terbentuknya daerah putih kekuningan dengan latar belakang merah. Adanya warna merah

akibat pemecahan garam tetrazolium oleh dehidrogenase bakteri uji mengindikasikan pertumbuhan pada bakteri uji. Warna putih kekuningan menunjukkan zona hambat pertumbuhan bakteri. Hal ini mengindikasikan terdapatnya senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji.

Resin merupakan campuran asam resin terutama terdiri atas asam abietat (Gambar 2a), isomer levopimarat, palustrat, asam neoabietat, dan asam dehidroabietat (Gambar 2b), serta beberapa diterpenoid non-abietana lainnya, seperti asam pimarat dan isopimarat (Gonzalez 2014). Studi pada resin dan asam resin menunjukkan efek antibakterinya, terutama terhadap bakteri Gram-positif (Soderberg *et al.* 1990, Feio *et al.* 1997, Shuaib *et al.* 2013).

Asam abietat adalah agen antibakteri kuat dari asam pimarat dan labdan, dan di antara asam resin lainnya, asam dehidroabietat umumnya yang paling ampuh sebagai antibakteri (Soderberg *et al.* 1991).



Gambar 1 Bioautogram antibakteri resin pinus

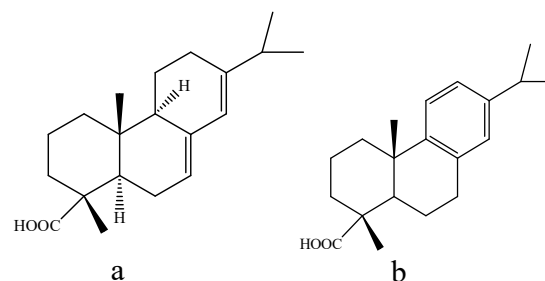
Keterangan: a. sebelum penyemprotan dengan TTC di bawah lampu UV 254 nm, b. setelah penyemprotan dengan TTC di bawah sinar tampak. Keterangan: n-heksana *P. merkusii* (PM), n-heksana *P. insularis* (PI), n-heksana, *P. oocarpa* (PO).

Aktivitas antimikroba diterpena terhadap mikroorganisme tertentu terkait dengan kehadiran kelompok gugus fungsi dalam molekul seperti karboksil, hidroksil, aldehida atau keton, dan kelompok-kelompok lainnya (Feio *et al.* 1999, Feio *et al.* 2006). Kemampuan gugus fungsi ini bertindak sebagai donor atau akseptor hidrogen dengan mikroba target dan pentingnya posisi gugus fungsi tersebut dalam kerangka hidrokarbon menyebabkan pembentukan beberapa hubungan penting struktur-aktivitas (Neto *et al.* 2015).

Komponen aktif

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar yang dilaporkan oleh Tillah *et al.* (2017) diketahui bahwa ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa* merupakan ekstrak teraktif dibandingkan dengan ekstrak lainnya. Hal ini menjadi dasar untuk memisahkan ekstrak resin *n*-heksana *P. oocarpa* untuk memperoleh senyawa aktif. Metode pemisahan yang digunakan adalah kromatografi kolom yang menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat secara *step gradient* sebagai fase gerak dan silika gel sebagai fase diam (Gambar 3).

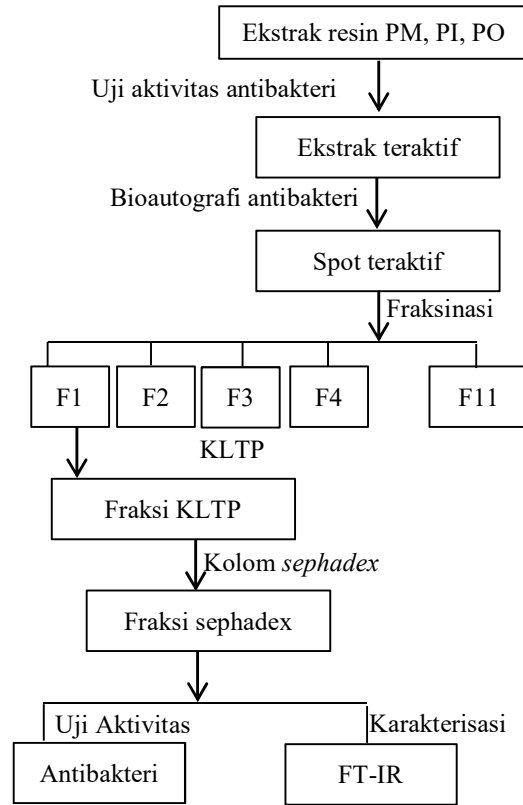
Sebanyak 11 fraksi (F1-F11) diperoleh dari hasil kromatografi kolom dengan F1 memiliki rendemen terbesar, yaitu 26,48% (Tabel 1).



Gambar 2 Asam abietat (a), asam dehidroabietat (b).

Bioautografi antibakteri menunjukkan spot yang memiliki potensi antibakteri berada pada F1 yaitu fraksi yang memiliki Rf sebesar 0,8. F1 dilanjutkan pemisahannya dengan menggunakan kromatografi lapis tipis preparatif (KLTP). Proses elusi dilakukan dengan menggunakan eluen *n*-heksana:etil asetat (73:27). Setelah pemisahan dengan KLTP, pemisahan dilanjutkan dengan kromatografi kolom dengan menggunakan fase diam *Sephadex* dan fase gerak metanol. Pada penelitian ini digunakan *sephadex* jenis LH-20. *Sephadex* LH-20 merupakan media kromatografi yang dirancang untuk memisahkan molekul produk alami berdasarkan bobot molekul. *Sephadex* LH-20 dirancang untuk ukuran molekul produk alami seperti steroid, terpenoid, lipid, dan peptida bobot molekul rendah (sampai 35 residu asam amino). Komponen dengan berat molekul yang kecil akan tertahan pada fase diam, sementara komponen dengan berat molekul yang besar tidak bisa tertahan pada fase diam dan akan terelusi lebih dulu. Tiga fraksi (F1.1.1–F1.1.3) diperoleh hasil kromatografi kolom *sephadex*, dengan F1.1.2 memiliki rendemen terbesar, yaitu 20% (Tabel 1). Berdasarkan prinsip pemisahan kolom *sephadex* maka F1.1.1 merupakan komponen dengan berat molekul yang besar sementara F1.1.3 komponen dengan berat molekul terkecil.

Fraksi kromatografi kolom *sephadex* diuji aktivitasnya melalui bioautografi antibakteri (Gambar 4). Bioautogram menunjukkan bahwa ketiga fraksi F1.1.1–F1.1.3 memiliki pola KLT yang mirip, namun pada F1.1.3 yaitu pada Rf yang lebih rendah lebih tebal.



Gambar 3 Diagram alir pemisahan.

Sebaliknya, ketiga fraksi memiliki spot yang aktif pada Rf 0,80. F1.1.2 ditentukan nilai KHM yaitu konsentrasi hambat minimum yang dibutuhkan sampel untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Selain itu juga dicari nilai KBM yaitu konsentrasi bakterisidal minimum yang dibutuhkan sampel untuk mematikan bakteri dalam hal ini bakteri *S. aureus*. F1.1.2 memiliki nilai KHM sebesar 125 $\mu\text{g ml}^{-1}$ dan KBM sebesar 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$. F1.1.2 lebih aktif dibandingkan ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa* yang memiliki nilai KHM 500 $\mu\text{g ml}^{-1}$. Nilai ini kurang baik dibandingkan dengan tetrasiklin sebagai kontrol positif (KHM sama dengan KBM sebesar 3,13 $\mu\text{g ml}^{-1}$).

Tabel 1 Jumlah bobot fraksi hasil kromatografi kolom silika gel dan kolom *sephadex*

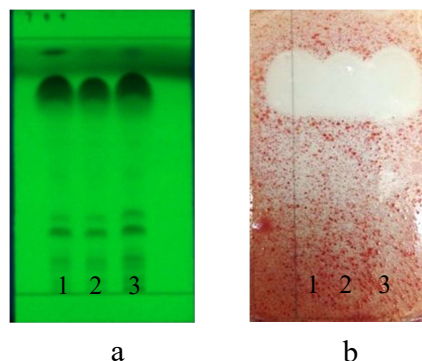
| Fraksi | Berat bobot, g | Rendemen, % | Spot aktif |
|---------|----------------|-------------|------------|
| 1* | 1,0593 | 26,48 | √ |
| 2* | 0,0839 | 2,09 | – |
| 3* | 0,0626 | 1,57 | – |
| 4* | 0,0612 | 1,53 | – |
| 5* | 0,0608 | 1,52 | – |
| 6* | 0,2282 | 5,71 | – |
| 7* | 0,0599 | 1,50 | – |
| 8* | 0,1375 | 3,44 | – |
| 9* | 0,0498 | 1,24 | – |
| 10* | 0,1022 | 2,51 | – |
| 11* | 0,0309 | 0,77 | – |
| 1.1.1** | 0,0089 | 8,90 | √ |
| 1.1.2** | 0,0160 | 16,00 | √ |
| 1.1.3** | 0,0097 | 9,70 | √ |

√ ada spot aktif, – tidak ada spot aktif, *Fraksi hasil kolom kromatografi silika gel, **Fraksi hasil kolom kromatografi *sephadex*.

Gugus fungsi

Gugus fungsi fraksi F1.1.2 diidentifikasi menggunakan FTIR (Gambar 5). Terdapat serapan kuat pada bilangan gelombang 1695,05 cm^{-1} yang merupakan ulur C=O (asam karboksilat), pita lebar yang khas antara 2500 dan 3500 cm^{-1} dikaitkan dengan penyerapan peregangan OH, karakteristik dari dimer asam karboksilat. Puncak pada 2651,31 cm^{-1} peregangan overtone dari kelompok karboksilat, 14060,74 dan 1385,26 cm^{-1} tekuk CH_2 dan CH_3 , struktur hidrokarbon yang mengandung 3 cincin dari diterpena memberikan vibrasi ulur C-H yang kuat dari kelompok metil dan metilena ditampilkan pada bilangan gelombang 2868,67, 2931,24, dan 1278,28 cm^{-1} tekuk C–O. Gugus karbonil yang diduga adalah asam karboksilat karena terdapatnya puncak serapan pita yang

melebar pada bilangan gelombang 2500-3500 cm^{-1} .



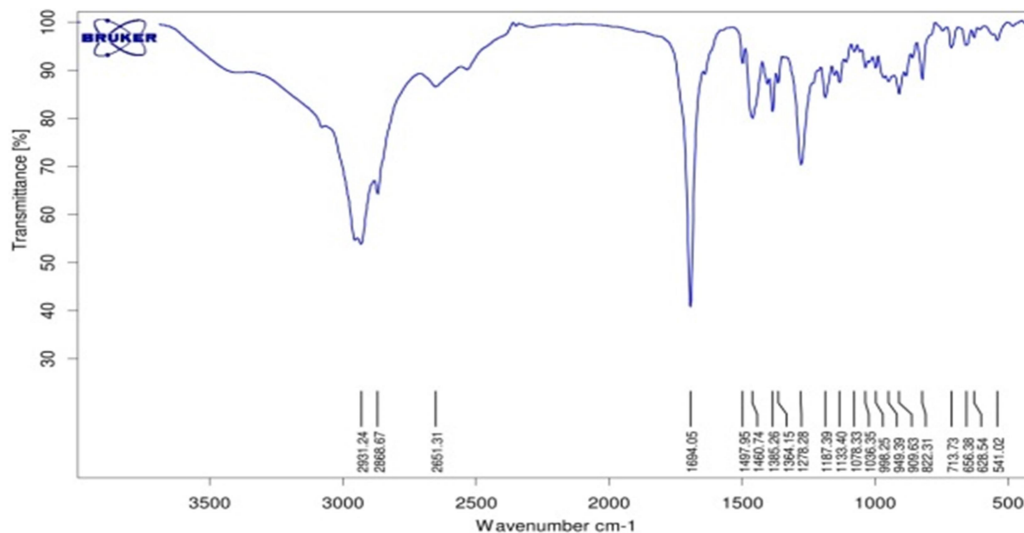
Gambar 4 Biaoutogram antibakteri fraksi F1.1.1-F1.1.3 (lane 1-3)

Keterangan: a. di bawah lampu UV 254 nm sebelum disemprot dengan TTC b. dilihat pada sinar putih setelah disemprot dengan TTC. Keterangan: 1: F.1.1.1, 2: F1.1.2, 3: F1.1.3.

Puncak khas dari resin pinus juga dilaporkan sebelumnya oleh peneliti lain (Favvas *et al.* 2015, Font *et al.* 2007, Scalarone *et al.* 2002). Yang *et al.* (2010) melaporkan bahwa resin dari *P. massoniana* memiliki senyawa diterpenoid. Berdasarkan data-data dari informasi tersebut, golongan senyawa yang diduga terkandung di dalam fraksi hasil kromatografi kolom Sephadex adalah diterpenoid dan memiliki aktivitas sebagai antibakteri *S. aureus*.

Kesimpulan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana ketiga jenis pinus memiliki aktivitas antibakteri *S. aureus*. F.1.1.2 sebagai fraksi dengan rendemen tertinggi dari hasil fraksionasi ekstrak *n*-heksana *P. oocarpa* memiliki aktivitas antibakteri dengan nilai KHM dan KBM masing-masing 125 dan 250 $\mu\text{g ml}^{-1}$.



Gambar 5 Spektrum FTIR fraksi 1.1.2.

Golongan senyawa yang berpotensi sebagai antibakteri dan antioksidan dari ekstrak *n*-heksana resin *P. oocarpa* adalah diterpenoid.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan terimakasih kepada Direktorat Riset dan Pengabdian Masyarakat Direktorat Jendral Penguatan Riset dan Pengembangan Kementerian Riset, Teknologi dan Pendidikan Tinggi No. 079/SP2H/LT/DRPM/II/2016 yang telah mendanai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- Assimopoulou A, Zlatanov S, Papageorgiou V. 2005. Antioxidant activity of natural resins and bioactive triterpenes in oil substrates. *Food Chem.* 92:721-727.
- Batubara I, Mitsunaga T, Ohashi H. 2009. Screening antiacne potency of Indonesian medicinal plants; antibacterial, lipase inhibition, and antioxidant activities. *J Wood Sci.* 55:230-235.
- Dimkic I, Ristivojevic P, Janakiev T, Beric T, Trifkovic J, Opsenica J, Stankovic S. 2016. Phenolic profiles and antimicrobial activity of various plant resins as potential botanical sources of Serbian propolis. *Ind Crop.* 94:856-871.
- [FAO] Food And Agricultural Organization. 2010. *Global Forest Resources Assessment 2010*. Rome (IT): FAO.
- Favvas E, Kouvelos E, Papageorgiou S, Tsanaksidis C, Mitropoulos A. 2015. Characterization of natural resin materials using water adsorption and various advanced techniques. *Appl Phys A* 15:1-9.
- Feio S, Roseiro J, Gigante B, Marcelo-Curto M. 1997. Method on multiwell plates for the evaluation of the antimicrobial activity of resin acid derivatives. *J Microbiol Meth.* 28:201-206.
- Feio S, Roseiro J, Gigante B, Marcelo-Curto M. 1999. Antimicrobial activity of diterpene resin acid derivatives. *J Microbiol Meth.* 35:201-206.
- Rita K Sari, Irmanida Batubara, Mardho Tillah, Dudi Tohir

- Feio S, Roseiro J, Gigante B, Marcelo-Curto M. 2006. Antimicrobial activity of resin acid derivatives. *Appl Microbiol Biotechnol.* 72:430-436.
- Font J, Salvado N, But S, Enrich J. 2007. Fourier transform infrared spectroscopy as a suitable technique in the study of the materials used in waterproofing of archaeological amphorae. *Analytica Chimica Acta.* 598:119-127.
- Gonzalez M. 2014. Synthetic derivatives of aromatic abietane diterpenoids and their biological activities. *EJMECH.* 87:834-842.
- Himejima M, Hobson KR, Otsuka T, Wood DL, Kubo I. 1992. Antimicrobial terpenes from oleoresin of ponderosa pine tree *Pinus Ponderosa*: a defense mechanism against microbial invasion. *J Chem Ecol.* 18:1809-1818.
- Mun S, Joung D, Kim Y, Kang O, Kim S, Seo Y, Kim Y, Lee D, Shin D, Kweon K, Kwon D. 2013. Synergistic antibacterial effect of curcumin against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Phytomedicine* 20:714-718.
- Neto L, Faustino C, Rijo P. 2015. Antimicrobial abietane diterpenoids against resistant bacteria and biofilms. *Formatex* 19:15-26.
- Rahalison L, Hamburger M, Hostettmann K. 1991. A bioautographic agar overlay method for the detection of antifungal compounds from higher plants. *Phytochem Anal.* 2:199-203.
- Scalarone D, Lazzari M, Chiantore O. 2002. Ageing behaviour and pyrolytic characterization of diterpenic resins used as art materials: colophony and Venice turpentine. *J Anal Appl Pyrolysis* 64:345-361.
- Shuaib M, Ali A, Ali M, Panda B, Ahmad M. 2013. Antibacterial activity of resin rich plant extracts. *JPBS.* 5:265-269.
- Soderberg T, Gref R, Holm H, Elmros T, Hallmans G. 1990. Antibacterial activity of rosin and resin acids in vitro. *Scand I Plast Reconstr Hand Surg.* 24:199-205.
- Soderberg T, Holm S, Gref R, Hallmans G. 1991. Antibacterial effects of zinc oxide, rosin, and resin acids with special reference to their interactions. *Scand I Plast Reconstr Hand Surg.* 25:19-24.
- Tillah M, Batubara I, Sari RK. 2017. Antimicrobial and antioxidant activities of resins and essential oil from pine (*Pinus merkusii*, *Pinus oocarpa*, *Pinus insularis*) and agathis (*Agathis loranthifolia*). *Biosaintifika* 9:134-139.
- Tóro R, Gessner A, Furtado N, Ceccarelli P, Albuquerque S, Basto K. 2003. Activity of the *Pinus elliottii* resin compounds against *Lernaea cyprinacea* in vitro. *Vet Par.* 118:143-149.
- Yang NY, Liu L, Tao WW, Duan JA, Tian LJ. 2010. Diterpenoids from *Pinus massoniana* resin and their cytotoxicity against A431 and A549 cells. *Phytochemistry* 71:1528-1533.

Riwayat naskah

Naskah masuk (*received*): 20 Juli 2017
Diterima (*accepted*): 24 September 2017