

Analisis fitokimia dan aktivitas antimikroba ekstrak diklorometan kulit batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata

Phytochemical analysis and antimicrobial activity of dichloromethane extract *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. Degrabrata stem bark

Usman

Program Magister Pendidikan Kimia, Fakultas Keguruan dan Ilmu Pendidikan Universitas Mulawarman, Samarinda, Kalimantan Timur, 75123, Indonesia
sainusman@gmail.com

Abstrak

Telah dilakukan uji fitokimia dan penentuan aktivitas antimikroba ekstrak diklorometana *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var Degrabrata terhadap bakteri uji *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, dan *Salmonella typhi* serta jamur uji *Candida albicans*, *Malassezia furfur*, dan *Aspergillus niger*. Tujuan dari penelitian ini adalah menentukan senyawa metabolit sekunder dan potensi mikroba ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata*. Uji fitokimia ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* secara kualitatif yang terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin, dan tanin. Metode yang untuk penentuan aktivitas antimikroba adalah metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* mengandung senyawa metabolit sekunder golongan; alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan senyawa fenolik. Pada konsentrasi 1.000 ppm, ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* memiliki daya hambat tertinggi terhadap pertumbuhan jamur uji *C. albicans* dengan zona hambatan 16,0 mm dengan kategori kuat. Kemudian pada konsentrasi 1.000 ppm, ekstrak diklorometana juga dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji *S. aureus* dan *E. coli* masing-masing dengan zona hambatan 13,0 mm dan 12,0 mm dengan kategori sedang. Ekstrak diklorometana berpotensi dikembangkan sebagai antimikroba terutama untuk jamur *C. albicans*, dan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

Kata kunci: Antimikroba; ekstrak diklorometana; fitokimia; *Melochia umbellata*

Abstract

Phytochemical tests and determination of the antimicrobial activity of the dichloromethane extract of *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var Degrabrata have been carried out against bacteria i.e. *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, and *Salmonella typhi* as well as the test and fungus i.e. *Candida albicans*, *Malassezia furfur*, and *Aspergillus niger*. The aim of this research was to determine secondary metabolite compounds and the microbial potential of dichloromethane extract of *M. umbellata* stem bark. Qualitative phytochemical test of the dextract consisting of alkaloid, flavonoid, triterpenoid, steroid, saponin and tannin tests. The method for determining antimicrobial activity is agar diffusion method using disc paper. The results of this study indicate that the dichloromethane extract of *M. umbellata* stem bark contains secondary metabolite compounds of alkaloids, flavonoids, triterpenoids, and phenolics. At a concentration of 1,000 ppm, the extract has the highest inhibitory power against the growth of *C. albicans* with an inhibition zone of 16.0 mm in the strong category. Then at a concentration of 1,000 ppm, the extract can also inhibit the growth of the *S. aureus* and *E. coli*, respectively, with an inhibition zone of 13.0 mm and 12.0 mm in the medium category. The extract has the potential to be developed as an antimicrobial, especially for the *C. albicans*, *S. aureus* and *E. coli*.

Keyword: Antimicrobial; dichloromethane extract; phytochemicals; *Melochia umbellata*

Pendahuluan

Indonesia memiliki sumberdaya alam yang sangat melimpah dan beranekaragam. Potensi sumberdaya alam yang ada di Indonesia memiliki sumbangsih yang cukup besar terhadap kekayaan sumber daya alam dunia. Salah satu jenis tanaman obat yang terdapat pada hutan tropis Indonesia yaitu *Melochia umbellata* (famili Malvaceae). Jenis tumbuhan ini dikenal oleh masyarakat Sulawesi Selatan dengan nama Paliasa dan sejak lama digunakan oleh masyarakat sebagai obat tradisional, untuk mengobati penyakit liver, hipertensi, kolesterol dan hepatitis (Raflizar, 2006). Kemudian genus lain seperti *Melochia chamaedris* digunakan oleh masyarakat di Rio Grande do Sul Brasil sebagai agen antihipertensi dan kanker (Dias, dkk., 2007). *Melochia tomentosa* digunakan sebagai obat tradisional oleh penduduk Curacao untuk mengobati kanker dan bagian akar digunakan untuk mengurangi pembengkakan (Kapadia, 1977). Daun *Sterculia africana* yang digunakan sebagai obat kejang-kejang (Hamza, 2006).

Senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada ekstrak *M. umbellata* yaitu; adalah minyak atsiri, triterpenoid, alkaloid flavonoid, steroid, fenolik, dan saponin (Heyne, 1987; Usman, 2015). Ridhay, dkk. (2012) telah mengisolasi senyawa bioaktif yaitu Stigmasterol terglisosida (5,22-stigmastadien-3 β -ol) dari ekstrak kayu akar *M. umbellata* dan memiliki aktivitas antijamur dan antibakteri. Senyawa tersebut mampu menghambat pertumbuhan jamur *Aspergillus niger* dan menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli* serta *Staphylococcus aureus*. Senyawa golongan alkaloid kuinolinon (Walherione C dan cleomiscosin A) dari ekstrak kayu batang *M. umbellata* bersifat toksik terhadap *A. salina* dengan nilai LC_{50} 0,29 μ g/mL (Erwin, dkk., 2014). Ekstrak etil asetat dari kulit batang *M. umbellata* var. *Visena* bersifat toksik terhadap *A. salina* dan bersifat sangat toksik terhadap virus dengue dengan nilai IC_{50} 1,67 μ g/mL (Nunuk., dkk., 2018).

Berdasarkan uraian di atas maka kajian mengenai khasiat senyawa kimia aktif dari tumbuhan *M. umbellata* sebagai antimikroba masih perlu dilakukan. Agar potensi bioaktivitas dan kandungan senyawa bioaktif dapat dieksplorasi dari tanaman *M. umbellata*.

Metode Penelitian

Peralatan dan bahan

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah alat-alat gelas yang lazim digunakan di laboratorium, rotary evaporator, plat tetes, seperangkat alat kromatografi lapis tipis, neraca analitik, penyaring Buchner, kertas saring Whatman No. 42, autoklaf, ose, spoit, keranjang, spatula, botol selai, botol vial, pinset, *laminar air flow* (LAF), mikrometer sekrup, pipet tetes, labu erlenmeyer, labu ukur, batang pengaduk, lampu

spiritus, penangas air, cawan petri, inkubator, corong pisah, dan rak tabung.

Bahan tumbuhan yang digunakan adalah kulit batang *M. umbellata* yang telah diidentifikasi di Herbarium Bogoriense, Pusat Penelitian dan Pengembangan Biologi, LIPI Bogor, dengan nomor spesimen: BO-1912171. Bakteri yang digunakan adalah *B. subtilis*/ATCC 6633, *S. aureus*/ATCC 25923 (bakteri gram positif), *E. coli*/ATCC 25922, dan *S. thypi*/ATCC 6633 (bakteri gram negatif), Jamur uji yang digunakan adalah *C. albicans*/ATCC10231, *M. furfur*/ATCC 14521 dan *A. niger* /ATCC 16404. Medium pengujian adalah media padat SDA (dekstrosa, pepton casein, agar bakteriologis) dan PDB (kentang, glukosa). Medium pengujian adalah media padat Muller Hinton Agar (MHA). Sedang bahan kimia yang digunakan diklorometana, nutrient agar (NA), nutrient broth (NB), Muller Hinton Agar, Pereaksi Meyer, Wagner, Dragendorff, Pereaksi Liberman-Burchard, HCl, H₂SO₄, FeCl₃, SeSO₄ dan DMSO.

Ekstraksi dan uji fitokimia

Sebanyak 250 g serbuk halus kulit batang *M. umbellata* dimaserasi dengan diklorometana selama 1 x 24 jam (sebanyak 3 kali). Ekstrak diklorometana disaring dan disatukan pada Erlenmeyer kemudian dipekatkan pada tekanan rendah menggunakan rotary evaporator suhu 30-40°C hingga diperoleh ekstrak diklorometana kental. Ekstrak diklorometana tersebut diambil sebanyak 5 gram dan dimasukkan ke dalam botol vial untuk dilakukan uji fitokimia, uji antimikroba (antibakteri dan antijamur). Uji fitokimia yang dilakukan secara kualitatif diantaranya, uji alkaloid dengan pereaksi Meyer, Wagner dan Dragendorff; uji flavonoid dengan pereaksi (serbuk Mg dalam 0,2 ml HCl pekat), uji fenolik dengan pereaksi FeCl₃, uji triterpenoid dan steroid dengan pereaksi Liberman-Burchard serta Uji saponin dengan pereaksi busa (Patil dan Khan, 2017; Nain, dkk., 2013).

Uji antimikroba

Mikroba uji yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bakteri uji; *B. subtilis*, *S. aureus* (bakteri gram positif), *E. coli* dan *S. thypi* (bakteri gram negatif) dengan menggunakan kontrol positif kloramfenikol serta jamur uji *C. albicans*, *M. furfur* dan *A. niger*, dengan kontrol positif ketokonazol. Uji antimikroba terhadap ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* dengan variasi konsentrasi; 200, 400, 600, 800, dan 1.000 ppm, dengan metode difusi agar menggunakan kertas cakram. Kertas cakram yang digunakan memiliki diameter lingkaran 6 mm. Inkubasi dilakukan selama 24 jam (bakteri) dan 48 jam (jamur), diameter zona hambat atau daerah zona bening yang terbentuk di sekeliling kertas cakram diukur menggunakan mikrometer sekrup Hasil uji aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur) dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3, serta Gambar 1 dan 2.

Tabel 1
Hasil uji fitokimia ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata*

Uji fitokimia	Hasil uji	Ket.
Alkaloid		
- Pereaksi Meyer	kuning – merah	(+)
- Pereaksi Wagner	kuning – kuning kehijauan	(+)
- Pereaksi Dragendorff	jingga – coklat kemerahan	(+)
Flavonoid	bening – coklat merah	(+)
Steroid	bening – ungu	(-)
Triterpenoid	bening – merah kecoklatan	(+)
Senyawa Fenolik	jingga – hijau kuning	(+)
Saponin	bening – berbuih	(-)
Tanin	jingga – jingga	(-)

(+) = teridentifikasi, (-) = tidak teridentifikasi

Tabel 2
Aktivitas antibakteri ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata*

Kons. (ppm)	Diameter Zona Hambatan Bakteri (mm)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. thypi</i>
200	6,4	6,0	7,5	6,3
400	6,2	6,2	9,0	6,3
600	7,5	7,3	9,0	7,4
800	8,0	8,2	11,5	8,11
1000	12,0	10,0	13,0	9,12
KN	6,0	6,0	6,0	6,0
KP	19,5	18,5	18,5	17,5

KN= Kontrol negatif (DMSO), KP= Kontrol Positif (Kloramfenicol)

Tabel 3
Aktivitas antijamur ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata*

Kons. (ppm)	Diameter Zona Hambatan Jamur (mm)		
	<i>C. albicans</i>	<i>M. furfur</i>	<i>A. niger</i>
200	9,6	6,0	6,0
400	10,3	6,2	6,3
600	12,7	8,0	6,2
800	14,3	8,15	6,2
1000	16,0	9,0	6,5
KN	6,4	6,3	6,3
KP	23,7	14,6	16,3

KN= Kontrol negatif (DMSO), KP= Kontrol Positif (Ketokonazol)

Hasil dan Pembahasan

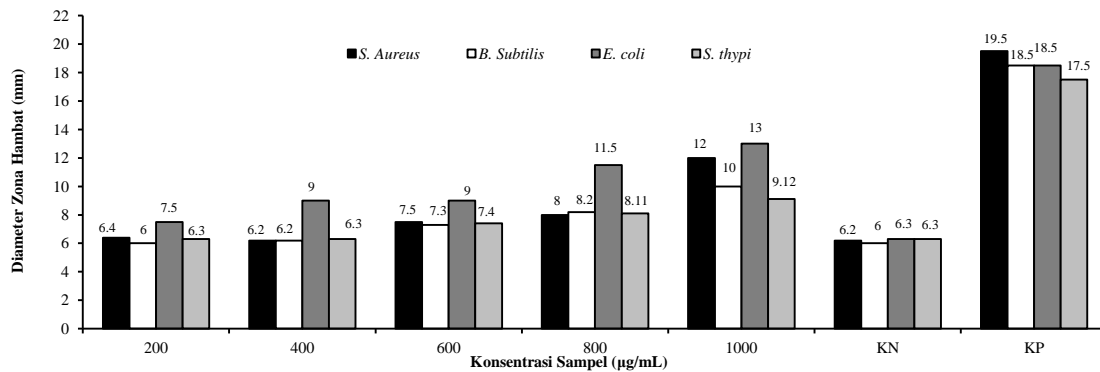
Sebanyak 22,15 gram ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* yang berwarna coklat kehijauan diperoleh dari 250 gram sampel yang diekstraksi dengan cara maserasi. Hasil uji fitokimia ekstrak dapat dilihat pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1, diketahui bahwa ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* mengandung alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan senyawa fenolik. Hasil penelitian

sebelumnya melaporkan bahwa ekstrak tumbuhan *M. umbellata* mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin (Selfi, dkk., 2015). Usman, dkk., (2018) melaporkan bahwa ekstrak n-heksan kulit batang *M. umbellata* mengandung senyawa steroid, triterpenoid, steroid, dan saponin.

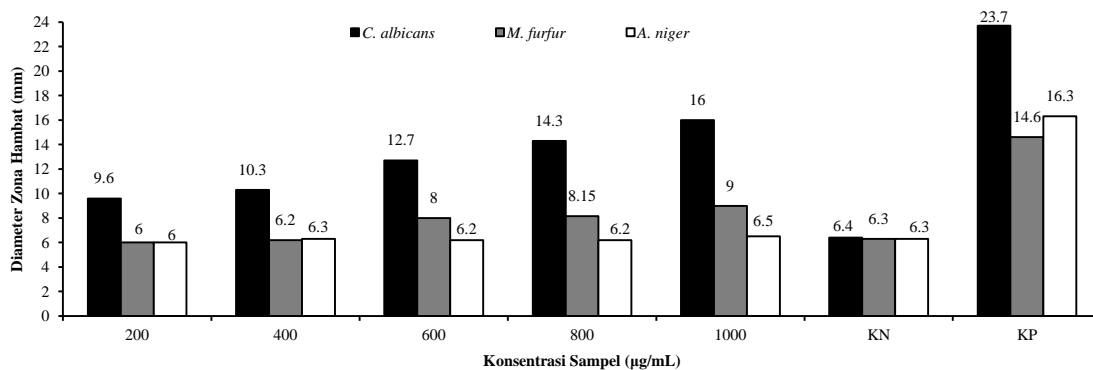
Aktivitas antimikroba (antibakteri dan antijamur) merupakan kemampuan ekstrak atau senyawa dalam menghambat atau membunuh pertumbuhan bakteri uji dan jamur uji. Aktivitas antimikroba ekstrak kulit batang *M. umbellata* ditunjukkan dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram, dimana pada daerah tersebut tidak ditumbuhi oleh bakteri uji atau jamur uji. Aktivitas antimikroba ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* (200 - 1.000 ppm) merupakan hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat ekstrak dengan metode difusi agar (difusi Kirby-Bauer) menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm. Hasil pengukuran rata-rata diameter zona hambat terhadap mikroba uji (bakteri uji dan jamur uji), dapat dilihat pada Tabel 2 dan 3 serta Gambar 1 dan 2.

Berdasarkan Tabel 2 dan Gambar 1, pada konsentrasi 1000 ppm ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* memiliki aktivitas daya hambat tertinggi terhadap bakteri *E. coli*, dan *S. Aureus* dengan diameter zona hambat 13,0 mm dan 12,0 mm (termasuk dalam kategori sedang). Kemudian pada konsentrasi 200 ppm ekstrak diklorometana hanya memiliki aktivitas terhadap bakteri *E. coli* dengan diameter zona hambat 7,5 mm dengan kategori aktivitas lemah. Berdasarkan Tabel 3 dan Gambar 2, pada konsentrasi 1000 ppm, aktivitas daya hambat tertinggi ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* ditunjukkan pada jamur uji *C. albicans* dengan diameter zona hambat 16,0 mm dan termasuk dalam kategori kuat, kemudian diikuti jamur *M. furfur* dan *A. niger* masing-masing dengan diameter zona hambat 9,0 mm dan 6,5 mm, dan keduanya termasuk dalam kategori lemah.

Senyawa metabolit sekunder seperti alkaloid, flavonoid, tanin, fenol, saponin, dan beberapa senyawa aromatik lainnya berperan penting dalam mekanisme pertahanan mikroorganisme terhadap gangguan serangga dan herbivora lainnya (Bonjar, dkk. 2004). Senyawa fenol, tanin, saponin, dan steroid dalam ekstrak dapat bertindak sebagai agen antimikroba. Menurut Shimada (2006), senyawa fenolik dapat mendegradasi dinding sel, berinteraksi dengan komposisi dan mengganggu membran sitoplasma, merusak protein membran, merusak mekanisme enzimatik untuk produksi energi dan metabolisme, serta mengubah serapan hara dan transpor elektron. Sedangkan senyawa steroid dilaporkan memiliki sifat antibakteri yang menyebabkan terjadinya kebocoran pada liposom (Raquel and Epend, 2007). Senyawa aktif dalam ekstrak diklorometana secara kualitatif maupun kuantitatif berperan penting atas membran sel dari bakteri jenis gram negatif dan gram positif (Hanaa, dkk., 2011).



Gambar 1. Diameter zona hambat bakteri uji (*S. Aureus*, *B. Subtilis*, *E. coli*, dan *S. thypi*)



Gambar 2. Diameter zona hambat jamur uji (*C. albicans*, *M. furfur*, *A. niger*)

Aktivitas antimikroba yang ditimbulkan oleh ekstrak diklorometana bagian jaringan kulit batang *M. umbellata* kemungkinan disebabkan adanya kandungan metabolit sekunder seperti flavonoid, fenolik, dan terpenoid. Senyawa golongan flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri melalui penghambatan DNA gyrase dan fungsi membran sitoplasma (Chusnie & Lamb, 2005). Senyawa fenolik dapat menyebabkan lisis pada komponen seluler dan merusak mekanisme enzimatik sel bakteri (Pelczar & Chan, 1988). Sedangkan senyawa terpenoid mengakibatkan pemecahan membran oleh komponen-komponen lipofilik (Cowan, 1999; Bobbarala, 2012). Sifat hidrofobik atau lipofilik pada triterpenoid sebagai antijamur kemungkinan senyawa tersebut menyebabkan terjadinya kerusakan membran sitoplasma, koagulasi sel dan terjadinya gangguan proton pada sel jamur (Natta *et al.* 2008). Sifat antijamur dari steroid karena adanya sifat lipofilik yang dimiliki senyawa steroid sehingga dapat menghambat perkecambahan spora dan perbanyak miselium pada jamur (Subhisha, 2005). Sifat antimikroba dari senyawa golongan saponin karena kemampuan senyawa tersebut menyebabkan terjadinya kebocoran protein dan mengganggu enzim tertentu dari sel. (Zablotowicz, dkk., 1996).

Simpulan

Kandungan senyawa metabolit sekunder ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* yaitu; senyawa

golongan alkaloid, flavonoid, triterpenoid, dan senyawa fenolik. Pada konsentrasi 1.000 ppm ekstrak diklorometana *M. umbellata* mampu menghambat pertumbuhan bakteri *E. coli*, dan *S. Aureus* dengan diameter zona hambat 13,0 mm dan 12,0 mm, dengan kategori aktivitas sedang. Sedangkan daya hambat terhadap bakteri *B. subtilis* dan *S. typhi* termasuk dalam kategori lemah dengan diameter zona hambat < 11mm. Selain itu, ekstrak diklorometana kulit batang *M. umbellata* berpotensi sebagai antijamur, terutama terhadap *C. albicans* dengan diameter zona hambat 16 mm (> 14 mm).

Daftar Pustaka

- Raflizar, Adimunca, dan Tuminah, S. 2006. Dekok Daun Paliasa (*Kleinhovia hospita* Linn) Sebagai Obat Radang Hati Akut. *Cermin Dunia Kedokteran*. 50, p. 10-14.
- Dias G.C.D., Gressler V., Hoenzel S.C.S.M., Silva U.F., Dalcol I.I., Morel A.F. 2007. Constituents of the roots of *Melochia chamaedrys*. *Journal Phytochemistry*. 68, p. 668–672
- Kapadia, G.J., Shukla, Y.N., Morton, J.F., and Lloyd A., 1977, New Cyclopetide Alkaloids from *Melochia tomentosa*, *Phytochemistry*. 16(9), p. 1431-1433.
- Hamza, O.J.M., Beukel, C.J.P.V.D.B., Matee, M.I.N., Moshi, M.J., Mikx, F.H.M., Selemani, H.O., Mawambo, Z.H., Ven, A.J.A.M.V.D., and Verweij,

- P.E. 2006. Antifungal Activity of Same Tazmanian Plants Used Traditionally for The Treatment of Fugal Infection, *Ethnopharmacology*. 108(1), p. 124-132.
- Heyne, K., 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, Jilid II, Yayasan sarana Warna Jaya, Jakarta.
- Usman. 2015. Potensi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Kulit Batang *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* (Paliasa) sebagai Anti-Tuberkulosis. *Jurnal Sains dan Kesehatan*. 1(4), p. 2407-6082.
- Ridhay, A., Noor, A., Soekamto, N.H. 2012. A Stigmaterol Glycoside from the Root Wood of *Melochia umbellata* (Houtt) stapf var. *degrabrata* K., *Indonesian Journal of Chemistry*. 12(1), p. 100-103.
- Erwin, Noor, A., Soekamto, N.H., Altena, I.v., and Syah, Y.M. 2014. Waltherione C and cleomiscosin from *Melochia umbellata* var. *Degrabrata* K. Malvaceae), biosynthetic and chemotaxonomic significance. *Biochemical Systematics and Ecology*. 55, p: 358-361.
- Soekamto, N.H., Liong, S., Fauziah, S., Wahid, I., Zenta, F., Taba, P., and Ahmad, F. 2018. *Denguae* antiviral activity of polar extract from *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Visenia*. *Journal of Physics: Conference Series*, 979. doi:10.1088/1742-6596/979/1/012017
- Patil, M.B., Khan, P.A. 2017. Primary phytochemical studies of *catunaregam spinosa* (Thunb) triven for secondary metabolites. *Int J Pharm Bio Sci*. 8(2), p. 320-323. DOI: [10.22376/ijpbs.2017.8.2.p320-323](https://doi.org/10.22376/ijpbs.2017.8.2.p320-323)
- Nain, J., Bhatt, S., Dhyani, D.R.S., Joshi, N. 2013. Phytochemical screening of secondary metabolites of *Dhatura Stramonium* L. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 5(2), p. 151-153.
- Wulur, S., Zenta, F., Natsir, H., Soekamto, N.H. 2015. Study of Compounds from Extract of *Melochia umbellata* (Houtt.) Stapf var. *Degrabrata* K. (Paliasa) Leaves That Has Potential as Antibacterial. *Indonesia Chimica Acta*. 8(1).
- Usman, Usman., AMIR, M.M., Soekamto, N.H., Ahmad, A., Maulidiyah, M. 2018. Isolation of Secondary Metabolite Compounds and Antibacterial Activities Tests from Hexane Ekxtract of Stem Bark *Melochia umbellata* (Houtt) Stapf var. *Degrabrata* K. *Asian J Pharm Clin Res*. 11(8), p. 457-462.
- Bonjar, G.H.S., Nik, A.K., Aghighi, S. 2004. Antibacterial and antifungal survey in plants used in indigenous herbal-medicine of south east regions of Iran. *J Biol Sci*. 4, p. 405-412.
- Shimada, T. 2006. Salivary proteins as a defense against dietary tannins. *J. Chem. Ecol*. 32, p. 1149-1163.
- Raquel, F., and Epand. 2007. Bacterial lipid composition and the antimicrobial efficacy of cationic steroid compounds. *Biochimica et Biophysica Acta*. P. 2500–2509.
- Hanaa, F.M., Ali, Hossam, S., El-beltagi, and Nasr, N.F. 2011. Evaluation of antioxidant and antimicrobial activity of *Aloysia triphylla*. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and food Chemistry*. 10(8), p. 2689-2699.
- Chusnie, T.T.P., & Lamb, A.J. (2005). Antimicrobial activity of flavonoid. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 26(5), p. 343-356.
- Pelczar, M.J., & Chan, E.C.S. (1988). *Dasar-Dasar Mikrobiologi 2*. Jakarta: UI Press.
- Cowan, M.M. (1999). Plant products as antimicrobial agents. *Clinical Microbiology Reviews*. 12(4), p. 564-582.
- Bobbarala, V. (2012). *Antimicrobial Agents*. Croatia: Intech.
- Natta, L., Orapin, Krittika, and Pantip. 2008. Essensial Oil from Zingiberaceae for Anti Food-Borne Bacteria. *J. International Food Research*. 15(3), p. 337-346.
- Subhisha, S., dan Subramoniam, A. 2005. Antifungal Activities of a Steroid From *Pallavicinia lyellii*, a Liverwort. *Tropical Botanic Garden and Research Institute, India*. 37(5), p. 304-308. DOI: 10.4103/0253-7613.16854.
- Zablutowicz RM, Hoagland RE, Wagner SC. Effect of saponins on the growth and activity of rhizosphere bacteria. *Adv Exp Med Biol*. 1996;405:83-95.