

# Kajian ilmiah air rebusan katola (*Arcangelisia flava* L. Merr) obat diare berdarah masyarakat kabupaten muna sulawesi tenggara

## Kajian ilmiah air rebusan *katola* (*Arcangelisia flava* L. Merr) obat diare berdarah masyarakat kabupaten muna sulawesi tenggara

Muhammad Akhram Larisu<sup>1\*</sup>, Sudarsono<sup>2</sup>, Susi Irvati<sup>3</sup> dan Arief Nurrochmad<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Dinas Pendidikan Nasional Kabupaten Muna

<sup>2</sup> Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada

<sup>3</sup> Fakultas Kedokteran Umum Universitas Gadjah Mada

### Abstrak

Air rebusan batang *katola* (*Arcangelisia flava* L. Merr) merupakan obat tradisional masyarakat Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara untuk mengobati berbagai penyakit, salah satunya adalah diare berdarah. Diare berdarah berdasarkan data Dinas Kabupaten Muna tahun 2008 dan 2009 termasuk kategori 10 besar penyakit yang sering diderita oleh masyarakat. Penelitian ini dilakukan untuk pengujian potensi antimikroba, tingkat keamanan penggunaan air rebusan batang *katola* di masyarakat serta penentuan senyawa bioaktif dan kadar relatif alkaloid yang ada didalamnya. Potensi antimikroba ditentukan secara *in vitro* dan *in vivo*. Mikroba uji *Shigella flexneri* ATCC 12022 sejumlah  $10 \times 10^8$  CFU/mL di induksi secara oral ke hewan uji. Air rebusan batang *katola* dosis 12 mg/kg BB, 24 mg/kg BB dan 48 mg/kg BB serta antibiotik ampicillin 24 mg/kg BB diberikan 2 kali sehari selama 5 hari. Jumlah *Shigella flexneri* dalam feses kemudian dihitung setiap hari. Tingkat keamanan pemakaian air rebusan *katola* ditentukan berdasarkan Pedoman OEDC 423 uji toksisitas akut oral. Penentuan senyawa bioaktif dilakukan dengan metode bioautografi sedangkan kadar relatif alkaloid dihitung sebagai berberin HCl. Hasil penelitian diperoleh bahwa air rebusan batang *katola* tidak toksik dengan  $LD_{50} > 31,5$  g/kg BB. *In vitro*, Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) terhadap bakteri *Shigella flexneri* ATCC 12022 adalah 1,2% dan 2,4%, berturut-turut. Air rebusan batang *katola* dosis 48 mg/kg BB secara *in vivo* diberikan 2 kali sehari berefek pada pengurangan 100% bakteri *Shigella flexneri* pada hari ke-5 pemberian. Senyawa bioaktif dalam air rebusan batang *katola* adalah alkaloid berberin HCl. Kadar berberin HCl dalam air rebusan batang *katola* adalah 16,7%.

**Kata kunci** : *katola*, toksisitas, antidiare, antimikroba, *Arcangelisia flava* L. Merr

### Abstract

Water extract of *katola* (*Arcangelisia flava* L. Merr) stem is traditionally used in communities Muna District for the treatment of many diseases, including anti diarrhea. According to the information of Muna District Health Office, diarrhea is one of the 10 groups diseases in this district. The objective of this study was conducted to determine the potential antimicrobial, acute toxicity and identified of the water extract of bioactive compounds and alkaloid relative concentration content. Infection of microbial was induced by oral administration of *Shigella flexneri* ATCC 12022  $1 \times 10^8$  CFU/mL. Boiling water of *katola* dose 12 mg/kg, 24 mg/kg and 48 mg/kg body weight and the antibiotic ampicillin 24 mg/kg administered 2 times daily for 5 days. The number of *S. flexneri* in

feces were determined every day. The toxicity of water extract of *katola* stem is determined based on the value of LD<sub>50</sub> acute oral toxicity testing followed by guidelines OECD 423. The bioactive compounds was determined by bioautografi method and the concentration alkaloid relative content was calculated as berberine hydrochloride. The results showed that boiling water extract of *katola* stem did not cause toxic symptoms, with LD<sub>50</sub> > 31.5 g/kg body weight (unclassified) or 104 times the dose therapy of human. *In vitro*, the Minimum Inhibition Concentration (MIC) and Minimum Bactericidal Concentration (MBC) value of the boiling water were 1.2 and 2.4%, respectively. *In vivo*, the boiling water dose 48 mg/kg body weight given twice a day have an effect on eradication the *S. flexneri* 100% by day 5. Bioactive compounds of antimicrobial in the water extract is alkaloid berberine HCl. A cocentration of berberine hydrochloride in water extract stem and leaves dosage use of the public were 16.7% and 0.75% respectively.

**Key words:** *Katola*, toxicity, anti diarrhea, antimicroba, *Arcangelisia flava* L. Merr

## Pendahuluan

Tumbuhan *katola* (*Arcangelisia flava* L. Merr) merupakan salah satu tumbuhan yang biasa digunakan oleh masyarakat di Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara untuk dijadikan ramuan pengobatan berbagai macam penyakit. Salah satu manfaat dari tumbuhan *katola* adalah sebagai obat diare berdarah (Ukumu *et al.*, 2009).

Diare berdarah merupakan penyakit yang disebabkan oleh infeksi bakteri, yang menyerang usus besar dan bagian usus halus yang ditandai dengan gejala berak cair, muntah, nyeri usus serta tinja mengandung darah dan lendir sebagai akibat ulserasi pada mukosa usus (Subekti, 2001).

Dinas Kesehatan Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara tahun 2008 dan 2009, mencatat bahwa diare berdarah termaksud 10 besar penyakit yang sering diderita oleh masyarakat (Anonim, 2009). Jauhnya jangkauan pusat pelayanan kesehatan, menyebabkan masyarakat mencari alternatif pengobatan dengan memanfaatkan tumbuhan yang ada di lingkungan.

Dari aspek ilmiah diprediksi bahwa air rebusan batang *katola* mengandung alkaloid golongan isokinolin palmartin, kolumbamin, jatrohizidin dan berberin (Keawpradub *et al.*, 2005; Hegnauer, 1991). Berberin diketahui memiliki efek antimikroba terhadap beberapa bakteri, jamur, fungi dan beberapa mikroorganisme lain (Cernakova and Kostalova, 2002; Hwang *et al.*, 2003; Scazzocchio *et al.*, 2001; Tanaka *et al.*, 1991).

Penelitian ini bertujuan untuk mengkaji potensi air rebusan batang *katola* sebagai antimikroba penyebab diare berdarah *Shigella sp.* dan tingkat keamanan pemakaiannya di masyarakat, penelusuran senyawa bioaktif serta penentuan kadar relatif senyawa aktifnya.

## Metodologi

### Bahan

Batang *katola* diperoleh dari hutan lindung Laende Kabupaten Muna, air suling, methanol, n-propanol, n-butanol, asam formiat, asam asetat, pereaksi *Dragendorff*, Serium (IV) Sulfat, pereaksi *Mayer*, plat kromatografi lapis tipis silika gel 60 F<sub>254</sub>, buffer fosfat 0,05 M; pH4, Acetonitril (kualitas p.a E. Merck, Germany), Berberin HCl (Sigma Aldrich), *Hekton Enteric Agar* (HEA) (Oxoid), Novobiocin (Oxoid), Tablet Amphotericin (PT. Indofarma TBK), NaCl 0,9% Fisiologis steril, suspensi *Mc. Farland III*, Brain Heart Infusion (BHI), BHI Double-Strain (DS), *Mc. Conkey*, *S. flexneri ATCC 12022* (Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada), Tikus putih *Rattus norvegicus* galur *Wistar* (Laboratorium Farmakologi dan Toksikologi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada).

### Alat

HPLC (SHIMAZU), Densitometer (CAMAG), Timbangan analitik (SARTORIUS), timbangan tikus (OHAUS), Kualipot tanah, kompor listrik, dan pengaduk magnetik (*magnetic stirrer*), mikroskop, kamera digital, *freeze dryer*, cawan petri, autoklaf, inkubator, kandang metabolit, ose, mikropipet, alat-alat gelas.

### Jalannya penelitian

#### Penyiapan bahan uji (simplisia)

Bahan uji batang *katola* diperoleh dari hutan lindung Laende Kabupaten Muna, pada bulan Januari. Pengambilan bahan dilakukan secara acak. Segera setelah dikumpulkan bahan uji langsung dibersihkan dari kontaminan biotik dan abiotik.

#### Pembuatan serbuk air rebusan batang *katola*

Batang segar *katola* dicuci bersih hingga tidak terdapat lagi kontaminan baik biotik maupun abiotik, dipotong dengan ukuran 2-3 cm dan ditimbang. Kemudian direbus dalam air mendidih 30 menit atau hingga air sisa setengahnya. Air rebusan setelah dingin dikeringkan menggunakan *freeze dryer*.

#### Identifikasi senyawa bioaktif

Identifikasi senyawa bioaktif dilakukan menggunakan metode bioautografi dan identifikasi senyawa dengan pereaksi Mayer, Dragendorff.

#### Pengukuran kadar senyawa bioaktif

Pengukuran kadar senyawa bioaktif dilakukan menggunakan HPLC dengan pembandingan berberin HCl sebagai senyawa standar.

#### Uji toksisitas akut

Uji ketoksikan akut dilakukan menggunakan pedoman OECD 423 uji toksisitas akut oral (Anonim, 2010).

#### Uji antimikroba

Uji antimikroba dilakukan secara *in vitro* dan *in vivo*

*In vitro*; dilakukan dengan metode dilusi cair (*Macro Broth Dilution*)

*In vivo*; dilakukan dengan menginduksi hewan uji dengan bakteri *Shigella flexneri* 10<sup>8</sup> CFU/mL; kemudian bakteri dihitung dalam feses pada hari ke-1, 2, 3, 4, 5; setelah diberi perlakuan sampel uji dosis 12 mg/kg BB, 24 mg/kg BB, 48 mg/kg BB dan antibiotik ampicillin dosis 24 mg/kg BB dua kali sehari secara oral. *Shigella flexneri* yang tumbuh pada media *Hekton Enteric Agar* (HEA) berwarna bening hingga hijau, bulat dengan pinggir yang utuh.

#### Analisis data

Data-data yang diperoleh dianalisis menggunakan uji statistik *one way ANOVA* dan *post hoc Tukey HSD* (P<0,05).

## Hasil dan Pembahasan

#### Hasil ekstraksi

Diperoleh serbuk air rebusan *katola* warna kuning kecoklatan, rasa pahit, tidak berbau dan higroskopis dengan rendemen sebesar 2%.

#### Hasil identifikasi senyawa bioaktif

Hasil identifikasi dengan fase gerak n-propanol, asam formiat, air dengan perbandingan 9:0,1:0,9 diperoleh bercak alkaloid masing-masing dengan nilai R<sub>f</sub> : 0,0; 0,28; 0,42 dan 0,73, yang dinyatakan positif dengan pereaksi penampak noda Dragendorff dan serum (IV) sulfat, serta terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Mayer.

Identifikasi kualitatif dengan spektrodensitometri HPLC diperoleh bahwa dalam air rebusan *katola* mengandung berberin HCl.

#### Hasil uji bioautografi

Dari hasil uji bioautografi diperoleh satu zona jernih pada permukaan media yang terletak pada harga R<sub>f</sub> 0,42. Harga R<sub>f</sub> ini sama dengan harga R<sub>f</sub> air rebusan *katola* dan berberin HCl yang dideteksi dengan pereaksi Dragendorff dan Serum (IV) sulfat pada sinar tampak diperoleh hasil sebagai berikut (Gambar 1).

#### Hasil penentuan kadar berberin HCl penentuan kurva baku

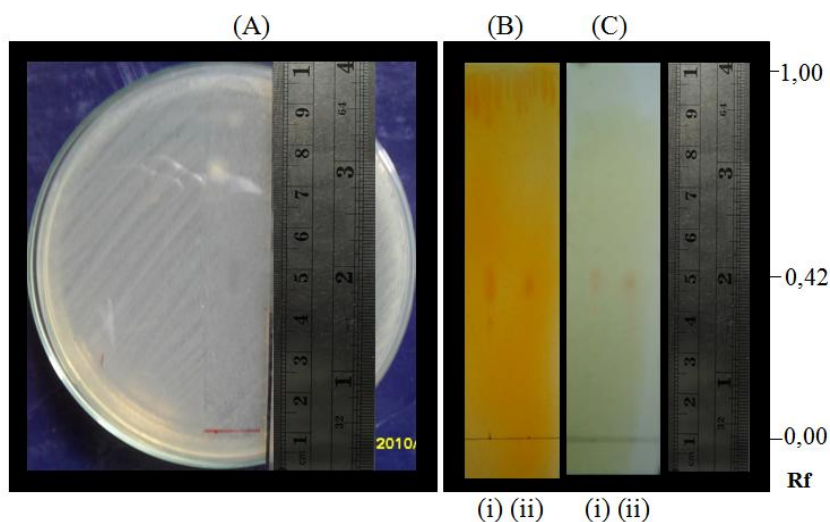
Hasil penentuan kadar berberin HCl dalam air rebusan batang *katola* dengan menggunakan HPLC, fase gerak = Buffer fosfat 0,05 M; pH4 : Acetonitril (60:40); fase diam = Kolom Lichrosper RP 18 250-4 (5 µm); Kecepatan alir (Flow) = 1,5 mL/menit; Sistem : Isokratik; λ = 532 nm; Suhu kolom = suhu kamar; Volume injeksi 20 µL (Weber and Joseph, 2002), diperoleh kadar berberin HCl sebesar 16,7 ± 0,33%.

#### Hasil uji toksisitas akut

Hasil uji toksisitas akut diperoleh bahwa potensi toksisitas akut (LD<sub>50</sub>) air rebusan *katola* sampai dosis tertinggi 31,5 g/kg BB hewan uji tidak satupun yang mengalami kematian, sehingga nilai LD<sub>50</sub> air rebusan batang *katola* > 31,5 g/kg BB (tidak terklasifikasi) atau 104 kali dosis empiris.

#### Hasil uji antimikroba *in vitro* Konsentrasi Hambat Minimal (KHM) Dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM)

Hasil penentuan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dari air rebusan batang *katola* diperoleh 1,2% dan 2,4% berturut turut. (Tabel I dan Gambar 2, Gambar 3).



Gambar 1. (A) Hasil uji bioautografi air rebusan batang katola pada *S. Flexneri* ATCC 12022.  
 (B) Spot yang mampu menghambat pertumbuhan *S. flexneri* ATCC 12022 dengan Rf 0,42 (*Dragendroff*)  
 (C) Spot yang mampu menghambat pertumbuhan *S. flexneri* ATCC 12022 dengan Rf 0,42 (*Serium (IV) Sulfat*)  
 (i) Spot air rebusan katola fase diam silika gel 60 F254 , fase gerak n-propanol,asam formiat,air (9:0,1:0,9 v/v/v)  
 (ii) Spot berberin HCl fase diam silika gel 60 F254, fase gerak –propanol,asam formiat,air (9:0,1:0,9 v/v/v)

Tabel I. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) air rebusan batang *katola* terhadap bakteri *S. flexneri* ATCC 12022

Replikasi	KHM (%)	KBM (%)
I	1,20	2,40
II	1,20	2,40
III	1,20	2,40

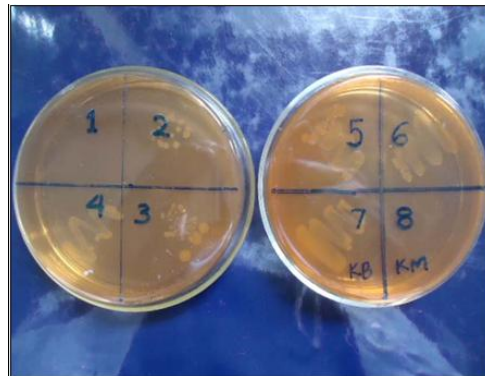
**Hasil uji antimikroba in vivo**

Hasil pengamatan diperoleh bahwa jumlah *S. flexneri* yang terdapat dalam feses tikus setelah diinduksi pada hari pertama mengalami penurunan dari  $10 \times 10^7$  menjadi sekitar  $9,10 \times 10^7$  CFU pada semua kelompok perlakuan. Hari pertama setelah pemberian senyawa uji, jumlah *S. flexneri* yang ditemukan dalam feses hewan uji menunjukkan penurunan yang signifikan utamanya pada kelompok kontrol ampicillin dan kelompok air rebusan *katola* dosis 48 mg/kg BB.

Dari tabel 3, terlihat bahwa pada kelompok kontrol ampicillin jumlah *S. flexneri*

dari  $9,12 \times 10^5$  menjadi  $5,18 \times 10^5$  CFU/g atau berkurang sebanyak 43,28%; demikian pula pada kelompok air rebusan *katola* dosis 48 mg/kg BB jumlah *S. flexneri* dari  $908,5 \times 10^5$  menjadi  $759 \times 10^5$  CFU/g atau berkurang sebanyak 16,5%.

Pengurangan yang lebih nyata untuk kelompok ampicillin terlihat pada hari ke-4 sekitar 99,9% ( $1,6 \times 10^5$  CFU/g) sedangkan untuk kelompok perlakuan air rebusan *katola* terlihat pada hari ke-6 yaitu 99,9% ( $0,4 \times 10^5$  CFU/g).



Gambar 2. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) air rebusan batang *katola* terhadap bakteri *S.flexneri* ATCC 12022. (1)Larutan Uji 2,40% (b/v); (2) Larutan Uji 1,20% (b/v); (3)Larutan Uji 0,60% (b/v); (4)Larutan Uji 0,30% (b/v); (5)Larutan Uji 0,15% (b/v); (6)Larutan Uji 0,075% (b/v); (7) Kontrol bakteri (BHI+bakteri) + Air suling); (8) Kontrol Media (BHI + Air suling); (9) Kontrol Sampel (Larutan sampel+ Air suling); (10) Kontrol Antibiotik (ampicillin + Bakteri).

Tabel 2. Rata-rata jumlah *S. flexneri* (Mean  $\pm$  SD) antar kelompok perlakuan yang di hitung selama 6 hari masa uji ( $10^5$  CFU/gr)

Hari	Kontrol bakteri S.Flex.	Kontrol Ampicillin 24 mg/kg BB	Air rebusan Dosis 12 mg/kg BB	Air rebusan Dosis 24 mg/kg BB	Air rebusan Dosis 48 mg/kg BB
Ke-1	914,0 $\pm$ 22,63 <sup>a</sup>	912,0 $\pm$ 27,50 <sup>a</sup>	913,2 $\pm$ 30,91 <sup>a</sup>	904,4 $\pm$ 43,16 <sup>a</sup>	906,8 $\pm$ 46,70 <sup>a</sup>
Ke-2	882,8 $\pm$ 42,75 <sup>a</sup>	518,4 $\pm$ 25,90 <sup>b</sup>	878 $\pm$ 31,37 <sup>a</sup>	840,8 $\pm$ 82,22 <sup>a</sup>	758,8 $\pm$ 155,42 <sup>a</sup>
Ke-3	866,8 $\pm$ 67,37 <sup>a</sup>	225,2 $\pm$ 35,68 <sup>b</sup>	859,2 $\pm$ 1,93 <sup>a</sup>	662,4 $\pm$ 129,36 <sup>a</sup>	360,4 $\pm$ 174,84 <sup>b</sup>
Ke-4	850,0 $\pm$ 37,58 <sup>a</sup>	1,6 $\pm$ 1,67 <sup>b</sup>	823,6 $\pm$ 54,63 <sup>a</sup>	575,2 $\pm$ 106,60 <sup>c</sup>	94,8 $\pm$ 19,6 <sup>b</sup>
Ke-5	842,8 $\pm$ 28,76 <sup>a</sup>	0,4 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>	816,4 $\pm$ 73,48 <sup>a</sup>	500 $\pm$ 129,37 <sup>c</sup>	3,2 $\pm$ 3,03 <sup>b</sup>
Ke-6	790,8 $\pm$ 94,82 <sup>a</sup>	0,0 $\pm$ 0,0 <sup>b</sup>	782 $\pm$ 39,57 <sup>a</sup>	382,4 $\pm$ 81,20 <sup>b</sup>	0,4 $\pm$ 0,89 <sup>b</sup>

Tabel 3. Rata-rata persen perubahan jumlah *S. flexneri* antar kelompok perlakuan selama 6 hari masa uji (%)

Hari	Kontrol Shigella flexneri	Kontrol Ampicillin 24 mg/kg BB	Air rebusan Dosis 12 mg/kg BB	Air rebusan Dosis 24 mg/kg BB	Air rebusan Dosis 48 mg/kg BB
Ke-1	91,4	91,2	91,3	90,4	90,7
Ke-2	88,3	51,8	87,8	84,1	75,9
Ke-3	86,7	22,5	85,9	66,2	36,0
Ke-4	85,0	0,2	82,4	57,5	57,5
Ke-5	84,2	0,0	81,6	50,0	0,3
Ke-6	79,1	0,0	78,2	38,2	0,0

Hasil uji *Anova* menunjukkan bahwa pada hari ke-1 sebelum pemberian sediaan uji didapatkan bahwa tidak ada perbedaan yang signifikan jumlah *S. flexneri* dalam feses hewan uji antar kelompok kontrol maupun kelompok perlakuan ( $P < 0,05$ ). Perbedaan signifikan antar kelompok perlakuan ( $P < 0,05$ ) terjadi pada hari kedua, ketiga, keempat dan seterusnya utamanya untuk kelompok kontrol ampicillin dan air rebusan *katola* dosis 48 mg/kg BB (Tabel I, Gambar 4).

Air rebusan *katola* berefek menghambat pertumbuhan bakteri *S. flexneri* disebabkan oleh senyawa yang terkandung dalam air rebusan *katola* berupa alkaloid berberin yang diketahui memiliki aktifitas sebagai antimikroba (Cernakova and Kostalova, 2002; Hwang *et al.*, 2003; Scazzocchio *et al.*, 2001; Tanaka *et al.*, 1991).

## Kesimpulan

Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) air rebusan batang *katola* terhadap bakteri *S. flexneri* ATCC 12022 adalah 1,2% dan 2,4% berturut-turut. Air rebusan batang *katola* dengan kadar berberin HCl 16,7 % pada dosis 48 mg/kg BB secara *in vivo* yang diberikan 2 kali sehari dapat mengurangi 100% bakteri *S. flexneri* pada hari ke-5 pemberian. Senyawa bioaktif antimikroba yang diidentifikasi dengan pereaksi *Dragendorff* adalah alkaloid berberin HCl. Air rebusan *katola* tidak menimbulkan efek toksik pada hewan uji tikus betina dengan nilai  $LD_{50} > 31,5$  g/kg BB. Kadar berberin HCl dalam air rebusan batang *katola* adalah 16,7 %.

## Daftar Pustaka

- Anonim, 2009, *Data 10 besar penyakit di masyarakat*, Dinas Kesehatan Kabupaten Muna.
- Anonim, 2010, OEDC Guideline for Testing of Chemicals, *Acute Oral Toxicity—Acute Toxic Class Method*, Cernakova, M., and Kostalova D., 2002, Antimicrobial activity of berberine a constituent of *Mabonia aquifolium*, *Folia Microbiol* (Praha), **47**: 375-378
- Hegnauer, R., 1969, *Chemotaxonomie der Pflanzen*, Edisi V, 73-86, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart.
- Hwang, B.Y., Roberts, S.K., Chadwick, L.R., Wu C.D., and Kinghorn, A.D., 2003, Antimicrobial Constituents from *Goldenseal* (the Rhizomes of *Hydrastis Canadensis*) Against Selected Oral Pathogens. *Planta. Med. J.* ;**69** (7): 23-627.
- Keawpradub, N., Dejadisai, S., and Yuenyongsawa S., 2005, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Thai Medicinal Plants Named Khaminkhruea: *Arcangelisia flava*, *Cosciniium blumeianum* and *Fibraurea tinctoria*, *Songklanakarinn J. Sci. Tech.*, **27** (Suppl. 2) : 455-467.
- Lu, F.C., 1991, *Toksikologi Dasar : Asas, Organ, Sasaran, dan Penilaian Resiko*, diterjemahkan oleh Edi Nugroho, 1995, Edisi II, UI-Press, Jakarta.
- Scazzocchio, F., Cometa, M.F., Tomassini, L., and Palmery, M., 2001, Antibacterial Activity of *Hydrastis Canadensis*, Extract and its Major Isolated Alkaloids, *Planta. Med.*, **67** (6): 561-564.
- Subekti., 2001, *Shigella sp. Suveillsnce in Indonesia: Emergence or Reemergence of S. dysenteriae*. Bagian Mikrobiologi Program Mikrobiologi Section of the Enteric Diseases Program at U.S. Naval Medical Research Unit No.2, Jakarta, Indonesia.
- Tanaka, T., Kaneda, Y., and Torii, M., 1991, In vitro effects of berberine sulphate on the growth and structure of *Entamoeba histolytica*, *Giardia lamblia* and *Trichomonas vaginalis*. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, **85**: 417-425.
- Tjaniadi, P., Lesmana, M., Subekti, D., Machpud, N., Komalarini, S., and Santoso, W., 2003, Antimicrobial Resistance of Bacterial Pathogens Associated With Diarrheal Patients in Indonesia. *Am. J. Trop. Med. Hyg.*, **68**: 666-670.

- Ukumu, L., Samiu, W., and Kobe, W., 2009, Pembuat Ramuan Obat dari batang tumbuhan *katola*, Komunikasi lisan.
- Weber, H. A., and Joseph, M., 2002., *Extraction and HPLC Analysis of Alkaloids in Goldenseal Application, Consumer Products and Drug Manufacturing/QA/QC*, Agilent Technologies, Inc. Wilmington USA.

---

\*Korespondensi : Muhammad Akhram Larisu  
Dinas Pendidikan Kabupaten Muna Sulawesi Tenggara  
Email : muhammad.larisu@gmail.com