

Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Biji Kecubung (*Datura metel L.*)

Opir Rumape¹, Riskah Fitriani Adam^{1*}, Deasy Natalia Botutihe¹, La Alio¹, Jafar La Kilo¹, Mardjan Papatungan¹

¹Department of Chemistry Universitas Negeri Gorontalo, Bone Bolango, Gorontalo, Indonesia, 96554

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan mengisolasi dan mengkarakterisasi senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada biji kecubung. Isolasi dilakukan dengan teknik ekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut metanol. Selanjutnya proses pemisahan untuk ekstrak kental metanol dilakukan menggunakan kromatografi kolom dengan campuran n-heksana : diklorometana : aseton(7:1,5:1,5). Uji fitokimia dari isolat murni memberikan hasil yang positif terhadap senyawa terpenoid. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh dari biji kecubung berupa kristal berwarna putih. Uji KLT dua dimensi dengan dua perbandingan campuran eluen yaitu n-heksan : etil asetat (7:3) sebagai E1 dengan harga R_f 0,162 dan kloroform : metanol (9,5:0,5) sebagai E2 dengan harga R_f 0,55 menghasilkan noda tunggal. Analisis spektrofotometer Uv-Vis dengan serapan panjang gelombang 281,00 nm dan 284,00 nm diakibatkan oleh adanya transisi $n - \pi^*$ yang disebabkan adanya ikatan kromofor C=O. Hasil ini didukung oleh data spektrum IR menghasilkan gugus-gugus fungsi ulur O-H (3440.77 cm^{-1}), ulur C-H gugus alkil (2935.46 cm^{-1}), ulur C-H alifatik (2858.31 cm^{-1}), ulur C=O (1739.67 cm^{-1}), ulur C=C aromatik (1620.09 dan 1569.95 cm^{-1}), tekuk C-H (1456.16 cm^{-1}), tekuk C-H (1415.65 dan 1404.08 cm^{-1}), dan ulur C-OH (1037.63 cm^{-1}) yang memungkinkan mengandung senyawa terpenoid.

Kata kunci: Isolasi; Karakterisasi; Senyawa Metabolit Sekunder; Biji Kecubung

ABSTRACT

This research aims to isolate and characterize Secondary Metabolites contained in Amethyst Seed. The isolation is conducted with an extraction technique through maceration using a methanol solvent. Then, the separation process for viscous methanol extract is conducted using column chromatography with a mixture of n-hexane : MTC : acetone (7:1, 5:1, 5). The phytochemical test of pure isolate provides positive results towards terpenoids. The findings reveal that compounds obtained from amethysts seed are white crystals. Two-dimensional of KLT test with only two comparisons of eluent mixture which are: n-hexane : ethyl acetate (7:3) as E1 with the value of R_f 0,162 and chloroform : methanol (9,5:0,5) as E2 with the value of R_f 0,55 which produces simple stain. The analysis of UV-Vis Spectrophotometer with wavelength uptake of 281,00 nm and 284,00 nm due to the transition of $n - \pi^$ which is caused by chromophore C=O. this result is supported by IR Spectroscopy which produces stretching functional groups O-H (3440.77 cm^{-1}), stretch C-H alkyl group (2935.46 cm^{-1}) stretch C-H aliphatic (2858.31 cm^{-1}) stretch C=O (1739.67 cm^{-1}), stretch C=C aromatic (1620.09 and 1569.95 cm^{-1}), bending C-H (1456.16 cm^{-1}), bending C-H (1415.65 and 1404.08 cm^{-1}) and stretch C-OH (1037.63 cm^{-1}) which possibly contains of terpenoids.*

Keywords: Isolation; Characterization; Secondary Metabolites; Amethyst seed

Received: 27-08-2021, Accepted: 03-10-2021, Online: 17-10-2021

PENDAHULUAN

Keanekaragaman tumbuhan menghasilkan berbagai senyawa metabolit sekunder. Ahli kimia organik berpendapat bahwa metabolit sekunder adalah bahan alam yang terpenting

*Corresponding author:
adam.riskah26@gmail.com

dalam kehidupan. Bahan alam selalu menarik perhatian para ahli kimia dan biologi. Hal ini yang menimbulkan tantangan bagi ahli kimia organik bahan alam untuk mengisolasi, mensintesis serta menguji bioaktivitas terhadap senyawa hasil isolasi (Manitto, 1992).

Tumbuhan menghasilkan metabolit sekunder yang berpotensi sebagai antioksidan, zat pewarna, penambah aroma makanan, parfum, insektisida dan obat. Ada 150.000 metabolit sekunder yang sudah diidentifikasi dan ada 4000 metabolit sekunder "baru" setiap tahun (G, 2006). Pemanfaatan keanekaragaman hayati (*bioprospecting*) sangat besar sekali, sekitar 80% manusia terutama di negara-negara sedang berkembang masih menggantungkan dirinya pada tumbuh-tumbuhan (ekstrak dan bahan bioaktif) sebagai bahan obat untuk menjaga kesehatannya. Akhir-akhir ini di dunia termasuk Indonesia ada kecenderungan untuk kembali kepada cara-cara pengobatan yang menerapkan konsep "*back to nature*" atau kembali ke alam, yakni memanfaatkan bahan-bahan alami secara optimal baik tumbuhan maupun hewan untuk menjaga kesehatan dan pengobatan (WHO, 2005)

Metabolit sekunder berupa molekul-molekul kecil, bersifat spesifik, artinya tidak semua organisme mengandung senyawa sejenis, mempunyai struktur yang bervariasi, setiap senyawa memiliki fungsi atau peranan yang berbeda-beda. Pada umumnya senyawa metabolit sekunder berfungsi untuk mempertahankan diri atau untuk mempertahankan eksistensinya di lingkungan tempatnya berada. Dalam perkembangannya senyawa metabolit sekunder tersebut dipelajari dalam disiplin ilmu tersendiri yaitu kimia bahan alam (*natural product chemistry*). Metabolit sekunder merupakan biomolekul yang dapat digunakan sebagai *lead compounds* dalam penemuan dan pengembangan obat-obat baru (Atun, 2010).

Salah satu tanaman yang mengandung metabolit sekunder adalah tanaman kecubung. Masyarakat gorontalo mengenal tumbuhan ini dengan nama bulutuhe. Kebanyakan masyarakat gorontalo memanfaatkan tanaman kecubung sebagai salah satu tanaman obat. Oleh karena itu, peneliti bermaksud melakukan penelitian dengan judul "Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Metabolit Sekunder Dari Ekstrak Metanol Biji Kecubung".

Permasalahan dalam penelitian ini yaitu senyawa metabolit sekunder apakah yang terkandung di dalam ekstrak metanol biji kecubung. Tujuan penelitian ini untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder apakah yang terkandung di dalam ekstrak metanol biji kecubung.

METODE PENELITIAN

Bahan

Bahan alam yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kecubung, dan bahan kimia seperti aquades, metanol, etil asetat, n-heksana, H₂SO₄ pekat, NaOH, serbuk Mg, pereaksi fitokimia (pereaksi Dragendorff, pereaksi Wagner, pereaksi Mayer, pereaksi hager), kloroform, asam asetat anhidrat, HCl 2 N, besi (III) klorida, MTC, dan Aseton.

Alat

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Rotary evaporator, pompa vakum, spektrofotometer UV-Vis, FTIR, oven, blender, neraca analitik, seperangkat alat maserasi, seperangkat alat kaca.

Prosedur

Biji kecubung sebanyak 600 gr dihaluskan dengan menggunakan blender. Sampel yang telah berbentuk serbuk tersebut dimaserasi dengan metanol pada suhu kamar selama 4 x 24 jam. Setiap 24 jam ekstrak disaring dan residunya dimaserasi kembali lagi dengan metanol

yang baru. Filtrat metanol dievaporasi pada suhu paling tinggi 30-40°C sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Kemudian dilakukan skrining fitokimia untuk mengetahui kandungan kimia utamanya. Selanjutnya ekstrak kental metanol dianalisis menggunakan KLT untuk mencari eluen terbaik yang digunakan dalam kromatografi kolom. Kromatografi kolom menggunakan kolom sepanjang 50 cm dengan diameter 2,5 cm. Fase diam yang digunakan adalah silika gel 60 (70-230 Mesh) dan fase gerak n-heksana, metilen klorida dan aseton dengan komposisi perbandingan mulai dari 7:1,5:1,5 sampai 1:4,5:4,5. Pembuatan kolom dilakukan dengan cara kering.

Isolat hasil pemisahan dan pemurnian dari fraksi metanol yang telah diuji fitokimia dan telah di kromatografi lapis tipis, selanjutnya diidentifikasi menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan spektrofotometer IR untuk mengetahui senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada biji kecubung.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji fitokimia merupakan uji senyawa kimia secara kualitatif terhadap suatu tanaman, atau uji yang dilakukan untuk menentukan kandungan senyawa metabolit sekunder dalam suatu sampel tumbuhan yang akan dianalisis. Hasil uji fitokimia ekstrak metanol biji kecubung disajikan pada Tabel 1.

Tabel 1 Hasil Uji Fitokimia Ekstrak Kental Metanol Biji Kecubung

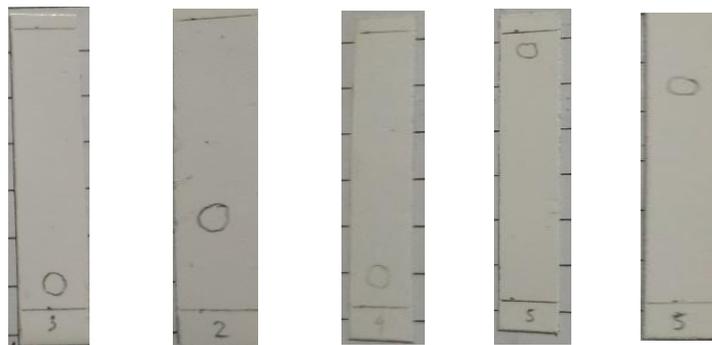
Sampel	Pereaksi	Perubahan warna	Hasil
Ekstrak metanol	HCl + serbuk Mg	Kuning keruh	Positif
	H ₂ SO ₄	Coklat kekuningan	Positif
	NaOH	Kuning kecoklatan	Positif
Ekstrak metanol	Mayer	Terbentuk endapan putih dan larutan berwarna keruh	Positif
		Terbentuk endapan kuning keruh dan larutan berwarna kuning kecoklatan	Positif
	Dragendorff	Terbentuk endapan merah dan larutan berwarna merah	Positif
Ekstrak metanol	Lieberman – Bouchard	Berwarna merah kecoklatan	Negatif
Ekstrak metanol	Lieberman – Bouchard	Berwarna merah kecoklatan	Positif
Ekstrak metanol	Aquades Panas	Berbentuk buih / busa	Positif
Ekstrak metanol	FeCl ₃ 1%	Berwarna merah kecoklatan	Negatif

Hasil uji fitokimia ekstrak kental metanol menunjukkan hasil positif flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tanin. Selanjutnya ekstrak metanol yang telah diuji fitokimianya dianalisis dengan menggunakan kromatografi lapis tipis sampai diperoleh pola pemisahan yang baik untuk melihat pola noda (kandungan senyawa). Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan suatu senyawa berdasarkan perbedaan distribusi dua fasa yaitu fasa diam dan fasa gerak. Kromatografi lapis tipis ini digunakan untuk mencari eluen terbaik dalam pemisahan senyawa. Eluen yang baik adalah eluen yang dapat memisahkan senyawa dalam jumlah yang banyak (J. B. Harborne, 1987).

Ekstrak metanol kemudian dilanjutkan pada tahap pemisahan menggunakan kromatografi kolom. Pemisahan menggunakan kromatografi kolom diawali dengan pengemasan kolom yaitu membuat filter dari kapas untuk menahan silika agar tidak keluar bersama pelarut. Pengemasan kolom dilakukan dengan cara kering, yaitu kolom diisi pelarut n-heksana kemudian dimasukkan silika gel kering secara perlahan-lahan, untuk mencegah terjadinya gelembung gas dan posisi kran dalam keadaan terbuka. Kolom dielusi kurang lebih 4 jam dan dibiarkan selama 1 malam. Ekstrak kental metanol sebanyak 10 gr ditambahkan dengan silika gel dan dicampurkan sampai ekstrak tercampur dengan rata kemudian dimasukkan ke dalam kolom dengan kran terbuka. Ekstrak dielusi dengan campuran eluen n-heksan: MTC: aseton dengan perbandingan 7:1,5:1,5 diperoleh 60 fraksi. 60 fraksi tersebut kemudian dianalisis dengan kromatografi lapis tipis menggunakan eluen n-heksan: MTC: aseton dengan perbandingan 7:1,5:1,5.

Jarak pemisahan senyawa pada plat silika gel tergantung pada polaritasnya. Senyawa yang tidak polar dan sedikit polar bergerak paling jauh dari titik awal penotolan, sedangkan senyawa paling polar bergerak naik dengan jarak paling dekat dari titik awal penotolan tersebut. Hal ini dikarenakan senyawa polar akan lebih teradsorpsi pada plat silika gel dibandingkan senyawa non polar. Kekuatan adsorpsi pada plat silika gel tergantung pada kuat lemahnya interaksi antara senyawa, pelarut, dan adsorben (Padmawinata,1991 dalam Septyaningsih, 2010). Dari hasil KLT di atas, fraksi yang memiliki pola noda yang sama dan memiliki noda tunggal digabung (disatukan) hingga diperoleh 3 fraksi.

Pada fraksi A1 menghasilkan kristal yang bentuknya mirip seperti endapan yang melengket pada dinding-dinding botol vial. Namun tidak pada fraksi A2 dan A3, pada fraksi ini keduanya tidak menghasilkan kristal. Selanjutnya fraksi A1 dilakukan uji kemurnian menggunakan metode KLT dengan beberapa perbandingan eluen untuk melihat pola noda yang dihasilkan seperti yang terlihat pada Gambar 3.



Gambar 3. Profil Kromatogram KLT Fraksi A1 Dengan Eluen. (a) n-heksan: Etil Asetat: Metanol 9:0,5:0,5, (b) n-heksan: Kloroform: Metanol 9:1:1, (c) n-heksan: Etil Asetat 8,5:2,5, (d) Kloroform : Metanol 9:1, (e) Kloroform : Metanol 9,5:0,5

Berdasarkan gambar 3 diatas, diperoleh nilai Rf dari hasil kromatografi lapis tipis fraksi A1 dengan eluen yang bervariasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Nilai Rf Dari Berbagai Campuran Eluen

Eluen	Nilai Rf
n-heksan:etil asetat:metanol (9:0,5:0,5)	0,365
n-heksan:kloroform:metanol (9:1:1)	0,130
n-heksan:etil asetat (8,5:2,5)	0,170

kloroform:metanol (9:1)	0,952
kloroform:metanol (9,5:0,5)	0,744

Selanjutnya fraksi A1 dilakukan uji kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan eluen pertama (E1) menggunakan n-heksan : etil asetat (7:3), elusi kedua (E2) dengan eluen kloroform : metanol (9,5:0,5). Hasil yang diperoleh nilai Rf E1 dan E2 berturut-turut 0,162 dan 0,55. Tujuan dilakukannya kromatografi lapis tipis dua dimensi yaitu untuk melihat apakah isolat ini benar-benar murni dengan perbandingan eluen yang berbeda-beda (Weny et.al, 2017). Hasil kromatografi lapis tipis dua dimensi menunjukkan adanya noda tunggal pada plat maka dapat dilihat pada Gambar 4. Selanjutnya fraksi A1 dilakukan uji kromatografi lapis tipis dua dimensi dengan eluen pertama (E1) menggunakan n-heksan : etil asetat (7:3), elusi kedua (E2) dengan eluen kloroform : metanol (9,5:0,5). Hasil yang diperoleh nilai Rf E1 dan E2 berturut-turut 0,162 dan 0,55. Tujuan dilakukannya kromatografi lapis tipis dua dimensi yaitu untuk melihat apakah isolat ini benar-benar murni dengan perbandingan eluen yang berbeda-beda (Weny et.al, 2017). Hasil kromatografi lapis tipis dua dimensi menunjukkan adanya noda tunggal pada plat.

Fraksi hasil kromatografi kolom yang merupakan isolat murni dilakukan uji fitokimia dan diperoleh hasil seperti pada Tabel 3.

Tabel 3. Hasil Uji Fitokimia Isolat Murni

Golongan Senyawa	Uji/Pereaksi	Hasil Uji	Ket
Flavonoid	NaOH	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna dari semua pereaksi
	H ₂ SO ₄		
	Mg-HCl		
Alkaloid	Mayer	Negatif	Tidak terbentuk endapan dari semua pereaksi
	Wagner		
	Dragendorff		
Steroid	Hager	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna
	Lieberman-Buchard		
Terpenoid	Lieberman-Buchard	Positif	Merah kecoklatan
Saponin	Aquades Panas	Negatif	Tidak terbentuk buih/busa
Tanin	FeCl ₃ 1%	Negatif	Tidak terjadi perubahan warna
	H ₂ SO ₄ pekat		

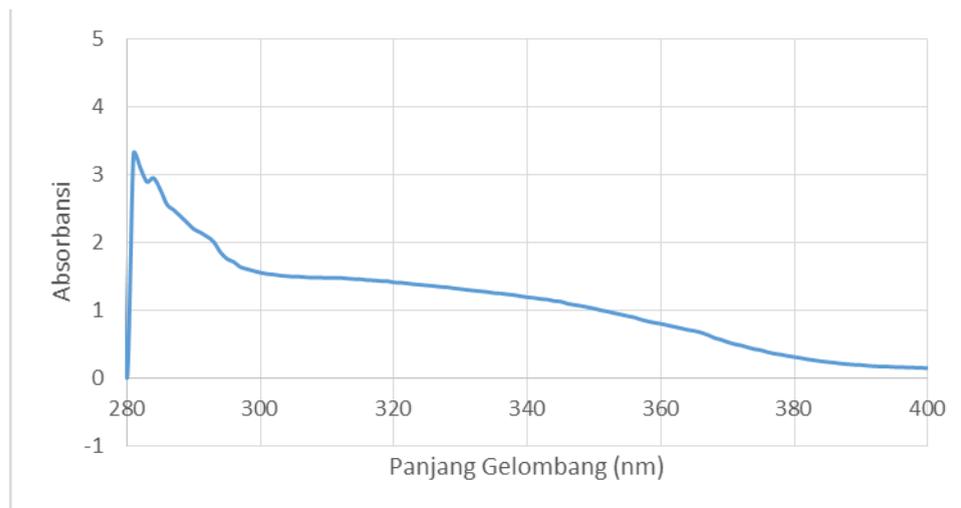
Berdasarkan hasil uji fitokimia isolat murni menunjukkan bahwa isolat murni biji kecubung mengandung terpenoid, hal ini dibuktikan dengan terbentuknya warna merah kecoklatan pada saat direaksikan dengan Lieberman-Buchard, sementara uji flavonoid, alkaloid, steroid, saponin, dan tanin menunjukkan hasil negatif saat direaksikan dengan pereaksi dari masing-masing uji.

Isolat yang relatif murni selanjutnya dianalisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan IR. Pada Gambar 4.5 spektrum serapan spektrofotometer UV-Vis terlihat dua pita serapan masing-masing pada panjang gelombang 281,00 nm dan 284,00 nm dengan berturut-turut

absorbansi 3.3057 dan 2.9481. Pada umumnya senyawa yang mempunyai gugus tak jenuh yang mengalami transisi $n - \pi^*$ dan $\pi - \pi^*$ (disebabkan oleh struktur kromofor yang memiliki ikatan rangkap terkonjugasi) (Supratman, 2010).

Senyawa yang mempunyai transisi $n - \pi^*$ mengadsorpsi cahaya di daerah ultraviolet (200 – 400 nm) (Creswell et.al, 2005). Dimana jika semakin besar panjang gelombang yang dihasilkan maka energi dan pita yang dihasilkan semakin kecil, begitu juga sebaliknya (karena energi dan pita berbanding lurus, sedangkan panjang gelombang berbanding terbalik dengan energi dan pita). Adanya serapan maksimum pada panjang gelombang ini diduga diakibatkan oleh adanya ikatan kromofor C=O.

Hal ini didukung menurut Hartanto dan Nurul (2012) dalam hasil penelitian mereka menyebutkan bahwa adanya pita lemah pada daerah sekitar 275-295 nm merupakan petunjuk adanya gugus keton atau karbonil aldehida. Keton dan aldehyd jenuh menunjukkan pita terlarang simetri yang lemah pada daerah 275-295 nm dengan ϵ -20, merupakan hasil dari eksitasi elektron sunyi oksigen ke orbital anti-ikatan gugus karbonil. Keton α,β - tak jenuh menunjukkan pita $n - \pi^*$ sedikit lebih kuat atau suatu seri pita dengan ϵ -100 pada 300-500 nm. Menurut Rita (2010), munculnya serapan landai pada panjang gelombang 280 nm kemungkinan diakibatkan oleh terjadinya transisi elektron dari $n - \pi^*$ yang disebabkan oleh adanya ikatan rangkap C=O. Pita pada daerah 281,00 nm dan 284,00 nm diduga sebagai daerah serapan dari senyawa terpenoid.



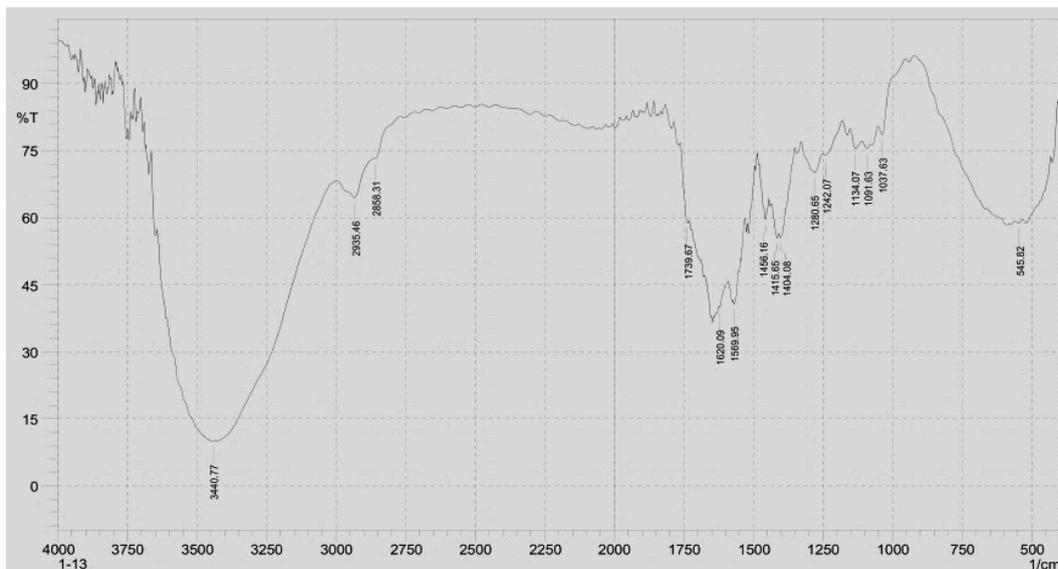
Gambar 5. Spektrum UV-Vis Isolat Fraksi A1

Hasil analisis UV-Vis didukung dengan data Data analisis spektrum inframerah dari isolat fraksi A1 pada tabel menunjukkan kemungkinan terdapat beberapa gugus fungsi. Pada daerah bilangan gelombang (ν) 3440.77 cm^{-1} yang ditandai dengan pita lebar dengan intensitas kuat yang diidentifikasi sebagai ulur O-H. Vibrasi ikatan ini diduga merupakan vibrasi dari gugus O-H yang mengalami ikatan hidrogen antar molekul. Sebagaimana oleh Supratman (2010) memberikan pada panjang gelombang $3800 - 2700 \text{ cm}^{-1}$ dan Dachriyanus (2004) memberikan serapan pada panjang gelombang $3750 - 3000 \text{ cm}^{-1}$. Dugaan ini didukung dengan adanya serapan tajam dengan intensitas kuat pada daerah bilangan gelombang 1037.63 cm^{-1} yang diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-OH.

Serapan tajam dengan intensitas sedang tampak pada daerah bilangan gelombang 2935.46 cm^{-1} yang merupakan vibrasi ulur C-H gugus alkil. Selanjutnya serapan pada daerah

bilangan gelombang 2858.31 cm^{-1} diidentifikasi sebagai vibrasi ulur C-H alifatik yang ditandai dengan serapan lebar dan lemah. Sifat khas C-H gugus alkil dan C-H alifatik yang ditandai dengan adanya serapan pada daerah bilangan gelombang $3000\text{-}2700\text{ cm}^{-1}$. Keberadaan C-H gugus alkil dan C-H bending diperkuat dengan adanya vibrasi tekuk pada daerah bilangan gelombang 1456.16 dan 1415.65 dan 1404.08 .

Hal ini juga didukung oleh Dachriyanus (2004) memberikan serapan pada panjang gelombang $1475\text{-}1300\text{ cm}^{-1}$. Serapan pada bilangan gelombang 1037.63 cm^{-1} mengidentifikasikan uluran C-OH, dimana hampir sama dengan bilangan gelombang dari Supratman (2010) yaitu antara $1300\text{ - }800\text{ cm}^{-1}$ dan Dachriyanus (2004) yaitu $1000\text{ - }650\text{ cm}^{-1}$. Spektrum IR isolat murni dapat dilihat pada Gambar 6.



Gambar 6. Spektrum Inframerah Isolat Hasil Kromatografi Kolom Fraksi A1 Ekstrak Metanol Biji Kecubung

Berdasarkan hasil uji fitokimia yang didukung oleh hasil UV-Vis dan IR maka dapat disimpulkan bahwa isolat murni diduga merupakan senyawa terpenoid.

Simpulan

Hasil uji fitokimia terhadap ekstrak metanol biji kecubung positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin. Adapun hasil uji fitokimia terhadap isolat murni dari ekstrak biji kecubung menunjukkan adanya senyawa yang diduga sebagai terpenoid. Hal ini didukung oleh hasil analisis UV-Vis dan IR. Spektrum dengan serapan panjang gelombang 281.00 nm dan 284.00 nm diakibatkan oleh adanya transisi $n - \pi^*$ (ikatan kromofor C=O). Hasil spektrum IR dari isolat murni ekstrak biji kecubung diperoleh uluran O-H (3440.77 cm^{-1}), uluran C-H gugus alkil (2935.46 cm^{-1}), uluran C-H alifatik (2858.31 cm^{-1}), uluran C=O (1739.67 cm^{-1}), uluran C=C aromatik (1620.09 dan 1569.95 cm^{-1}), tekuk C-H (1456.16 cm^{-1}), tekuk C-H (1415.65 dan 1404.08 cm^{-1}), dan uluran C-OH (1037.63 cm^{-1}).

DAFTAR PUSTAKA

Creswell, C., Olaf, A. R., & Campbell, M. M. (2005). *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.

- Dachriyanus, P. D. (2004). *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Padang Sumatera Barat: Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas.
- G, I. (2006). *Prospek (Kimia) Bahan Alam untuk Penemuan Obat Baru*. Kalimantan Timur: Pendidikan Program Studi, Universitas Mulawarman.
- Harborne, J. B. (1987). *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Bandung: Institut Teknologi Bandung.
- Manitto, P. (1992). *Biosintesis Produk Alami*. Semarang: IKIP Semarang Press.
- Satrio, Hartanto., Dan Nurul, H. (2012). *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Terpen Dari Ekstrak Kulit Batang Aglaia Odorata Lour (Meliaceae)*. *Jurusan Kimia Fakultas Matematika Dan Ilmu Pengetahuan Alam*. Jl. Kelintang Surabaya: Universitas Negeri Surabaya.
- WHO (2005). *National Policy on Traditional Medicine and Regulation of Herbal Medicines*. Geneva: Report of a WHO global survey.
- Rita, W. S. (2010). *Isolasi, Identifikasi, dan Uji aktivitas Antibakteri Senyawa Golongan Triterpenoid Pada Rimpang Temu Putih (Curcuma Zedoaria (Berg.) Roscoe)*. *JURNAL KIMIA 4 (1)*, (ISSN 1907-9850), 20–26.
- Septyaningsih, D. (2010). *Isolasi dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Biji Buah Merah (Pandanus Conoideus Lamk)*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta.
- Supratman, U. (2010). *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjadjaran.
- Musa. Weny, Duengo, S & R. H. T. (2017). *Senyawa Triterpenoid Dari Tumbuhan Mangrove (Sonneratia Alba)*. *Journal ITEKIMA, Vol.1, No.1*(ISSN: 2548-947x).