

AKTIVITAS ANTIBAKTERI FRAKSI *n*-HEKSAN EKSTRAK METANOL DAUN SOSOR BEBEK (*Kalanchoe pinnata* Pers.) SERTA IDENTIFIKASI SENYAWA AKTIFNYA

Ayu Ina Solichah^{1,*}, Maulita Cut Nuria^{2,*}, Sumantri^{3,*}

1)2)Jurusan S1 Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Wahid Hasyim Semarang-50236, Indonesia
*email: ayuinas87@gmail.com

3)Jurusan Farmasi, Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada Yogyakarta-55281, Indonesia

ABSTRAK

Tanaman sosor bebek secara empiris digunakan untuk mengobati bisul, koreng, diare, dan batuk darah. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek (*Kalanchoe pinnata* Pers.) terhadap bakteri Gram positif (*S.aureus*, *B.subtilis*) dan Gram negatif (*P.aeruginosa*, *E.coli*, *S.typhi*), mengetahui seberapa besar aktivitas antibakteri yang ditimbulkan fraksi tersebut terhadap bakteri uji, serta mengidentifikasi senyawa aktif nya.

Ekstrak metanol daun sosor bebek dibuat dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol, kemudian difraksinasi dengan pelarut *n*-heksan secara partisi cair-cair. Fraksi *n*-heksan diuji aktivitasnya dengan metode difusi pada konsentrasi 5120, 4400, 3840, 2560, dan 1920 µg/disk. Identifikasi senyawa aktif dari fraksi tersebut menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dengan fase diam selulosa dan fase gerak etil asetat : asam formiat : asam asetat : air (100:11:11:27).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek mempunyai aktivitas terhadap bakteri Gram positif tetapi tidak pada Gram negatif. Fraksi uji tersebut dapat menghambat *S.aureus* mulai konsentrasi 1920 µg/disk dengan DDH sebesar 6,5 mm, sedangkan pada *B.Subtilis* mulai terlihat aktivitas pada konsentrasi 5120 µg/disk dengan DDH sebesar 10,83 mm. Identifikasi senyawa aktif menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksan tersebut mengandung senyawa flavonoid.

Kata kunci : Fraksi *n*-heksan, daun sosor bebek, antibakteri, flavonoid

PENDAHULUAN

Obat dan pengobatan tradisional sudah ada di Indonesia sejak ribuan tahun yang lalu, jauh sebelum pelayanan kesehatan formal dengan obat-obatan modern dikenal masyarakat (Wijayakusuma, 2000). Obat tradisional ini dapat dijadikan sumber informasi penggunaan empiris dan dapat pula dilakukan pengkajian serta pengujian manfaat dan keamanan, yang hasilnya dapat diinformasikan kembali pada masyarakat (Anonim, 2000c).

Prevalensi penyakit infeksi masih cukup tinggi di negara-negara berkembang. Kasus infeksi saluran pernafasan atas dan bawah, diare, serta infeksi kulit menempati 10 besar penyakit yang banyak dijumpai di Indonesia (Anonim, 2010a). Data dari WHO tahun 2002 menyebutkan bahwa penyakit infeksi seperti infeksi pernafasan bawah, diare dan tuberkulosis (TB) masih banyak dijumpai di

dunia, dan menyebabkan kematian (Mathers dan Loncar, 2005).

Penelitian mengenai obat tradisional khususnya yang bahannya berupa tanaman obat, terus berlangsung bahkan meningkat jumlahnya akhir-akhir ini. Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah sosor bebek.

Penelitian sebelumnya menyebutkan ekstrak dari daun sosor bebek memiliki aktivitas antibakteri. Cairan penyari yang digunakan adalah air, metanol, eter dan pelarut lokal seperti *palmwine*. Ekstrak yang dihasilkan kemudian diuji pada bakteri Gram positif, Gram negatif dan jamur. Bakteri Gram positif lebih sensitif terhadap ekstrak metanol dibandingkan ekstrak- ekstrak lainnya (Akinsulire dkk., 2007).

Penelitian ini merupakan kelanjutan dari penelitian tersebut yaitu melanjutkan pada tahap fraksinasi ekstrak. Penelitian ini bertujuan untuk

mengetahui ada atau tidaknya aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek serta besarnya aktivitas tersebut. Tujuan lainnya adalah mengetahui senyawa aktif yang terkandung di dalam fraksi tersebut.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

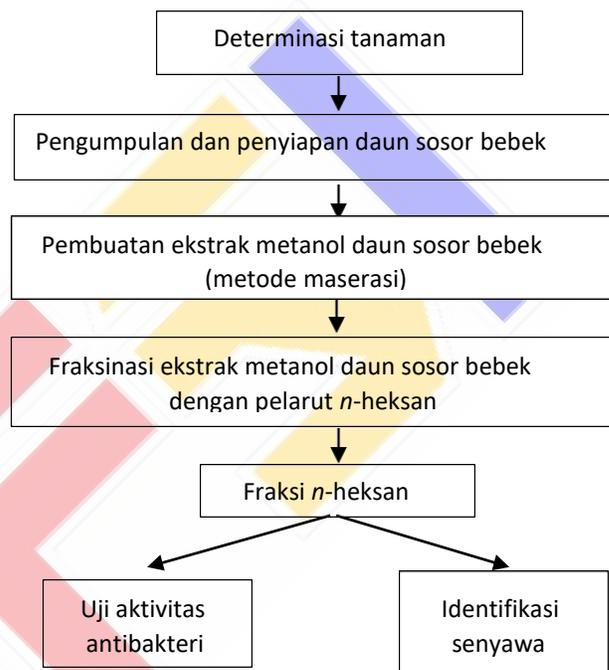
1. Alat

- Pembuatan serbuk dan pengukuran kadar air : blender (Miyako Motor Safety BC-10165), timbangan kilogram, timbangan gram (Five Goats), oven lokal, timbangan analitik (Ohaus-kapasitas 300 g, kepekaan 0,001), moisture balance (Ohaus, type MB 23).
- Pembuatan ekstrak : seperangkat alat maserasi, corong Buchner, alat-alat gelas (Pyrex), rotary evaporator (Eyela Rotary Vacuum Evaporator N-N series SB-651).
- Fraksinasi : corong pisah (Pyrex) dan *water bath* (Nuohai XMTD-204).
- Uji aktivitas antibakteri : inkubator (Binder), autoklaf (All American), oven (Mettler), LAF (105/118), mikropipet (Socorex).
- Uji KLT : bejana kromatografi, lampu UV 254 nm dan UV 365 nm.

2. Bahan

- Bahan penelitian : Daun sosor bebek (*Kalanchoe pinnata* Pers.)
- Bahan penyari : Metanol (berderajat teknis)
- Bahan fraksinasi dengan metode partisi cair-cair : *n*-heksan, aquadest dan metanol (berderajat teknis).
- Bahan untuk uji aktivitas antibakteri : NaCl 0,9% steril, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus subtilis* ATCC 9466, *Escherichia coli* ATCC25922, *Pseudomonas aeruginosa* dan *Salmonella typhi*, Nutrient Broth (NB), Nutrient Agar (NA), dan Triple Sugar Iron Agar (TSIA) (Merck), pelarut DMSO (Merck), alkohol 70% (Brataco), kloramfenikol 30 µg/disk dan streptomisin 10 µg/disk (Oxoid)
- Bahan untuk uji kromatografi lapis tipis :

Selulosa (Merck), Etil Asetat, Asam Formiat, Asam Asetat dan Air (berderajat pro analisis) (Merck), Uap Amoniak, Rutin (Sigma Aldrich).



Gambar 1. Alur penelitian

Jalannya Penelitian

1. Pengumpulan dan Penyiapan Daun Sosor Bebek

Daun sosor bebek segar yang sudah siap, dipetik, dicuci dan dibilas dengan air bersih mengalir, kemudian ditiriskan dan diangin-anginkan. Setelah itu dikeringkan dengan oven pada suhu 70°C. Setelah kering, daun sosor bebek diserbuk sampai halus dengan blender. Kemudian diayak dengan ayakan 50 mesh.

2. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Sosor Bebek

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode maserasi. 500 gram simplisia dimasukkan dalam bejana, ditambah pelarut metanol 5000 ml yang dibagi menjadi 2 bagian. Bagian pertama 75% pelarut metanol digunakan untuk maserasi bagian pertama, ditutup dan dibiarkan selama 2 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk. Setelah 2 hari campuran tersebut diserkai, diperas, dipisahkan filtrat (1) dan ampasnya. Kemudian ampas diremaserasi dengan 25%

pelarut, aduk, serkai dan peras, pisahkan filtrat (2) dan ampasnya. Ampas dibuang, filtrat (1) dan (2) dicampur. Filtrat yang diperoleh dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu 58°C hingga diperoleh ekstrak kental. Ekstrak metanol daun sosor bebek selanjutnya dikumpulkan dan ditimbang bobotnya untuk menghitung rendemen yang dihasilkan.

3. Proses Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Sosor Bebek dengan Sistem Partisi Cair-cair

Sejumlah 50 gram ekstrak kental daun sosor bebek dilarutkan ke dalam campuran air-metanol (9:1) hingga seluruh ekstrak larut sempurna. Selanjutnya campuran tersebut difraksinasi dengan *n*-heksan menggunakan corong pisah dan proses ini dilakukan sebanyak 3 kali (hingga fraksi *n*-heksan tampak jernih). Jumlah pelarut yang digunakan untuk fraksinasi sebanding dengan jumlah air yang ditambahkan ke dalam ekstrak metanol (perbandingan 1:1). Fraksi *n*-heksan ditampung dan diuapkan menggunakan *water bath* pada suhu 50°C kemudian dihitung rendemen fraksi yang didapat.

4. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

a. Pembuatan biakan bakteri

Biakan murni bakteri *P.aeruginosa*, *E.coli* ATCC 25922, *S.typhi*, *B.subtilis* ATCC 9466 dan *S.aureus* ATCC 25923 yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Provinsi Jawa Tengah. Bakteri tersebut diambil dengan ose steril dari biakan murninya, kemudian disuspensikan pada media BHI dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Selanjutnya bakteri *E.coli* ATCC 25922, *B.subtilis* ATCC 9466 dan *S.aureus* ATCC 25923 ditanam pada media NA, sedangkan bakteri *P.aeruginosa* dan *S.thypi* ditanam pada media TSA. Biakan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam.

b. Pembuatan larutan uji

Larutan uji dibuat dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek dengan melarutkan fraksi tersebut dalam DMSO. Konsentrasi larutan uji yang digunakan adalah 512, 440, 384, 256 dan 192 mg/ml.

Larutan uji tersebut dipipet sebanyak 10 µl dan konsentrasinya dikonversi (dalam satuan µg) sesuai dengan kontrol positif yang digunakan.

c. Pengujian aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan metode difusi. Suspensi bakteri sebanyak 200 µl dimasukkan ke dalam erlenmeyer berisi 20 ml media NA (dalam keadaan hangat), lalu dihomogenkan dan dituang ke dalam cawan petri. Ditunggu beberapa saat hingga media memadat. Larutan uji sebanyak 10 µl diteteskan pada cakram kertas saring, kemudian diletakkan pada masing-masing sektor. Kontrol positif untuk uji aktivitas terhadap bakteri *S.aureus*, *B.subtilis*, *E.coli* dan *S.typhi* menggunakan kloramfenikol 30 µg/disk, sedangkan untuk *P.aeruginosa* menggunakan streptomisin 10 µg/disk. Cawan petri kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-24 jam dan diamati diameter daerah hambatan (DDH) yang terjadi pada masing-masing konsentrasi.

5. Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi *n*-heksan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Identifikasi kandungan kimia dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek dilakukan untuk mendeteksi adanya senyawa golongan flavonoid. Fase diamnya adalah selulosa, sedangkan fase geraknya adalah etil asetat, asam formiat, asam asetat, air (100:11:11:27) (Wagner, 1984).

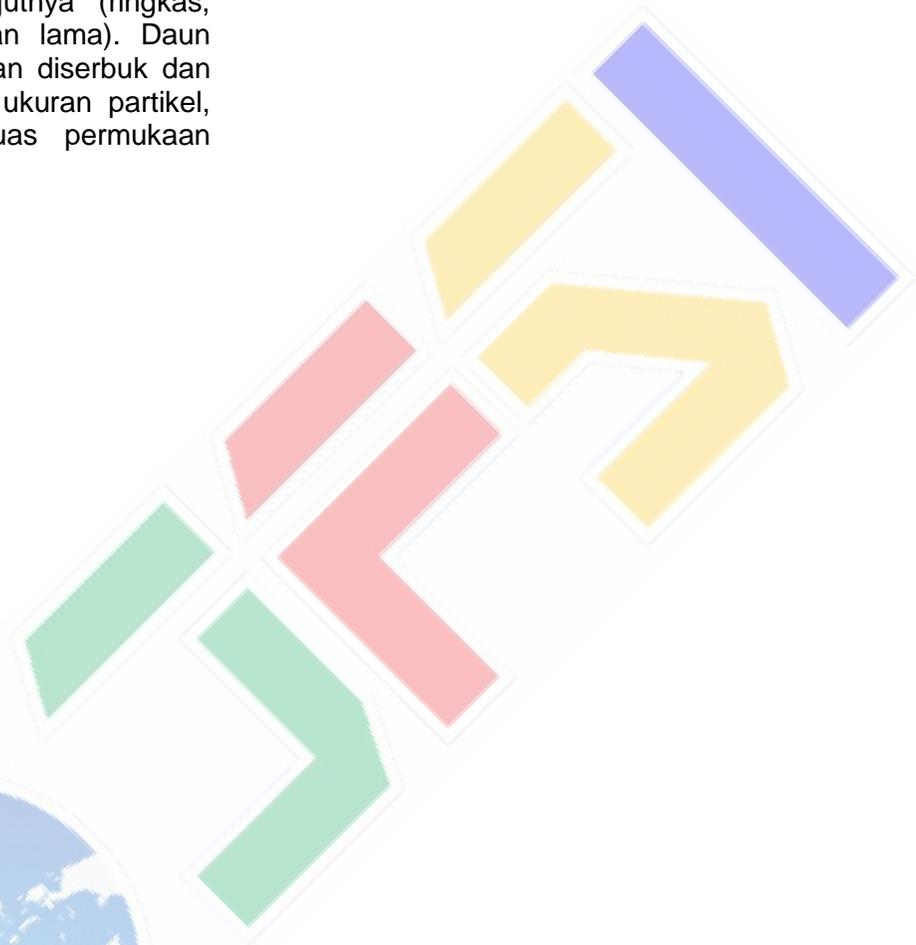
Bejana pengembang sebelumnya telah dijenuhi dengan fase gerak yang akan digunakan. Lalu fraksi *n*-heksan ditotolkan pada lempeng selulosa, kemudian dielus. Lempeng kemudian dikeringkan dan bercak dilihat dibawah sinar UV_{254 nm} dan UV_{365 nm}. Deteksi menggunakan penampak bercak uap ammonia, diamati pada sinar tampak lalu dihitung nilai R_f-nya.

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

1. Pengumpulan dan Penyiapan Daun Sosor Bebek

Daun sosor bebek segar, dipetik, kemudian dikeringkan dalam oven pada suhu 70°C selama lima hari. Pengeringan bertujuan

untuk menurunkan kadar air dalam daun, sehingga tidak mudah ditumbuhi kapang dan bakteri, menghilangkan aktivitas enzim yang dapat menguraikan lebih lanjut kandungan zat aktif, serta memudahkan dalam hal pengelolaan proses selanjutnya (ringkas, mudah disimpan dan tahan lama). Daun yang sudah kering kemudian diserbuk dan diayak untuk memperkecil ukuran partikel, sehingga memperbesar luas permukaan yang kontak dengan pelarut.



Kemudian diuji kadar airnya, dan di dapatkan hasil 8% (Gunawan dan Mulyani, 2004).

2. Pembuatan Ekstrak Metanol Daun Sosor Bebek

Serbuk daun sosor bebek diekstraksi dengan metode maserasi yang didasarkan pada prinsip perpindahan massa komponen zat aktif kedalam pelarut, dimana perpindahan mulai terjadi pada lapisan antar muka kemudian berdifusi masuk ke dalam pelarut (Harborne, 1987). Penyari yang digunakan dalam penelitian ini adalah metanol.

Ekstraksi tersebut menghasilkan filtrat sebanyak 3870 ml. Kemudian filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator*. Prinsip utama alat ini terletak pada penurunan tekanan sehingga pelarut dapat menguap pada suhu di bawah titik didihnya, sehingga zat yang terkandung di dalam pelarut tidak rusak (Ashari, 2009). Ekstrak kental yang dihasilkan sebanyak 150 g, sehingga rendemen hasil yang diperoleh adalah 30 %^{b/b}.

3. Proses Fraksinasi Ekstrak Metanol Daun Sosor Bebek dengan metode Partisi Cair-cair

Fraksinasi digunakan untuk memekatkan senyawa yang ada di dalam sampel dengan jumlah kecil sehingga tidak menyulitkan dalam proses deteksi atau kuantifikasinya (Gandjar dan Rohman, 2007). Fraksi *n*-heksan yang diperoleh kemudian diuapkan dengan penangas air. Bobot fraksi tersebut adalah 8,556 gram, sehingga rendemennya adalah 1,71 %^{b/b}.

4. Uji Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-heksan dengan Metode Difusi Agar

Aktivitas antibakteri ditunjukkan dengan ada atau tidaknya daerah hambat yang dihasilkan oleh larutan uji. Hasil penelitian menunjukkan bahwa fraksi tersebut dapat menghambat pertumbuhan *S.aureus* dan *B.subtilis*, tetapi tidak dapat menghambat pertumbuhan *P.aeruginosa*, *E.coli* dan *S.typhi*. Bila terbentuk suatu zona *irradikal* pada larutan uji maka DDH tidak dihitung (Gambar 1 dan tabel I).



Gambar 1. Aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek

Tabel I. DDH fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek

Konsentrasi (µg/disk)	Diameter Daerah Hambat (mm)				
	<i>S. aureus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhi</i>
5120	10,67	10,83	-	-	-
4400	8,67	-	-	-	-
3840	7,5	-	-	-	-
2560	7,3	-	-	-	-
1920	6,5	-	-	-	-
Kloramfenikol 30	16,5	17,08		10,25	12,55
Streptomisin 10			14,75		
DMSO	-	-	-	-	-

Hasil uji aktivitas terhadap *S. aureus* menunjukkan bahwa semakin besar konsentrasi larutan uji maka semakin besar pula DDH yang dihasilkan. Akan tetapi hal tersebut tidak terjadi pada *B. subtilis* karena fraksi *n*-heksan baru bisa memberikan zona *radikal* mulai kadar 5120 µg/disk. Pada kadar 1920 µg/disk hingga 4440 µg/disk daerah hambat yang diamati hanya berupa zona *irradikal*.

Fraksi *n*-heksan mulai memberi aktivitas antibakteri pada konsentrasi 1920 µg/disk pada *S. aureus*, sedangkan konsentrasi kontrol positifnya 30 µg/disk, hasil tersebut menunjukkan bahwa potensi aktivitas antibakteri dari fraksi *n*-heksan tidak lebih aktif dibandingkan kontrol positifnya. Hal ini kemungkinan disebabkan karena jenis flavonoid yang berkhasiat sebagai antibakteri dalam fraksi ini masih dalam bentuk glikosidanya. Analisis flavonoid dalam tumbuhan sebaiknya dilakukan dalam bentuk aglikon yang telah dihidrolisis menggunakan HCl 2M dalam tabung reaksi dan dipanaskan selama 30-40 menit pada suhu

100°C (Harborne, 1987), oleh karena itu perlu dilakukan penelitian lebih lanjut.

5. Identifikasi Senyawa Aktif dari Fraksi *n*-heksan dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fraksi *n*-heksan dari ekstrak metanol daun sosor bebek mengandung senyawa yang diduga dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Senyawa yang dapat tertarik dalam fraksi *n*-heksan diantaranya adalah flavonoid. Kemudian dilakukan identifikasi terhadap flavonoid menggunakan KLT. (Wagner, 1984).

Kromatogram yang dihasilkan oleh fraksi *n*-heksan adalah dua buah bercak berwarna kuning di daerah sinar tampak dengan *R_f* 0,55 dan 0,96 (Gambar 2 dan Tabel II). Dua buah bercak dengan nilai *R_f* berbeda tersebut terjadi karena perbedaan polaritas dari komponen aktif. Komponen kimia yang terkandung dalam fraksi *n*-heksan bergerak naik mengikuti fase gerak karena daya serap adsorben (fase diam) terhadap komponen kimia berbeda-beda, sehingga komponen kimia dapat bergerak dengan kecepatan yang berbeda berdasarkan tingkat kepolarannya. Hal inilah yang menyebabkan pemisahan. Komponen yang lebih polar akan berinteraksi lebih kuat dengan fase gerak yang sifatnya polar sedangkan komponen non polar akan tertahan pada fase diam yang bersifat non polar (selulosa).

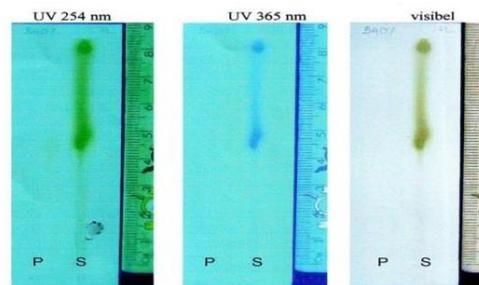
Bercak pada kromatogram biasanya tidak berwarna sehingga untuk penentuannya dapat dilakukan dengan cara modifikasi kimia untuk membentuk senyawa berwarna. Modifikasi kimia yang dapat dilakukan untuk mendeteksi bercak adalah dengan menggunakan reagen penampak bercak dengan disemprot atau dicelup. Warna kuning terbentuk setelah bercak diuapi oleh amonia yang bersifat destruktif atau reduktor yang dapat merusak gugus kromofor yang ada pada senyawa uji sehingga akan terjadi pergeseran panjang gelombang ke arah yang lebih besar (*batokromik*). Warna kuning ini menunjukkan adanya flavonoid yang termasuk ke dalam golongan flavon dan flavonol (Robinson, 1995). Pada UV_{254 nm} bercak tampak berwarna kuning kehijauan karena senyawa tersebut mengandung kromofor. Kromofor merupakan gugus-gugus fungsional yang dapat mengabsorpsi radiasi UV dekat dan visibel jika

diikat oleh senyawa-senyawa bukan pengabsorpsi. Hampir semua kromofor mempunyai ikatan rangkap (Fatah, 1982). Jika senyawa yang mengandung kromofor dibaca pada panjang gelombang tersebut maka akan menghasilkan energi yang lebih tinggi sehingga bercak dapat terlihat dengan jelas. Pada UV_{365 nm} terjadi pemadaman pada bercak karena energi yang dihasilkan bercak tidak mampu mencapai energi pada UV 365 nm.

Flavonoid merupakan golongan senyawa fenol (Harborne, 1987). Senyawa fenol dapat bersifat sebagai koagulator protein. Protein yang menggumpal akan mengakibatkan proses pembentukan dinding sel bakteri terganggu, sehingga bakteri bisa dihambat pertumbuhannya. Mekanisme kerja flavonoid sebagai anti bakteri adalah mendenaturasi protein sel dan merusak keutuhan membran sel bakteri tanpa bisa diperbaiki lagi (Dwidjoseputro, 2001).

KROMATOGRAM

Kode : 112-01-001-5407
Sampel : Fraksi hexan dari ekstrak metanol daun sosor bebek
Analisa : Flavonoid
Metode : TLC
Fase Diam : Cellulose
Fase Gerak : Etil Asetat – Asam Formiat – Asam Asetat – Air (100-11-11-27)
Pereaksi : Uap Amoniak



P : Pembanding Rutin
S : Fraksi hexan dari ekstrak metanol daun sosor bebek

Warna spot flavonoid di visibel : kuning
R_f flavonoid terdeteksi : 0,55 ; 0,96

Ref:
Wagner, H., Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas, Springer-Verlag, 1984, p. 164.

Gambar 2. Kromatogram identifikasi flavonoid dari fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek (S) dibandingkan dengan pembanding rutin (P)

Tabel II. Hasil uji kualitatif golongan senyawa aktif dalam fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek dengan metode KLT

Bahan uji	Senyawa terdeteksi	<i>R_f</i>
Sampel	Flavonoid	0,55 dan 0,96

Baku pembanding	Rutin	0,63
-----------------	-------	------

Gram positif mengandung satu lapis peptidoglikan yang bersifat semi polar, sedangkan pada bakteri Gram negatif mengandung lipid yang bersifat non polar. Secara teoritis fraksi *n*-heksan dapat menghambat bakteri Gram positif maupun negatif, tetapi hasil penelitian menunjukkan hanya bakteri Gram positif saja yang bisa dihambat. Hal ini bias terjadi karena struktur dinding sel Gram negatif berlapis dan komponennya lebih kompleks (Waluyo, 2004).

KESIMPULAN

1. Fraksi *n*-heksan ekstrak metanol daun sosor bebek memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S.aureus* dan *B.subtilis*, tetapi tidak memiliki aktivitas antibakteri terhadap *P.aeruginosa*, *E.coli* dan *S.typhi*.
2. Fraksi tersebut dapat menghambat bakteri *S.aureus* mulai konsentrasi 1920 µg/disk dengan DDH 6,5 mm, sedangkan pada bakteri *B.subtilis* pada konsentrasi 5120 µg/disk dengan DDH 10,83 mm.
3. Fraksi *n*-heksan mengandung senyawa golongan flavonoid.

DAFTAR PUSTAKA

- Akinsulire, O.R., Aibinu, I.E, Adenipekun, T., Adelowotan, T., and Odugbemi, T., 2007, In Vitro Antimicrobial Activity of Crude Extracts From Plants Bryophyllum Pinnatum and Kalanchoe Crenata, *Afr. J. Traditional CAM*, Vol 4(3), hal. 338-344, Lagos, Nigeria.
- Anonim, 2000a, *Informatorium Obat Nasional Indonesia*, hal 230-231, Sagung Seto, Jakarta.
- Anonim, 2000c, *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinik Obat Tradisional*, hal 1, 3, 5, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Ashari, J., 2009, *Rotary Evaporator*, <http://blogkita.info/rotary-evaporator/> diakses pada tanggal 30 Mei 2010.
- Dwidjoseputro, D., 2001, *Dasar-dasar Mikrobiologi*, Cetakan ke-14, hal. 132-133, Djambatan, Jakarta.

Pelarut *n*-heksan bersifat non polar sehingga flavonoid yang dapat tertarik adalah yang bersifat non polar sampai semi polar. Dinding sel bakteri

Fatah, A.M., 1982, *Spektrometri UV-Vis*, hal. 14, Laboratorium Analisis Kimia Fisika Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.

Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007, *Kimia Farmasi Analisis*, Cetakan ke-3, hal. 353-355, Pustaka Pelajar, Yogyakarta.

Gunawan, D., dan Mulyani, S., 2004, *Ilmu Obat Alami (Farmakognosi)*, Jilid I, Cetakan 1, hal. 11-13, Penebar Swadaya, Jakarta.

Harborne, J.B., 1987, *Metode Fitokimia*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, hal. 47, 70, 99, Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.

Mathers, C.D., and Loncar, D., 2005, *Updated Projections of Global Mortality and Burden of Disease, 2002-2030: Data Sources, Methods and Results*, hal. 5, <http://www.who.int/healthinfo/statistics/bod-projectionspaper.pdf> diakses pada tanggal 19 November 2010.

Robinson, T., 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, Edisi 6, hal. 191-192, 196, 205, 209, Penerbit ITB, Bandung.

Wagner, H., 1984, *Plant Drug Analysis a Thin Layer Chromatography Atlas*, hal. 164, Springer-Verlag.

Waluyo, L., 2004, *Mikrobiologi Umum*, Cetakan I, hal. 1, 61,62, UMM Press, Malang.

Wijayakusuma, H., 2000, *Ensiklopedia Millenium Tumbuhan Obat Berkhasiat Indonesia*, Jilid I, hal. 7, Prestasi Insan Indonesia, Jakarta.