



**PENGARUH KONSENTRASI ETANOL SEBAGAI CAIRAN
PENGEKSTRAKSI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID
TOTAL DALAM EKSTRAK DAUN KEMUNING (*Murraya
paniculata* (L.) Jack)**

**DEWI SARTIKA
H 511 02 002**



UPT PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS HASANUDDIN	
Tgl. Terima	12-12-2006
Asal Dari	Fale- HTP 9
Berkas	1 CSahr / 015
Harga	H
No. Inventaris	845/12-12-06
No. St.	36279

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

**PENGARUH KONSENTRASI ETANOL SEBAGAI CAIRAN EKSTRAKSI
TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL DALAM EKSTRAK DAUN
KEMUNING (*Murraya paniculata* (L) Jack)**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas dan memenuhi syarat
untuk memperoleh gelar sarjana**

**DEWI SARTIKA
H 511 02 002**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2006**

**PENGARUH KONSENTRASI ETANOL SEBAGAI CAIRAN
PENGEKSTRAKSI TERHADAP KANDUNGAN FLAVONOID TOTAL
DALAM EKSTRAK DAUN KEMUNING (*Murraya paniculata* (L) Jack**

DEWI SARTIKA

H 511 02 002

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,



(DR. Gemini Alam M. Si, Apt)

NIP. 130 369 540

Pembimbing Pertama,

(Drs. H. Fachruddin Tobo, Apt. Alm)

NIP. 130 369 370

Pembimbing Kedua,



(Dra. Hj. Naimah Ramli, Apt)

NIP :130 808 594

Pada Tanggal :



UCAPAN TERIMA KASIH

Alhamdulillah, kini aku melipat kaki dan bersimpuh dalam sujud syukur pada Allah SWT dan Rasulullah Muhammad SAW atas napas kehidupan dan jalan hidup yang digariskan-Nya. Bersyukur karena di tengah kealpaan, kelalaian, kesombongan, dan kehilafanku, Dia tak henti merengkuh dan menjagaku. Hingga akhirnya Dia memberiku suatu akhir yang terbaik dalam menyelesaikan masa studiku di jurusan Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini banyak hambatan yang dihadapi, namun berkat dukungan dan bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala tersebut. Oleh karena itu, penulis dengan tulus menghanturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak DR.Gemini Alam, M.si, Apt selaku pembimbing utama, Bapak Drs. Fachruddin Tobo, Apt (Almarhum) dan Ibu Hj. Naimah Ramli, Apt selaku pembimbing kedua dan selaku penasehat akademik penulis yang telah dengan tulus dan ikhlas membagi ilmu, meluangkan waktu dan memberikan dukungan kepada penulis. Keluarga ibarat anggota tubuh yang senantiasa menyokongku, terima kasih atas dukungan moril dari kedua orang tua tercinta, kakak dan adik tercinta. Orang-orang disekitarku yang telah membuat hidupku lebih berarti

Demikian pula penulis menyampaikan terima kasih kepada ketua Jurusan Farmasi FMIPA UNHAS beserta seluruh staf atas segala fasilitas yang diberikan selama penulis menempuh studi hingga menyelesaikan penelitian ini.

Terkhusus kepada teman-teman seperjuangan di Laboratorium Fitokimia dan kepada seluruh angkatan 2002 atas segala bantuan dan dukungannya.

Akhirnya semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan. Amin.....

Makassar, Juli 2006

Dewi Sartika

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang pengaruh konsentrasi etanol sebagai cairan pengestraksi terhadap kandungan flavonoid total dalam daun kemuning (*Murraya paniculata* (L.) Jack). Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kadar senyawa flavonoid yang terkandung dalam ekstrak daun kemuning (*M. paniculata*) dari beberapa konsentrasi etanol sebagai cairan pengestraksi. Ekstrak daun kemuning diperoleh dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol pada konsentrasi 30%, 50% dan 70%. Analisis kualitatif dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan cairan pengelusi Benzen : Etil Asetat (1 : 2) dengan pembanding flavonoid rutin dan quersetin. Analisis kuantitatif kandungan flavonoid total dilakukan dengan metode spektrofotometri UV menggunakan rutin sebagai pembanding pada panjang gelombang maksimum (362 nm), dan penetapan kadar air. Hasil penelitian diperoleh bahwa kadar flavonoid total terbesar pada konsentrasi 70% yaitu 25371 µg/g yang setara dengan 362 µg/g simplisia daun kemuning. Kadar air yang diperoleh pada ekstrak etanol 30% adalah 18%, ekstrak etanol 50% adalah 14% dan ekstrak etanol 70% adalah 10%.

Kata kunci : Kemuning, Kadar Flavonoid Total.

ABSTRACT

A research about the influence of ethanol concentration as extracting fluid to the total flavonoid contents in Kemuning Leaves (*Murraya paniculata* (L) Jack) has been carried out. This research was aimed to determined the flavonoid compounds in kemuning leaves extract by using ethanol as extracting fluid in various concentration. The extract of kemuning leaves was obtained by maceration method using ethanol in various concentration i.e 30%, 50% and 70%. Qualitative analysis was done by Thin Layer Chromatography (TLC) using Benzen : Ethyl acetat (1:2) as eluent with resemblance flavonoid standart and quarsetin. Quantitative analysis for the total flavonoid by spectrofotometry UV using flavonoid standard at 362 nm maximum wavelength and water contents. The total flavonoid contents are mostly in concentration 70%, about 25371 $\mu\text{g/g}$ equals to 362 $\mu\text{g/g}$ simplicia of kemuning leaves. Water contents in concentration 30% was 18%, in concentration 50% was 14% and in concentration 70% was 10%.

Key words : Kemuning, the total flavonoid contents.



DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR PENGESAHAN	iii
UCAPAN TERIMA KASIH	iv
ABSTRAK	vi
ABSTRACT	vii
DAFTAR ISI	viii
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
BAB I. PENDAHULUAN	1
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	
II. 1 Uraian tumbuhan	3
II.1.1 Klasifikasi	3
II.1.2 Nama Daerah	3
II.1.3 Morfologi	3
II.1.4 Kandungan Kimia	4
II.1.5 Penggunaan	4
II. 2 Uraian Umum flavonoid	5
II.2.1 Klasifikasi	7
II.2.2 Asal usul Biogenetik	7

II.2.3 Identifikasi	7
II.2.4 Kelarutan	11
II. 3 Metode Ekstraksi Bahan Alam	12
II.3.1 Tujuan Ekstraksi	12
II.3.2 Jenis-jenis Ekstraksi	13
II.3.3 Ekstraksi Secara Maserasi	13
II. 4 Kromatografi Lapis Tipis	14
II.5 Uraian Tentang Spektrofotometer	15
II.5.1 Prinsip Dasar	15
II.5.1 Instrumen spektrofotometer	17
BAB III. PELAKSANAAN PENELITIAN	
III.1 Alat dan Bahan	20
III.2 Pengambilan dan penyiapan	20
III.2.1 Pengambilan sampel	20
III.2.2 Penyiapan sampel	20
III.3 Ekstraksi Sampel	21
III.4 Analisa Kualitatif	21
III.5 Analisis Kuantitatif.....	22
III.5.1 Penetapan kadar air	22
III.5.2 Penetapan kadar Flavonoid	23

BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	
IV.1 Hasil Penelitian	25
IV.2 Pembahasan	25
BAB V. PENUTUP	
V.1 Kesimpulan	29
V.2 Saran	29
DAFTAR PUSTAKA	30
LAMPIRAN	42

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Kerangka Flavonoid	6
2. Sistem penomoran kerangka flavonoid	6
3. Tiga jenis kerangka dasar flavonoid	7
4. Beberapa senyawa flavonoid	9
5. Biosintesis flavonoid	10
6. Hubungan biogenetik antara senyawa-senyawa flavonoid	11
7. Bentuk noda pada kromatografi lapis tipis	15
8. Bagan alat spektrofotometer	17
9. Kurva serapan larutan baku	37
10. Grafik persamaan linear larutan baku	37
11. Profil KLT Ekstrak daun kemuning (<i>Murraya paniculata</i> (L) Jack pada daerah Visible	38
12. Profil KLT Ekstrak daun kemuning (<i>Murraya paniculata</i> (L) Jack pada UV 254	39
13. Profil KLT Ekstrak daun kemuning (<i>Murraya paniculata</i> (L) Jack pada UV 366 nm	40
14. Foto tanaman Kemuning (<i>Murraya paniculata</i> (L) Jack	41



DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Hasil perhitungan Rendamen Sampel	33
2. Hasil Perhitungan Nilai Rf Pada UV 254 nm	33
3. Hasil perhitungan nilai Rf pada UV 366 nm	33
4. Hasil pengukuran kadar air	34
5. Hasil pengukuran larutan baku flavonoid λ 362	34
6. Hasil pengamatan serapan ekstrak etanol kemuning (<i>Murraya paniculata</i> (L) Jack) pada berbagai konsentrasi.....	35
7. Hasil perhitungan kadar flavonoid total	36

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema kerja	42
2. Perhitungan kadar flavonoid total	43
3. Hasil perhitungan analisis statistik dengan metode RAL	45

BAB I PENDAHULUAN

Pengetahuan tentang tumbuhan obat tradisional Indonesia serta penggunaannya berkembang sesuai dengan perkembangan zaman. Penggunaan obat tradisional sampai saat ini masih dilakukan disamping penggunaan obat modern (1,2).

Tumbuhan merupakan bahan alam yang banyak digunakan sebagai obat tradisional dan telah digunakan sejak lama oleh masyarakat Indonesia, bahkan semakin digemari baik dengan tujuan pemeliharaan kesehatan, pengobatan maupun kecantikan (2). Penggunaan tumbuhan obat secara tradisional lebih disukai karena pada umumnya tumbuhan tersebut tidak menimbulkan efek samping seperti halnya obat sintetik (2,3).

Semakin digalakkannya penggunaan bahan alam terutama yang berasal dari tumbuhan termasuk juga untuk tujuan pengobatan, maka perlu adanya penggalian jenis-jenis tumbuhan yang sampai saat ini belum dimanfaatkan, akan tetapi sebenarnya memiliki potensi yang baik, seperti yang diketahui bahwa Indonesia terdapat lebih kurang 40.000 jenis tumbuh-tumbuhan yang sudah dimanfaatkan sebagai obat (1,3).

Salah satu tumbuhan obat yang berkhasiat obat adalah kemuning (*M. paniculata*); suku Rutaceae (4,5). Tanaman ini tersebar sangat banyak diberbagai wilayah di Indonesia seperti Sumatra, Jawa, Nusa Tenggara, Sulawesi, dan Maluku. Tanaman ini banyak digunakan untuk mengobati

rematik, sakit pinggang, encok, radang buah zakar, Infeksi saluran kemih, keputihan serta pelangsing tubuh (4,6,7). Salah satu komponen kimia yang banyak terdapat dalam tanaman ini adalah flavanoid yang merupakan turunan fenol yang terdapat hampir diseluruh bagian tanaman ini (4).

Salah satu faktor yang mempengaruhi kandungan flavonoid dalam tumbuhan adalah konsentrasi cairan pengekstraksi. Cairan pengekstraksi yang sering digunakan adalah etanol (4,8,9,10,11). Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan pengaruh konsentrasi etanol sebagai cairan pengekstraksi terhadap kandungan flavonoid total dalam ekstrak daun kemuning (*M. paniculata*)

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Uraian Tumbuhan

II.1.1 Klasifikasi Tumbuhan

- Divisio : Spermatophyta
Anak divisio : Angiospermae
Kelas : Dicotyledoneae
Anak kelas : Dialypetalae
Bangsa : Rutales
Suku : Rutaceae
Marga : Murraya
Genus : *Murraya paniculata* (L) Jack (2,5)

II.1.2 Nama Daerah

1. Sumatra : Kemuning, kemunjung, kamunieng (Minangkabau).
2. Jawa : Jenar, kamuning (Sunda), kemuning, kumuning (Jawa), kamoneng (Madura), tajuman.
3. Nusa Tenggara : Kajeni, kemuning, kemoning (Bali), kamuni (Bima),
4. Sulawesi : kamuning (Makassar), kemuning (manado),
5. Maluku : kamoni (Ambon), kamone (Buru), fanasa. (4)

II.1.3 Morfologi Tumbuhan

Tumbuhan yang masuk suku jeruk-jerukan ini merupakan perdu atau pohon kecil dengan percabangan yang banyak. Tumbuhan kemuning

biasa tumbuh liar di semak belukar, tepi hutan sampai pada ketinggian 400 m di atas permukaan laut. Biasa dijumpai untuk memagari pekarangan, jenisnya yang berdaun kecil dan lebat, tingginya mencapai 3-8 m, batangnya keras, teratur dan tidak berduri. Daunnya merupakan daun majemuk yang menyirip ganjil, dengan anak daun 3-9, yang tumbuh berseling. Bentuk corong atau bundar telur sungsang, dengan ujung dan pangkal daun meruncing, tepi rata dan agak beringgit, panjang 2-7 cm, lebar 1-3 cm, permukaan licin dan mengkilap. Panjang tangkai daun 3-4 mm. Bunganya bunga majemuk 1-8, warnanya putih, keluar dari ujung batang atau ketiak daun. Buahnya buah buni berdaging, bulat telur atau bulat memanjang, lebar, merah mengkilap, panjang 8-12 mm, berbiji dua (1,5)

II.1.4 Kandungan Kimia

Daun tanaman kemuning (*M. paniculata*) mengandung metil antranilat, beta kariopillen, geraniol, kariin-3, eugenol, sitronellol, metil salisilat, s-quaizulena, ostol, penikulatin, Murrayin, bisabolen, kadinen (12). Kulit mengandung mexotianin, 5-7 dimetoksi-8-(2,3-dihidroksisopentil), kumarin. Bunga mengandung skopolamin dan Buah mengandung semi-alfa-karotenon (12,13).

II.1.5 Penggunaan

Secara tradisional tumbuhan kemuning sering dimanfaatkan sebagai obat untuk beberapa penyakit. Bagian yang sering digunakan adalah akar, batang dan daun. Secara umum tumbuhan kemuning biasa digunakan

untuk rematik, sakit pinggang (lumbago), sakit gigi, radang otak (*epidemik encephalitis B*), anestesi lokal, radang buah zakar (orkhitis), radang saluran napas (bronchitis), Infeksi saluran kencing, batu kandung kemih, batu ginjal, haid tidak teratur, keputihan, lemak tubuh berlebihan, gigitan serangga, ular, bisul, koreng, eksim, borok, gatal-gatal (1,14)

Sebagai obat keputihan (leucorrhea) , daun kemuning sebanyak 30 gram dan daun lidah buaya yang telah dikupas kulitnya sebanyak 50 gram, ditambahkan gula aren (*Arenga pinnata Merr.*) secukupnya, direbus dengan 600 ml hingga tersisa setengahnya lalu disaring dan diminum airnya untuk tiga kali sehari, setiap kali 100 ml.

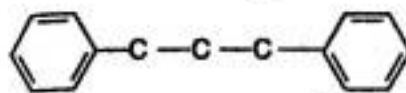
Daun kemuning juga dapat dimanfaatkan sebagai bahan ramuan untuk membuat lulur yang baik untuk kesehatan dan kelembutan kulit yang dicampur dengan bahan-bahan lainnya seperti mayosi, kelabet, regulo, rangian, cendana, temu giring, beras dan pandan wangi. Cara membuatnya cukup dengan menumbuk bahan-bahan tersebut sampai halus. Menjelang tidur digunakan dengan cara mengoleskan ke seluruh bagian tubuh dan setelah bangun pagi dibersihkan dengan cara mandi.

Daun kemuning mengandung glikosida murrayin dan zat samak. Zat samak inilah yang dapat menjaga keawetan kulit agat tetap segar. Sehingga daun kemuning cocok dipakai sebagai bahan stimulan dan astrigen sehingga kulit akan tampak halus. (1,14,15).

II.2 Uraian Umum Flavonoid

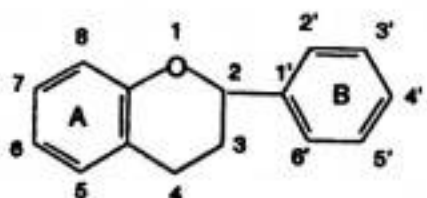
Senyawa-senyawa flavonoid adalah senyawa-senyawa polifenol yang mempunyai 15 atom karbon, terdiri dari dua cincin benzen yang dihubungkan menjadi satu oleh rantai linier yang terdiri dari tiga atom karbon (16). Istilah "flavanoid" dikenakan pada suatu golongan besar senyawa yang berasal dari kelompok senyawa yang paling umum yaitu senyawa flavon (16,17)

Golongan flavonoid dapat digambarkan sebagai deretan $C_6-C_3-C_6$. Artinya, kerangka karbonnya terdiri atas dua gugus C_6 (cincin benzena tersubsitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga – karbon : (16,18)



Gambar 1. Kerangka Flavonoid (18)

Kelas-kelas yang berlainan dalam golongan ini dibedakan berdasarkan cincin heterosiklik- oksigen tambahan dan gugus hidroksil yang tersebar menurut pola yang berlainan. Flavonoid sering terdapat sebagai glikosida. Golongan terbesar flavonoid berciri mempunyai cincin piran yang menghubungkan rantai tiga karbon dengan salah satu dari i cincin benzena. Sistem penomoran untuk turunan flavanoid adalah (18) :

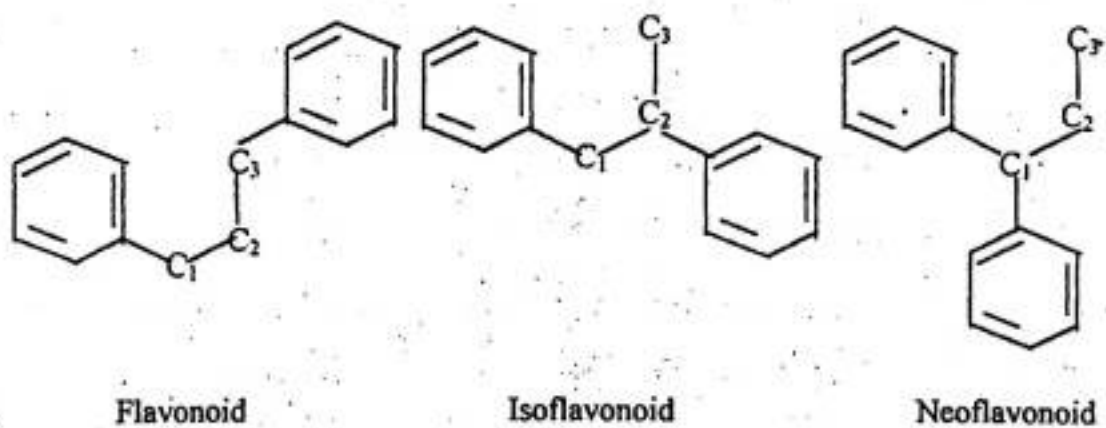


Gambar 2. Sistem Penomoran Kerangka Flavonoid (18)

Pada umumnya flavonoid digunakan sebagai zat warna dan juga sebagai obat, karena mempunyai efek terhadap permeabilitas pembuluh darah, mengurangi fragilitas kapiler, karena itu senyawa-senyawa flavonoid digunakan untuk mengurangi perdarahan kapiler, diantaranya adalah kuersetin, rutin dan hesperidin (17).

II.2.1 Klasifikasi Flavonoid

Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid (yaitu flavonoid tanpa terikat gula) terdapat dalam berbagai bentuk struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi $C_6-C_3-C_6$ yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (11,17,18)



Gambar 3. Tiga Jenis Kerangka Dasar Flavonoid (17)

Senyawa-senyawa flavonoid terdiri atas beberapa jenis tergantung pada tingkat oksidasi dari rantai propan dari system 1,3-diarilpropan. Dalam hal ini, flavan mempunyai tingkat oksidasi yang terendah sehingga

senyawa ini dianggap sebagai senyawa induk dalam tatanama senyawa-senyawa turunan flavon. (9,16,17,18)

II.2.2 Asal Usul Biogenetik Flavonoid

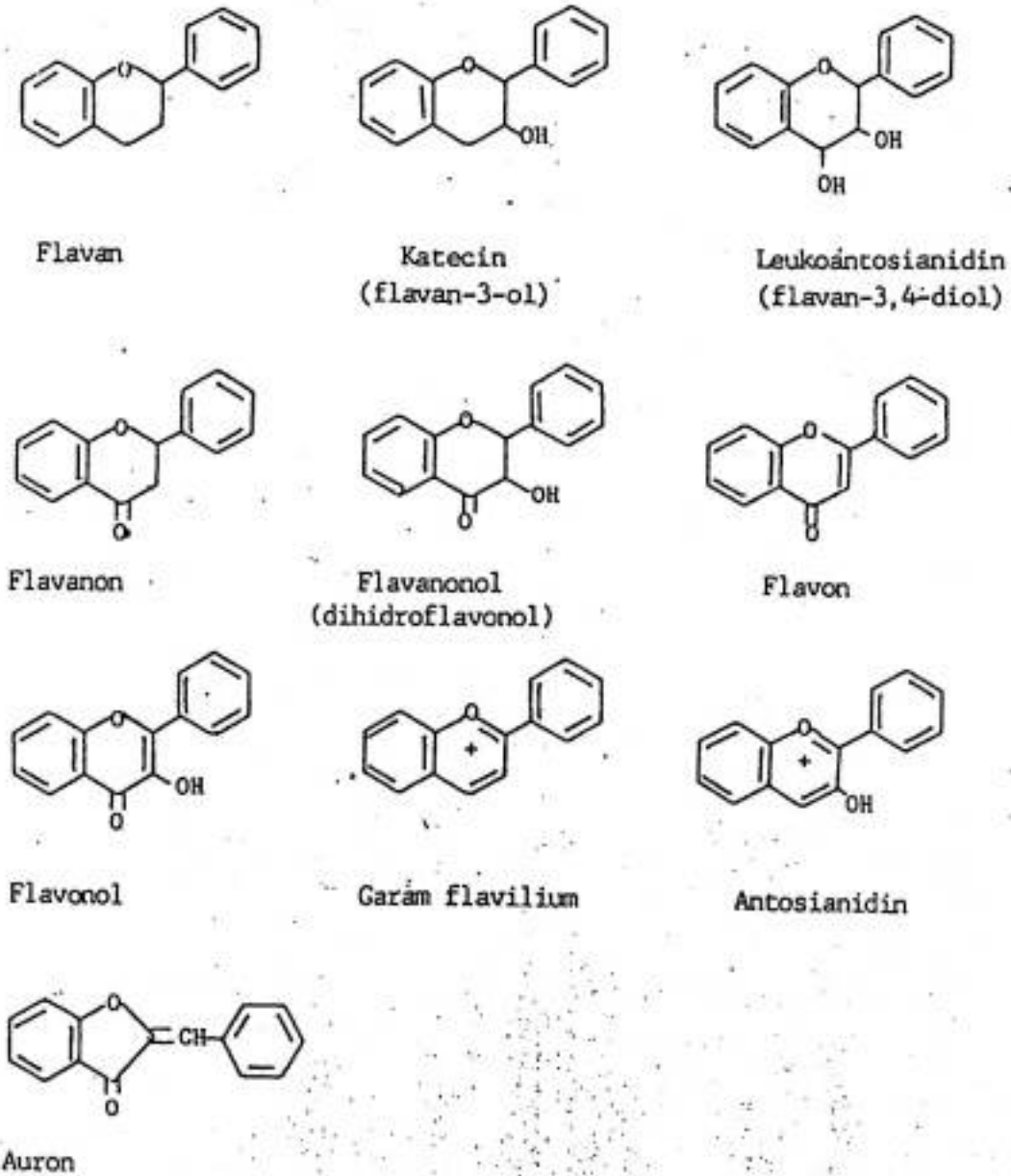
Dari segi biogenetik, cincin A dari struktur flavonoid berasal dari jalur poliketida, yakni kondensasi dari tiga unit asetat atau malonat, sedangkan cincin B dan tiga atom karbon dari rantai propan berasal dari perpanjangan asam sinamat pada jalur fenilpropanoid (jalur shikimat) (17,18).

Dengan demikian, kerangka dasar karbon dari flavonoid dihasilkan dari kombinasi antara dua jalur biosintesa yang utama untuk cincin aromatik, yaitu **jalur shikimat** dan **jalur asetat – malonat**. (Seperti pada gambar 5)

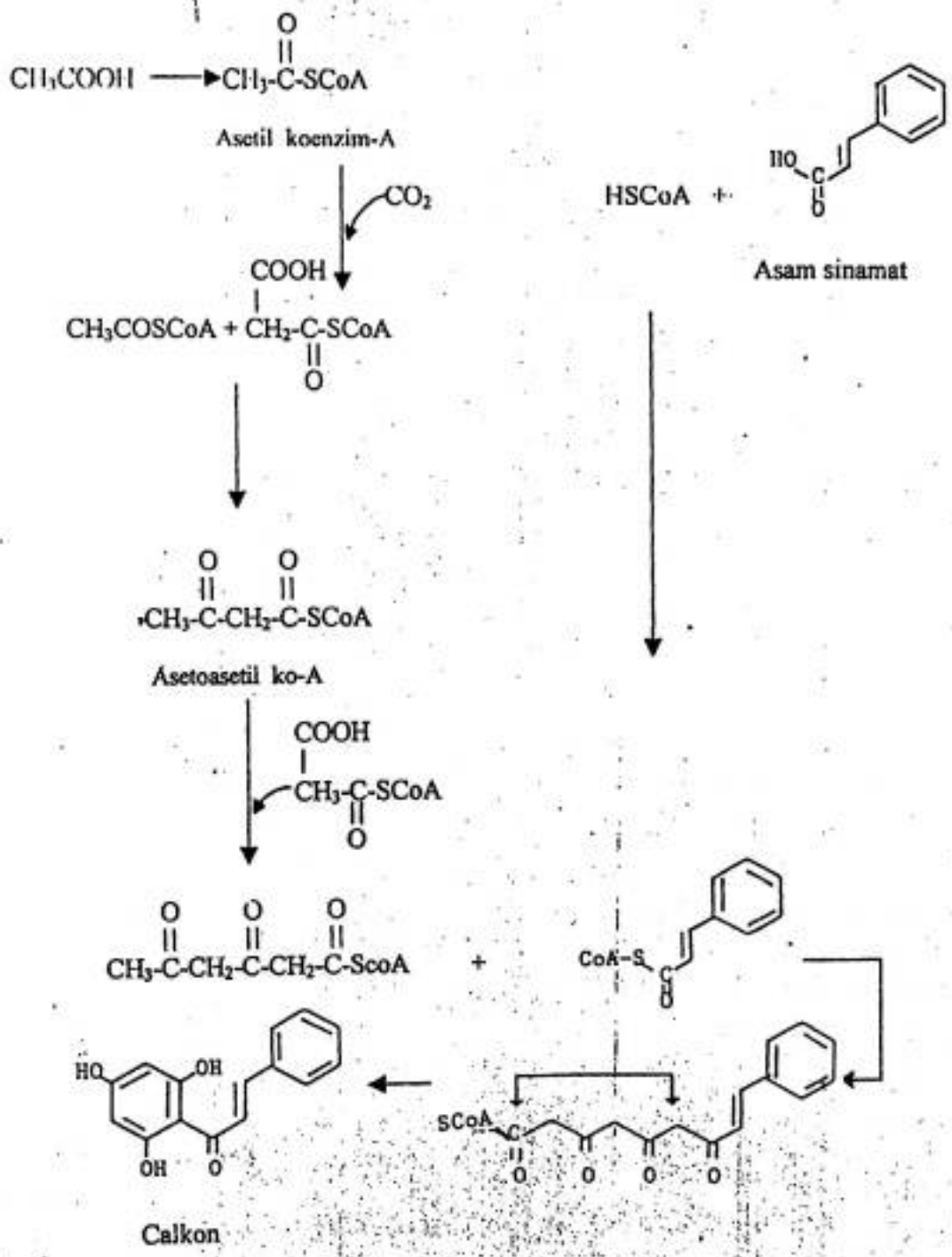
Akibat dari berbagai perubahan yang disebabkan oleh enzim, ketiga atom karbon dari rantai propan dapat menghasilkan berbagai gugus fungsi, seperti ikatan rangkap, gugus hidroksil, gugus karbonil dan sebagainya. Kalkon yang dihasilkan sebagai produk awal dari biosintesa flavonoid bertindak sebagai senyawa antara dalam biosintesa berbagai jenis flavonoid (15,19)

Suatu penelitian tentang struktur flavonoid alami membuktikan bahwa senyawa yang mempunyai tingkat oksidasi pada ketiga atom karbon sentral sama atau lebih tinggi dari pasangan kalkon – flavon ternyata lebih besar. Karena itu, dapat dimengerti, bila kemudian banyak yang berpendapat bahwa kebanyakan flavonoid dibentuk melalui proses

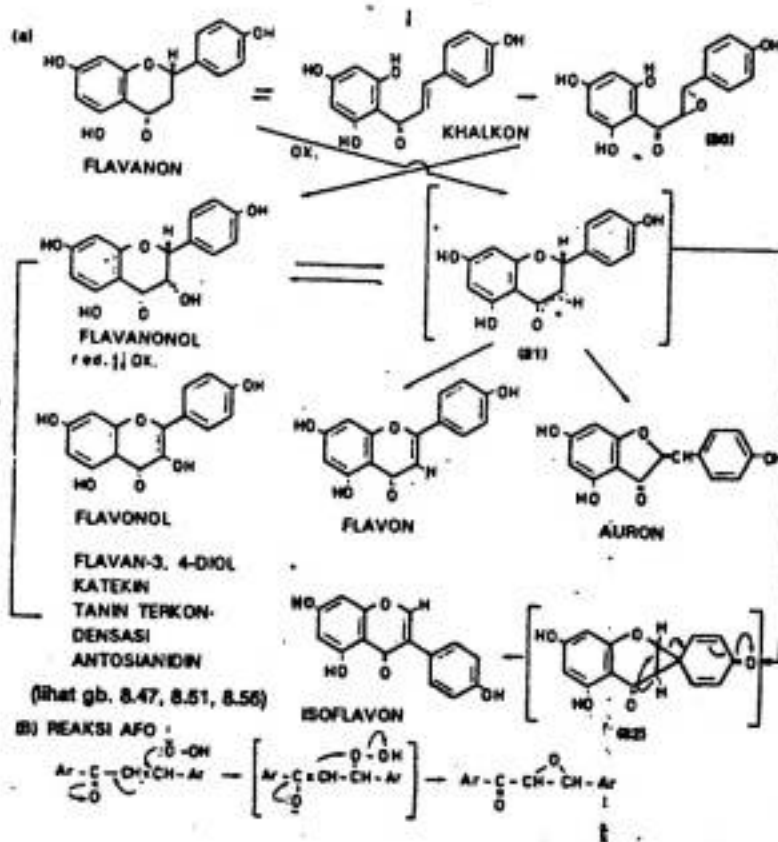
oksidasi enzimatik, yang biasanya selektif dan terkontrol secara genetik (Seperti pada gambar 6) (9,10).



Gambar 4. Beberapa senyawa Flavonoid (17)



Gambar 5. Biosintesa Flavonoid (9)



Gambar 6. Hubungan Biogenetik Senyawa-senyawa Flavonoid (16)

II.2.3 Identifikasi Flavonoid

Cara terbaik untuk memisahkan dan mengidentifikasi senyawa fenol sederhana ialah dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Biasanya senyawa fenol dideteksi setelah hidrolisis jaringan tumbuhan (segar atau kering) dalam suasana asam atau basa atau setelah pemekatan ekstrak tumbuhan dalam etanol-air. (10).

Cara yang paling populer untuk menelaah pola flavonoid dalam jaringan tumbuhan secara rutin ialah dengan kromatografi kertas dengan ekstrak etanol pekat dengan menggunakan pengembang BAA dan asam asetat 5%. Pembanding baku yang digunakan pada kromatogram ialah rutin, yaitu suatu glikosida rutin (10).

II.2.4 Kelarutan Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol dan karena itu mempunyai sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga dapat larut dalam basa. Karena mempunyai sejumlah gugus hidroksil yang tak tersullih, atau suatu gula, flavonoid merupakan suatu senyawa polar, maka pada umumnya flavonoid cukup larut dalam pelarut polar seperti etanol (EtOH), metanol (MeOH), butanol (BuOH), aseton, dimetilsulfoksida (DMSO), dimetilformamida (DMF), air (9).

Adanya gula yang terikat pada flavonoid cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, dan flavon serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform. (10)

II.3 Metode Ekstraksi Bahan Alam

II.3.1 Tujuan Ekstraksi

Ekstraksi merupakan proses melarutkan komponen-komponen kimia yang terdapat dalam suatu bahan alam dengan menggunakan pelarut yang sesuai dengan komponen yang diinginkan (10).

Tujuan ekstraksi adalah untuk menarik komponen kimia yang terdapat dalam bahan alam. Ekstraksi ini didasarkan pada perpindahan massa komponen zat padat ke dalam pelarut dimana perpindahan dimulai pada lapisan antar muka, kemudian terdifusi masuk ke dalam pelarut (10,11).

Ragam ekstraksi yang tepat sudah tergantung pada tekstur dan kandungan air bahan tumbuhan yang diekstraksi dan pada jenis senyawa yang diisolasi (11).

II.3.2 Jenis-jenis Ekstraksi

Jenis-jenis ekstraksi bahan alam yang sering dilakukan adalah ekstraksi secara dingin seperti maserasi, perkolasi, ekstraksi secara panas seperti refluks, sokletasi dan destilasi uap air (10,11)

II.3.3 Ekstraksi Secara Maserasi

Maserasi merupakan cara penyarian yang sederhana. Maserasi dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif, zat aktif akan larut dan karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dengan yang diluar sel, maka larutan yang terpekat di desak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan diluar sel dan di dalam sel (11).

Cairan penyari yang digunakan dapat berupa air, etanol, air etanol atau pelarut lain (10,11).

Maserasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari, tidak mengandung benzoin, stirak (11).

II.4 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi lapis tipis adalah suatu teknik kromatografi yang sederhana dan banyak digunakan untuk memisahkan komponen secara cepat. Waktu pengerjaan untuk menyelesaikan analisa relatif singkat (15-60 menit) dan memiliki daya pisah yang cukup baik, berdasarkan prinsip adsorpsi dan partisi, dan memiliki daya pisah yang cukup baik. Kromatografi ini menggunakan lempeng kaca atau plastik yang dilapisi dengan adsorben berupa serbuk halus dengan ketebalan 0,1 – 0,25 mm (19,20).

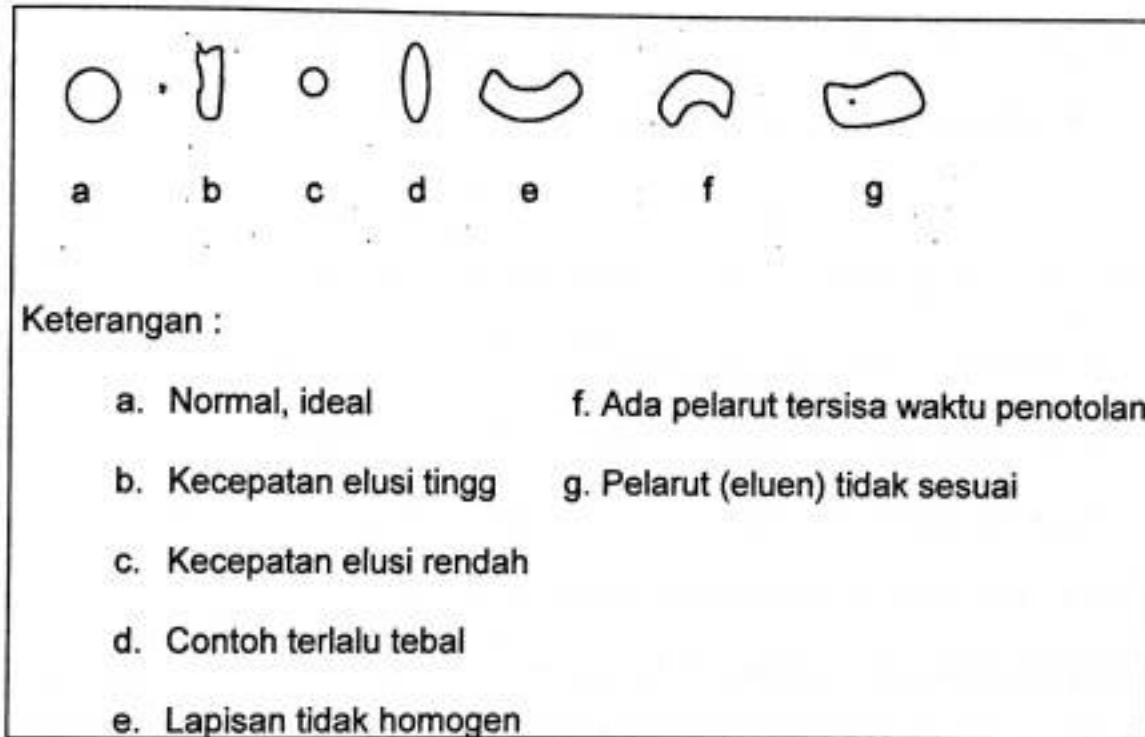
Perpindahan komponen suatu senyawa pada kromatografi ini tergantung pada jenis pelarut, zat penjerap dan sifat daya jerapnya terhadap masing-masing komponen. Komponen yang larut terbawa oleh fase gerak (cairan pengelusi) melalui adsorben (fase diam) dengan kecepatan perpindahan yang berbeda (21). Perbedaan kecepatan ini dinyatakan dengan R_f (Rate of Flow), yaitu perbandingan jarak yang ditempuh oleh cairan pengelusi (20).

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa terelusi}}{\text{Jarak yang ditempuh cairan pengelusi}}$$

Harga R_f berkisar antara 0,1 – 0,99 dan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain ukuran partikel, derajat keaktifan lapisan penjerap, kemurnian pelarut, kejenuhan ruang elusi dan lain-lain (19,22).

Selain memberi informasi nilai R_f , bentuk noda yang nampak pada plat juga dapat memberi keterangan tentang keadaan pengerjaan.

Menurut Smith (20) ada 7 tipe bentuk noda yang nampak pada pelaksanaan kromatografi lapis tipis yaitu :



Gambar 7 : Bentuk Noda Pada Kromatografi Lapis Tipis

Penentuan beberapa noda yang diperoleh dari hasil kromatografi dapat dilakukan dengan cara pengamatan langsung jika senyawa tampak dengan cahaya biasa atau sinar ultra violet dan pengamatan dengan adanya cahaya biasa atau dengan sinar ultra violet setelah lempeng disemprot dengan pereaksi penampak noda (22).

II.5 Uraian Tentang Spektrofotometer

II.5.1 Prinsip Dasar

Spektrofotometer merupakan metode yang sangat berguna untuk analisa kualitatif dan kuantitatif suatu bahan kimia. Metode spektroskopi ini

didasarkan pada interaksi antara zat kimia dengan energi, biasanya energi cahaya yang menyebabkan transisi elektron (15,23).

Absorpsi sinar tampak atau sinar ultra violet oleh molekul menyebabkan perpindahan elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi disertai pengeluaran energi rotasi dan vibrasi (15).

Daerah pengukuran spektrofotometer UV adalah pada panjang gelombang 200-400 nm. Spektrum UV disebut juga spektrum elektronik karena terjadi sebagai hasil interaksi radiasi UV terhadap molekul yang mengakibatkan molekul tersebut mengalami transisi elektronik. Apabila radiasi elektromagnetik dikenakan pada suatu molekul atau atom, maka sebagian dari radiasi tersebut di serap oleh molekul atau atom tersebut sesuai dengan strukturnya, yang mempunyai gugus kromofor (24,25,26).

Cahaya yang dilewatkan dari monokromator pada bagian homogen dengan intensitas cahaya yang datang (I_0), maka sebagian cahaya tersebut diabsorpsi (I_a), sebagian dipantulkan (I_r), dan sebagian diteruskan (I_t). Dari keadaan tersebut dapat dituliskan : (23,27)

$$I_0 = I_a + I_r + I_t$$

Hukum yang menggambarkan hubungan antara jumlah cahaya yang diteruskan dari suatu larutan dengan konsentrasi suatu konstituen yang mengabsorpsi cahaya tersebut dikenal sebagai hukum Lambert Beer, yakni : (22,26)

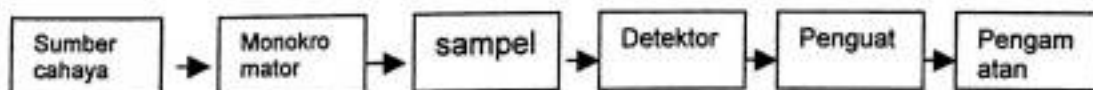
$$\text{Log } (I_0 / I_t) = A = a.b.c$$

Dimana : I_0	= Intensitas cahaya yang masuk
I_t	= Intensitas cahaya yang diteruskan
A	= Absorbansi
a	= Absorbsivitas
b	= Panjang
c	= Konsentrasi zat terlarut

Dinyatakan oleh Beer bahwa intensitas cahaya monokromatis yang diteruskan akan menurun secara eksponensial apabila konsentrasi senyawa yang mengabsorpsi naik secara aritmatik

II.5.2 Instrumen Spektrofotometer

Suatu spektrofotometer tersusun dari sumber spektrum tampak yang terus-menerus, monokromator, sel pengabsorpsi untuk larutan-larutan sample atau blanko dan suatu alat untuk mengukur perbedaan absorpsi antara sample dan blanko atau pembanding (19,27).



Gambar 8. Bagan Alat Spektrofotometer (27)

- Sumber cahaya : Sumber cahaya harus memancarkan sinar dengan kekuatan yang cukup untuk penentuan dan pengukuran. Kedua sumber cahaya itu harus memancarkan radiasi yang terus-

menerus, artinya spektrumnya harus mengandung semua panjang gelombang dari daerah spectrum yang akan digunakan. Artinya sumber itu harus stabil : kekuatan sinar radiasi harus konstant selama waktu yang diperlukan untuk mengukur P dan P_0 untuk spektrofotometer single beam.

Sumber radiasi ultra Violet : Lampu hydrogen atau deuterium

- b. Monokromator : merupakan alat yang mengisolasi suatu berkas radiasi yang menyeleksi panjang gelombang yang diinginkan untuk pengukuran cuplikan
- c. Kuvet untuk sampel : Harus dibuat dari bahan yang meneruskan dan mengabsorpsi radiasi pada daerah panjang gelombang yang digunakan.

Gelas silika untuk daerah antara 350 – 2000 nm

- d. Detektor : suatu detektor harus bisa memberikan respon pada energi radiasi dalam daerah panjang gelombang yang luas. Disamping itu harus pula peka terhadap kekuatan radiasi lemah, mempunyai respon yang lemah, mempunyai respon yang cepat, memproduksi signal listrik yang dapat dibesarkan dan tidak (sekecil mungkin) memberikan bising ("noise").

Detektor ini mempunyai tiga komponen fotoelektrik dasar sebagai berikut :

- 1). *Sel fotovoltaiik* : energi radiasi menyebabkan terjadinya arus pada lapisan antara semikonduktor dan logam.
- 2). *Fototube* : radiasi menyebabkan fotoemisi elektron dari permukaan zat padat
- 3). *Sel foto konduktif* : absorpsi radiasi oleh semi konduktor di dalamnya menyebabkan suatu perubahan tahanan listrik.

BAB III

PELAKSANAAN PENELITIAN

III.1 Alat dan Bahan yang Digunakan

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer UV-Vis (*Memmert*), Corong pisah 250 ml, eksikator, Lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Bahan-bahan yang digunakan adalah Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack), Aluminium klorida, Asam asetat (*E-Merck*), Asam asetat glacial p.a (*E-Merck*), Asam borat, Asam klorida (*E-Merck*), Aseton, Butanol, Etanol, Etil asetat, Flavonoid rutin, Heksametilentetramina, Metanol, Toluena, Lempeng KLT GF 254 nm.

III.2 Pengambilan dan Penyiapan Sampel

III.2.1 Pengambilan Sampel

Sampel berupa daun dari tumbuhan Kemuning (*M. paniculata*) diambil dari kota Makassar, Sulawesi Selatan.

III.2.2 Penyiapan Sampel

Sampel daun *M. paniculata* diambil pada pagi hari sekitar pukul 09-12. Daun dikumpulkan, kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan tanpa sinar matahari langsung. Setelah kering kemudian dibuat dalam bentuk haksel, selanjutnya sample siap diekstraksi.

III.3 Ekstraksi Sampel

Sampel yang telah dikeringkan diserbukkan kemudian ditimbang 50 gram sebanyak tiga kali kemudian dimasukkan dalam bejana maserasi. Cairan pengestraksi etanol 30% dimasukkan kedalam bejana hingga 1-2 cm diatas sampel. Lalu ditutup rapat. Hal yang sama dilakukan untuk cairan pengestraksi etanol 50% dan etanol 70%. Bejana maserasi disimpan dalam tempat yang gelap dan terhindar dari cahaya matahari langsung selama 5 hari sambil sesekali diaduk. Campuran kemudian disaring dan ampasnya ditambah lagi dengan pelarut. Proses penyarian dilakukan sebanyak 2 kali. Ekstrak cair kemudian diuapkan dengan menggunakan alat rotavapor. Ekstrak kental kemudian dikeringkan diatas penangas air di depan kipas angin. Ekstrak kering kemudian dimasukkan ke dalam vial dan ditimbang berat masing-masing ekstrak. (11).

III.4 Analisa Kualitatif

Pemeriksaan flavonoid dalam jaringan tumbuhan menggunakan kromatografi lapis tipis menggunakan cairan pengembang Benzen:Etil asetat (1:2) dengan pembanding Quersetin (10). Ekstrak yang digunakan adalah ekstrak etanol pekat dengan pembanding senyawa quersetin. Dibedakan jenis flavonoid berdasarkan bercak warna yang terbentuk pada lampu UV. Dengan menggunakan penyemprot kimia $AlCl_3$ dan sitro borat kemudian diamati dibawah sinar UV, selain itu juga diuapi dengan uap amonia kemudian diperiksa dibawah sinar UV (10).

III.5 Analisis Kuantitatif

III.5.1 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air menggunakan cara destilasi yaitu tabung penerima dan pendingin dibersihkan dengan asam pencuci., dibilas dengan air, dikeringkan dalam lemari pendingin. Sejumlah zat yang ditimbang saksama dimasukkan ke dalam labu kering. 200 ml toluen dimasukkan ke dalam labu, alat dihubungkan. Toluene dituang ke dalam tabung penerima melalui alat pendingin. Labu dipanaskan hati-hati selama 15 menit. Setelah toluen mulai mendidih, disuling dengan kecepatan lebih kurang 2 tetes tiap detik, hingga sebagian besar air tersuling. Kemudian dinaikkan kecepatan penyulingan hingga 4 tetes tiap detik. Setelah semua air tersuling, bagian dalam pendingin dicuci dengan toluen, sambil dibersihkan dengan sikat tabung yang disambungkan pada sebuah kawat tembaga dan telah dibasahi dengan toluen. Dilanjutkan penyulingan hingga 5 menit. Tabung penerima dibiarkan mendingin pada suhu kamar selama 1 hari. Jika ada tetes air yang melekat pada pendingin tabung penerima, digosok dengan karet yang diikatkan pada sebuah kawat tembaga dan dibasahi dengan toluen hingga tetesan air turun. Setelah air dan toluen memisah sempurna, volume air dibaca. Kadar air dihitung dalam % (28).

III.5.2 Penetapan Kadar Flavonoid Total Sampel

1. Proses Hidrolisis (10)

Ditimbang tepat ekstrak yang setara 50 gr simplisia dan dimasukkan ke dalam labu alas bulat. Ditambahkan sistem hidrolisis, yaitu 1,0 ml larutan 0,5% b/v heksametilentetramina, 20,0 ml aseton dan 2,0 ml larutan 25% HCl dalam air. Dilakukan hidrolisis dengan pemanasan sampai mendidih (digunakan pendingin air "refluks") selama 30 menit. Campuran hasil hidrolisis disaring menggunakan kapas ke dalam labu ukur 100,0 ml. Residu hidrolisis ditambah 20 ml aseton untuk dididihkan kembali sebentar, dilakukan 2 kali dan filtrat dikumpulkan semua ke dalam labu ukur. Setelah labu ukur dingin, maka volume ditepatkan sampai tepat 100,0 ml, dikocok rata. 20 ml filtrat hidrolisa dimasukkan ke corong pisah dan ditambahkan 20 ml H₂O, selanjutnya dilakukan ekstraksi kocok, pertama dengan 15 ml etilasetat. Kemudian 2 kali dengan 10 ml etilasetat, dan dikumpulkan fraksi etilasetat ke dalam labu ukur 50,0 ml, akhirnya ditambahkan etil asetat sampai tepat 50,0 ml. Dilakukan replikasi 3-4 kali.

2. Pembuatan Larutan Baku Flavonoid

Rutin ditimbang teliti dengan sejumlah 10 mg kemudian dilarutkan dengan etanol 96% pada labu ukur hingga 100,0 ml diperoleh suatu konsentrasi 100 bpj. Kemudian untuk konsentrasi 10, 20, 30 bpj masing-masing diukur 1 ml, 2 ml, 3 ml dari larutan stok dan diencerkan sampai 10

ml, untuk konsentrasi 15 bpj dan 25 bpj, diukur 5 ml dari larutan stok dan diencerkan sampai 10 ml, diperoleh konsentrasi 50 bpj kemudian dari larutan tersebut diukur 3 ml dan 5 ml dan diencerkan sampai 10 ml.

3. Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Larutan baku dengan konsentrasi 20 bpj diukur serapannya pada panjang gelombang 200-400 nm. Panjang gelombang yang menunjukkan nilai serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimum.

4. Pengukuran Larutan Baku

Larutan baku dengan lima konsentrasi yaitu 10 bpj, 15 bpj, 20 bpj, 25 bpj dan 30 bpj disiapkan. Masing-masing larutan baku tersebut diukur serapannya pada panjang gelombang maksimum yang telah diperoleh menggunakan spektrofotometer UV-Vis.

5. Pengukuran Serapan Flavonoid Total Sampel

Larutan fraksi etil asetat sebanyak 4 ml dimasukkan kedalam labu tentukur 5 ml, kemudian ditambahkan 200 μ l larutan 2% $AlCl_3$, ditambahkan secukupnya larutan asam asetat glacial 5% sampai tepat 5 ml. Hasil reaksi siap diukur pada spektrofotometer UV-Vis setelah 30 menit berikutnya pada panjang gelombang maksimum.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

IV.1 Hasil Penelitian

Dari penelitian yang dilakukan diperoleh hasil sebagai berikut :

Analisis kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan cairan pengelusi Benzen : Etil asetat = 1 : 2 dengan cairan penyemprot aluminium klorida, sitro borat dan uap ammonia menunjukkan hasil yang positif terhadap adanya kandungan flavonoid. Dengan analisis kuantitatif diperoleh kadar flavonoid total dalam ekstrak daun kemuning menggunakan cairan pengekstraksi etanol 30% yaitu 10134 µg/g , etanol 50% diperoleh 18219 µg/g dan etanol 70% diperoleh 25371 µg/g (tabel 7). Dengan uji kadar air diperoleh bahwa kadar air untuk ekstrak 30% adalah 18%, ekstrak 50% adalah 14% dan ekstrak 70% adalah 10% (tabel 4).

IV.2 Pembahasan

Salah satu obat tradisional yang memiliki banyak manfaat adalah Kemuning (*M. paniculata*) karena terbukti memiliki banyak digunakan sebagai obat baik untuk pengobatan dalam maupun luar, diantaranya sebagai pelangsing tubuh dan obat datang bulan yang tidak teratur. Oleh karena itu, usaha ekstraksi dan identifikasi terhadap kandungan tumbuhan ini terus dilakukan. Salah satu kandungannya adalah Flavonoid.

Cara ekstraksi yang digunakan adalah maserasi, mengingat tekstur

dari daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) yang lunak sehingga cocok untuk ekstraksi jenis ini. Dalam proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol. Etanol dipertimbangkan sebagai penyari karena lebih selektif, kapang dan kuman sulit tumbuh dalam etanol 20% keatas, tidak beracun, netral, absorpsinya baik, etanol dapat bercampur dengan air pada segala perbandingan (11). Konsentrasi cairan pengestraksi yang digunakan adalah 30 %, 50% dan 70% dimaksudkan untuk mengetahui pada konsentrasi mana terdapat kandungan flavonoid yang paling tinggi.

Dari penelitian yang dilakukan diperoleh bahwa analisis kualitatif menggunakan metode kromatografi lapis tipis dengan cairan pengelusi Benzen : Etil asetat = 1 : 2 dengan cairan penyemprot aluminium klorida, sitro borat dan uap ammonia menunjukkan hasil yang positif terhadap adanya kandungan flavonoid. Hasil analisis dengan kromatografi lapis tipis dapat dilihat pada gambar 11,12, dan 13.

Profil KLT pada gambar 11 menunjukkan bahwa noda tidak tampak secara visible mungkin disebabkan karena jumlah sampel yang ditotolkan sedikit tetapi pada penampakan noda UV 254 (gambar 12) terlihat adanya pepadaman sinar pada nilai Rf 0,52 dan 0,62 (tabel 2). Pada daerah UV 254 sampel yang diekstraksi menggunakan pengembang yang sama yaitu benzen : etil asetat (1:2) menunjukkan 4 jenis noda yang ternyata menghasiikan warna yang berbeda dengan pembanding baik itu quersetin maupun rutin.

Seperti halnya dengan penampak noda pada UV 254 nm, pada UV 366 nm ini pula menghasilkan noda yang memiliki nilai Rf yang hampir sama dengan pembanding quersetin yaitu 0,58 dan pembanding 0,6 tapi warna yang berbeda yang menunjukkan bahwa jenis flavonoid yang terkandung dalam daun kemuning (*M. paniculata*) bukan quersetin ataupun rutin.

Ekstrak etanol yang diperoleh kemudian dihidrolisis dengan 1,0 ml larutan 0,5% b/v heksametilentetramina, 20,0 ml aseton dan 2,0 ml larutan 25% HCl dalam air untuk melepaskan ikatan aglikon dengan gula pada senyawa glikosida flavonoid. Setelah proses hidrolisis dilakukan persiapan untuk pengukuran spektrofotometer UV.

Pertama-tama dilakukan pembuatan larutan baku flavonoid dengan menggunakan rutin sebanyak 20 mg yang dilarutkan dengan etanol 96% pada labu ukur hingga 100,0 ml. Larutan ini dibuat seri konsentrasi yaitu 10, 15, 20, 25 dan 30 ppm kemudian baku rutin konsentrasi 20 ppm diukur panjang gelombang maksimumnya dan diperoleh panjang gelombang maksimumnya pada 362 nm (Gambar 9).

Selanjutnya dilakukan pengukuran serapan flavonoid total sampel yang disiapkan dengan cara 6 ml fraksi etil asetat pada konsentrasi 30% dan masing-masing 4 ml untuk konsentrasi 50% dan 70% dimasukkan dalam labu ukur 10 ml, ditambahkan 200 μ l $AlCl_3$ dalam 100 ml larutan asam asetat glasial 5% v/v dalam metanol dan ditambahkan asam asetat

glasial 5% hingga volume mencapai 10 ml. Kemudian diukur pada panjang gelombang 362 nm sesuai panjang gelombang larutan bakunya, dimana kadar flavonoid terbanyak ditemukan pada ekstrak dengan konsentrasi tertinggi yaitu 70% sebanyak 25371 µg/g (Tabel 7).

Penggunaan etanol sebagai cairan pengekstraksi pada penelitian ini karena etanol 30%, 50% dan 70% merupakan campuran alkohol dan air sehingga senyawa flavonoid baik aglikon maupun glikosida dapat tersari. Hal ini dapat ditunjukkan bahwa pada etanol konsentrasi 70% menunjukkan flavonoid total dengan kadar tertinggi dibanding etanol 30% dan 50%. Demikian pula pada penetapan kadar air yang menunjukkan hasil bahwa semakin tinggi kadar airnya maka kadar flavonoidnya makin rendah (Tabel 4).

Dari hasil perhitungan secara statistik diperoleh bahwa ada pengaruh konsentrasi etanol sebagai cairan pengekstraksi terhadap adanya kandungan flavonoid total pada daun *M. paniculata* karena menunjukkan hasil yang signifikan atau berbeda nyata.

BAB V

PENUTUP

IV. 1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa :

1. Hasil uji kualitatif menggunakan teknik kromatografi lapis tipis dengan pengembang Benzen :Etil Asetat (1:2) memberikan hasil yang positif terhadap adanya kandungan flavonoid dalam daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) berdasarkan penampakan nodanya.
2. Berdasarkan uji kuantitatif menunjukkan kandungan tertinggi pada etanol 70% yaitu 25371 µg/g yang setara dengan 362 µg/g simplisia daun kemuning.
3. Kadar flavonoid yang diperoleh dipengaruhi oleh kadar air.
4. Perbedaan konsentrasi etanol sebagai cairan pengestraksi mempengaruhi kadar flavonoid total dalam ekstrak daun kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack)

IV.2 Saran

Perlu dilakukan uji kandungan flavonoid tumbuhan kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) dengan menggunakan jenis pelarut yang lain pada beberapa konsentrasi.

DAFTAR PUSTAKA

1. Heyne, K.,. 1988. *Tumbuhan Berguna Indonesia III*. Depertemen Kehutanan. Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, yayasan Sarana Wanajaya. Jakarta.24
2. Simanjuntak, P. 2003. Uji Antimikroba Ekstrak Metanol Kayu Cendana (*Santalum Album L.*). *Majalah Farmasi Indonesia*. 14(2) : 326-332
3. Wiriadinata, H. 1992. *Penelitian Pemanfaatan Tunbuhan Obat Tradisional di Regang Bengkulu*. Seminar etnobotani. Bogor. Jawa barat. 60
4. Rahman, A dan Riyanto S. 2005. Daya Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Kemuning (*Murraya paniculata* (L) Jack) secara In vitro. *Majalah Farmasi Indonesia*. 16(3) : 136-140
5. Ernita, dewi dan Rasyida Ratu. 2006. [http : //www. Asiamaya. Com/jamu/isi/ Kemuning – Murraya paniculata.htm](http://www.Asiamaya.Com/jamu/isi/Kemuning-Murraya-paniculata.htm), diakses tanggal 23 juni 2006.
6. Dalimartha, S. 1999. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. Jilid I. Trubus Agriwidya. Ungaran
7. Thomas, A. N. S. 1992. *Tanaman Obat Tradisional 2*. Konisius. Jakarta.89,90.
8. Ditjen POM. 1989. *Materia Medika Indonesia*. Jilid I. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
9. Markham, K. R. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Penerbit ITB. Bandung.14-15
10. Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia*. Penuntun cara Menganalisa Tumbuhan. ITB. Bandung.72,74-75.
11. Ditjen POM. 1996. *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.6-7, 10-11
12. Perry, L.M and Metzger Judith. 1980. *Medical Plants of East and Southeast asia attributed Properties and Uses*. The MIT Press Cambridge Massachusetts and London England. 367
13. Ditjen POM. 2000. *Paramater Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta

14. Backer, C.A., dan Van der Brink, R.B.C. 1986. *Flora of Java*. N . V. D Noordhoff. Groningen
15. Khopkar, S. M. 1990. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Terjemahan oleh A. Saptohardjo. Penerbit Universitas Indonesia. Jakarta.215-217
16. Manitto, P. 1992. *Biosintesis Produk Alami*. Terjemahan oleh Dra. Koensoemardiyah Apt, SU dan Drs. B. Sudarto Apt, SU. IKIP Semarang Press. Semarang.434,436.
17. Achmad, S. A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Penerbit Karma . Jakarta. 44-45
18. Robinson, T. 1991. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Terjemahan oleh Prof. Dr. Kosasih Padmawinata. 1995. ITB. Bandung.191
19. Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan*. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.60-62
20. Smith, I. dan Seakins, J.W.T. 1976. *Chomatographic and Electrophoretic Techniques*. Vol. 1. Fourth Edition. Yearbook Medical Publesher Chicago. Washintong D.C.40-45
21. Welcher, F. J. 1975. *Standart Methods of Chemical Analysis*, Sixth Edition, Robert E. Krlger Publishing Company, Huntington, New York.181,196-197,212-220
22. Tjiptasurasa.1992. *Hubungan Struktur Aktivitas Kuantitatif Senyawa Turunan Bromasilurea*. Warta. ISFI.1-14
23. Sastrohamidjojo, H. 1985. *Spektroskopi*. Liberty. Yogyakarta.39-43
24. Underwood, A. L. 1992. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi V. Terjemahan oleh Aloysius, H. Penerbit Erlangga. Jakarta.396-403
25. Mulja, M. 1990. *Aplikasi Analisis Spektrofotometer UV_Vis*. Mecphiso. Surabaya.3,13-16,21
26. Ewing, G. W 1975. *Instrumental Methods of Chemical Analysis*. Fourth Edition, Mc Graw Hill. Kogakhusa ltd. Tokyo. Japan.

27. Williams, D. H. M. A., Ph.D, Sc. D. dan Fleming Ian, M. A., Ph.D. 1973. *Spectroscopic Methods in Organic Chemistry*. Second Edition. Mc Graw Hill Book Company (UK) Limited. Maidenhead. Berkshire. England.3-5
28. Ditjen POM. 1997. *Farmakope Indonesia*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta. 9