

**FRAKSINASI DAN ANALISIS KROMATOGRAFI LAPIS TIPIS
EKSTRAK UMBI BUNGA KELELAWAR HITAM
(*Tacca chantrieri* André)**

**Roswita L. Wusu¹, Antonius R. B. Ola^{1,2}, Mikhael F. Bitin Berek¹, Prisilia T. Dapa¹,
Yohanes G. Lamak¹**

¹Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknik, Universitas Nusa Cendana, Jl. Adi Sucipto,
Kota Kupang, 85001, Indonesia

²Laboratorium Riset Terpadu (Biosains), Universitas Nusa Cendana, Jl. Adi Sucipto,
Kota Kupang, 85001, Indonesia

E-mail: lodovicaroswita2903@gmail.com

Abstrak

Bunga kelelawar hitam (*Tacca chantrieri* André) merupakan tumbuhan herba tahunan di daerah tropis. *Tacca chantrieri* André memiliki kandungan metabolit sekunder, salah satunya adalah taccalonolida yang telah diidentifikasi sebagai penstabil mikrotubulus yang memiliki khasiat melawan tumor yang resistan terhadap obat dan agen antikanker yang baik. Ekstrak dari tumbuhan ini dapat dimanfaatkan sebagai antibakteri, antiinflamasi dan antijamur. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil senyawa kimia khususnya kandungan metabolit sekunder pada ekstrak umbi bunga kelelawar hitam asal Kalimantan. Ekstrak diperoleh melalui proses maserasi simplisia dengan pelarut metanol. Ekstrak diperoleh melalui proses maserasi dengan pelarut metanol, kemudian difraksinasi menggunakan Kromatografi Cair Vakum dan diuji secara kualitatif dengan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil fraksinasi menunjukkan adanya 7 fraksi besar pada ekstrak umbi bunga kelelawar hitam yang memiliki variasi warna yaitu kuning, hijau, kuning kecokelatan dan cokelat tua. Analisis Kromatografi Lapis Tipis setiap fraksi menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat semipolar dan non polar pada fraksi 60%, 40%, dan 20% n-heksan dalam etil asetat dan 100% etil asetat.

Kata kunci: bunga kelelawar hitam; kromatografi cair vakum; kromatografi lapis tipis

Abstract

[Fractionation and Thin Layer Chromatography Analysis of Black Bat Flower (*Tacca chantrieri* André) Extract] Black bat flower (*Tacca chantrieri* André) is an annual herbaceous plant in the tropics. *Tacca chantrieri* André contains secondary metabolites, one of them is taccalonolide which has been identified as a microtubule stabilizer that has efficacy against drug-resistant tumors and a good anticancer agents. Extracts from this plant can be used as antibacterial, anti-inflammatory and antifungal. This study aims to determine the profile of chemical compounds, especially the content of secondary metabolites in black bat flower tuber extract from Kalimantan. The extract was obtained by maceration process with methanol solvent, then fractionated using Vacuum Liquid Chromatography and tested qualitatively by Thin Layer Chromatography. The results of the fractionation showed that there were 7 large fractions in the black bat flower tuber extract which had colour variations that are yellow, green, brownish yellow and dark brown. Thin Layer Chromatography Analysis of each fraction showed the presence of semi-polar and non-polar secondary metabolites in 60%, 40%, and 20% n-hexane in ethyl acetate and 100% ethyl acetate.

Keywords: black bat flower; vacuum liquid chromatography; thin layer chromatography

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara kepulauan terbesar di Asia Tenggara yang terletak di kawasan tropis dengan luas wilayah sekitar 1,9 juta km² [1]. Meskipun wilayah Indonesia hanya mencakup 1,3% dari luas bumi, tingkat keanekaragaman hayati di Indonesia sangat tinggi sehingga dikategorikan sebagai negara megadiversitas oleh Conservation International [2]. Indonesia diperkirakan memiliki 25% dari spesies tumbuhan berbunga yang ada di dunia dan menempati urutan ketujuh sebagai negara dengan jumlah spesies mencapai 20.000 dimana 40% adalah tumbuhan endemik atau asli Indonesia [3].

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

Dioscoreaceae merupakan salah satu famili tumbuhan berbunga yang memiliki berbagai spesies yang cukup banyak di Indonesia. Dioscoreaceae terdiri atas 4 genera yaitu Dioscorea, Stenomeris, Tacca (sebelumnya diklasifikasikan dalam Taccaceae), dan Trichopus (kadang-kadang diklasifikasikan dalam Trichopodaceae) [4].

Tacca chantrieri André (*Tacca*) adalah salah satu spesies dari famili Dioscoreaceae yang merupakan tanaman herba tahunan di daerah tropis dan subtropis seperti provinsi Hunan, Guangdong, Guangxi, dan Yunnan di Republik Rakyat Tiongkok, Vietnam, Laos, Kamboja, Thailand, Singapura [5] serta beberapa wilayah Amerika Selatan, Afrika, Cina Selatan, Thailand, dan Indo-Malesia seperti Sumatera, Kalimantan dan Malaysia [6]. Tanaman ini memiliki rimpang berbentuk silindris yang umumnya dimanfaatkan sebagai obat tradisional di Cina Tenggara dan Thailand [6], yang berkhasiat untuk mengurangi demam dan peradangan, menghilangkan rasa sakit, mengobati luka, tukak lambung dan duodenum, serta hepatitis [5]. Dalam hasil penelitian Keardit dkk. (2010), *Tacca chantrieri* juga diketahui memiliki aktivitas analgesik, antiperik, dan antiinflamasi. Sifat antiinflamasi pada tanaman ini, dapat diaplikasikan untuk mengobati luka bakar, tukak lambung, dan sakit perut [6].

Penelitian terkait senyawa kimia pada *Tacca chantrieri* André telah menunjukkan keragaman senyawa kimia yang cukup besar, seperti diarylheptanoid [7], taccalonolida [8], withanolida [9], dan jenis lain dari konstituen steroid serta glikosida [10]. Dari berbagai senyawa tersebut, taccalonolida telah diidentifikasi sebagai kelas baru agen penstabil mikrotubulus [11,12].

Tacca chantrieri juga diketahui memiliki kandungan metabolit sekunder berupa saponin pada bagian rhizoma atau rimpang [13]. Saponin telah dilaporkan memiliki sifat antijamur. Besarnya aktivitas hemolitik saponin sering dikaitkan dengan aktivitas antijamur dan antiinflamasi dari saponin [14]. Berdasarkan hasil penelitian Sudtiyanwimon dkk. (2010) terkait uji aktivitas antiinflamasi, dan aktivitas antimikroba, menunjukkan bahwa ekstrak murni saponin (titerpen glikosida) memiliki efek penghambatan pada aktivitas cyclooxygenase-2 (COX-2) dan memiliki efek untuk menghambat bakteri gram negatif dan gram positif tertentu. Selain itu, sebagian ekstrak murni menunjukkan efek penghambatan yang kuat dan signifikan terhadap jamur patogen.

Berdasarkan uraian diatas, dapat diketahui bahwa *Tacca chantrieri* André memiliki peran yang penting dalam berbagai bidang dan negara Indonesia merupakan salah satu negara yang juga menjadi habitat asli tanaman *Tacca chantrieri* André. Namun penelitian mengenai senyawa kimia dan bioaktivitas dari *Tacca chantrieri* André asal Indonesia belum pernah dilakukan, oleh karena itu peneliti tertarik untuk melakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui profil senyawa kimia dalam ekstrak umbi bunga kelelawar hitam hasil fraksinasi metode kromatografi cair vakum dan kandungan senyawa kimia berdasarkan analisis kromatografi lapis tipis.

METODE

Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah sampel umbi bunga kelelawar hitam, aquades, serbuk silika gel G60, metanol, etanol, diklorometan, etil asetat, n-heksan, H₂SO₄, tisu dan kapas.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah blender, neraca analitik, erlenmeyer, gelas kimia, gelas ukur, labu takar, pipet tetes, *aluminium foil*, evaporator, labu alas bulat, tabung reaksi, corong, mortar dan pestle, instrumen VLC, plat KLT, pipa kapiler, mistar, pensil, dan botol vial.

Preparasi Sampel

Sampel umbi Bunga kelelawar hitam (*Tacca chantrieri* André) diambil dari Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat. Umbi bunga kelelawar hitam dibersihkan, dipotong tipis-tipis dan dikeringkan pada suhu kamar tanpa terkena cahaya matahari secara langsung. Serbuk umbi bunga kelelawar hitam disiapkan untuk proses ekstraksi.

Ekstraksi umbi bunga kelelawar hitam

Metode yang digunakan adalah metode maserasi ekstraksi. Sebanyak 276, 456 gram sampel hasil preparasi dimasukkan dalam erlenmeyer dan dimaserasi menggunakan pelarut metanol sebanyak 1,45 L selama 3 malam. Maserat yang diperoleh selanjutnya disaring menggunakan kertas saring Whatman nomor 42. Filtrat yang diperoleh kemudian dievaporasi pada suhu 40°C.

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I UNIVERSITAS NUSA CENDANA Kupang, 31 Maret 2022

Fraksinasi Umbi Bunga Kelelawar Hitam

Ekstrak kental yang telah diperoleh difraksinasi dengan metode KCV [15]. Fraksinasi dilakukan dengan memasukkan sampel yang telah diimpregnasi ke dalam kolom yang berisi silika gel. Selanjutnya dilakukan elusi dengan eluen n-heksan: etil asetat dengan masing-masing komposisi eluen 100% n-heksan, 80%, 60%, 40%, 20% n-heksan dalam etil asetat dan 100% etil asetat. Elusi dilanjutkan dengan eluen diklorometan: metanol dengan masing-masing komposisi eluen 100% diklorometan, 90%, 70%, 50% diklorometan dalam metanol dan 100% metanol. Setiap filtrat yang diperoleh dievaporasi.

Kromatografi Lapis Tipis

Analisis KLT dilakukan pada beberapa eluen yaitu eluen 100% etil asetat, n-heksan:etil asetat (8:2), n-heksan : metanol (9:1), diklorometan : metanol (9:1) dan 100% diklorometan. Sampel hasil fraksinasi ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler pada jarak 1,5 cm dari bagian bawah plat dan dibiarkan beberapa saat hingga mengering. Plat KLT dimasukkan ke dalam chamber dan dibiarkan hingga proses elusi mencapai batas atas. Plat KLT diangkat dan dikeringkan. Untuk mengetahui lokasi dari noda, disemprotkan penampak noda 20% H₂SO₄ dalam etanol pada plat KLT dan dilakukan pemanasan dan dihitung nilai R_f.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Umbi Bunga Kelelawar Hitam

Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian adalah metode maserasi dengan prinsip ekstraksi menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengadukan pada suhu kamar [16]. Metode maserasi digunakan karena memiliki kelebihan dimana perendaman sampel dapat mencegah kerusakan terhadap senyawa yang terdapat dalam sampel yang belum diketahui karakteristiknya. Dalam proses ekstraksi digunakan pelarut metanol dimana metanol merupakan pelarut yang bersifat universal sehingga dapat menarik sebagian besar senyawa yang bersifat polar dan non polar pada sampel [17]. Sampel umbi bunga kelelawar hitam yang telah dihaluskan diambil sebanyak 276,456 gram dimaserasi dengan pelarut metanol sebanyak 1,45 liter. Dilakukan penyaringan untuk memisahkan filtrat dan kemudian dievaporasi sehingga diperoleh ekstrak kental berwarna coklat tua dengan berat 56,8213 gram.

Fraksinasi Umbi Bunga Kelelawar Hitam

Sampel hasil evaporasi difraksinasi dengan metode Kromatografi cair vakum (KCV) yang bertujuan untuk memisahkan ekstrak menjadi fraksi-fraksi yang lebih sederhana dengan memanfaatkan kolom sebagai fase diamnya dan aliran fase geraknya dibantu oleh vakum [18]. Prinsip KCV didasari pada pemisahan sesuai dengan perbedaan tingkat kepolaran. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel. Elusi dimulai dengan pelarut yang paling non-polar hingga yang paling polar sehingga hasil pemisahan yang diperoleh lebih sempurna, dikarenakan sampel yang mengandung senyawa non polar akan cepat terelusi karena tidak bereaksi dengan fase diam pada kolom. Sedangkan senyawa polar akan berinteraksi lebih lama akibat sifat polar tersebut.

Hasil fraksinasi menunjukkan bahwa fraksi 100% n-heksan dan 80% n-heksan dalam etil asetat tidak memiliki warna dalam fraksi yang dihasilkan, hal ini dapat menunjukkan secara tidak langsung bahwa dalam sampel, kemungkinan adanya senyawa yang bersifat non polar sangat sedikit. Fraksi 60% n-heksan dalam etil asetat ditunjukkan oleh warna kuning setelah dievaporasi, adanya warna dalam fraksi ini, menunjukkan adanya kandungan senyawa kimia tertentu dalam sampel. Fraksi 40% n-heksan dalam etil asetat menghasilkan warna kuning-kehijauan dan hasil evaporasi fraksi menunjukkan warna hijau pekat dengan adanya jarum Kristal pada permukaan sampel. Pada fraksi 20% n-heksan dalam etil asetat dan 100% etil asetat menghasilkan karakteristik warna yang serupa yaitu kuning-kecokelatan. Pada eluen diklorometan: metanol, fraksi 100% diklorometan menghasilkan warna coklat gelap, sedangkan pada fraksi 90% diklorometan dalam metanol dan 70% diklorometan dalam metanol menunjukkan warna kuning gelap.

SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022

Tabel 1. Data berat Umbi *Tacca chantrieri* André hasil fraksinasi metode Kromatografi Cair Vakum (KCV).

Fraksi	Berat total (gram)
60% n-heksan dalam etil asetat	0,3633
40% n-heksan dalam etil asetat	0,4750
20% n-heksan dalam etil asetat	0,5099
100% etil asetat	0,4395
100% diklorometan	0,1593
90% diklorometan dalam metanol	0,1806
70% diklorometan dalam metanol	0,2563

Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Fraksi hasil evaporasi dilanjutkan untuk analisis senyawa kimia pada tahap awal menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. Hasil analisis menggunakan KLT menunjukkan adanya spot pada plat KLT dengan berbagai variasi eluen.

Tabel 2. Nilai Rf dari 7 Fraksi Besar Ekstrak Metanol Umbi Bunga Kelelawar.

Sampel	Keterangan	Eluen	Nilai Rf
A	Fraksi 60% n-heksan dalam etil asetat	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	0.9384
		100% Etil Asetat	0.9384
		100% Diklorometan	0.9230
		DCM : metanol (9:1)	0.9230
B	Fraksi 40% n-heksan dalam etil asetat	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	spot 1: 0.6307 spot 2: 0.9384
		100% Etil Asetat	spot 1: 0.8846; spot 2: 0.9461
		100% Diklorometan	spot 1: 0.3692; spot 2: 0.9076; spot 3: 0.9538
		DCM : metanol (9:1)	spot 1: 0.8615; spot 2: 0.9230
C	Fraksi 20% n-heksan dalam etil asetat	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	spot 1: 0.5615; spot 2: 0.6307; spot 3: 0.9384
		100% Etil Asetat	spot 1: 0.7384; spot 2: 0.8846
		100% Diklorometan	spot 1: 0.3846; spot 2: 0.9076; spot 3: 0.9538
		DCM : metanol (9:1)	spot 1: 0.7538; spot 2: 0.8615; spot 3: 0.9230
D	Fraksi 100% Etil asetat	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	spot 1: 0.6307; spot 2: 0.9384
		100% Etil Asetat	spot 1: 0.7384; spot 2: 0.8692
		100% Diklorometan	spot 1: 0.4076; spot 2: 0.9076; spot 3: 0.9538
		DCM : metanol (9:1)	spot 1: 0.7692; spot 2: 0.8615; spot 3: 0.9230
E	Fraksi 100% DCM	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	-
		100% Etil Asetat	-
		100% Diklorometan	-
		DCM : metanol (9:1)	spot 1: 0.8230; spot 2: 0.9230
F	Fraksi 90% DCM dalam metanol	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	-
		100% Etil Asetat	-
		100% Diklorometan	-
		DCM : metanol (9:1)	-
G	Fraksi 70%	n-heksan : Etil Asetat (8:2)	-

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA
Kupang, 31 Maret 2022**

DCM dalam metanol	100% Etil Asetat 100% Diklorometan DCM : metanol (9:1)	- - spot 1: 0.6769; spot 2: 0.7384; spot 3: 0.8; spot 4: 0.8846; spot 5: 0.9230
-------------------	--	---

Penentuan kepolaran suatu senyawa berdasarkan hasil analisis KLT dapat dilihat dari jarak elusi senyawa oleh eluen yang digunakan. Semakin jauh suatu sampel terelusi maka semakin nonpolar sifat dari fraksi tersebut, hal ini juga ditunjukkan dengan besarnya nilai Rf. Tingkat kepolaran ini tentunya didasari pada prinsip dasar pemisahan menggunakan KLT dimana hanya senyawa dengan sifat polar dapat tertahan pada fasa diam (plat KLT), sedangkan senyawa non polar dan semipolar akan terelusi jauh oleh fasa gerak (eluen) meninggalkan fasa diam [19].

Berdasarkan data pada Tabel 2 dapat dilihat pada sampel A yaitu fraksi 60% n-heksan dalam etil asetat memiliki noda dengan nilai Rf yang hampir sama pada keempat eluen yang digunakan. Hal ini menunjukkan bahwa sampel A memiliki kandungan senyawa kimia yang bersifat semipolar dan/atau non polar yang ditunjukkan dengan nilai Rf yang besar pada noda yang dihasilkan. Pada sampel B, C dan D menunjukkan pola pemisahan yang hampir sama, ditunjukkan dengan munculnya noda pada nilai Rf yang saling mendekati pada setiap eluen yang digunakan. Berdasarkan hasil analisis KLT tersebut dapat dilihat bahwa sampel A, B, C dan D memiliki kandungan senyawa kimia dengan karakteristik yang hampir sama dan bersifat semipolar. Sedangkan pada sampel E, F dan G analisis menggunakan variasi eluen n-heksan : etil asetat tidak menunjukkan adanya noda pada plat KLT, hal ini bisa disebabkan oleh pengaruh eluen dan sifat fraksi dimana sampel E, F, dan G cenderung bersifat polar sehingga kemungkinan senyawa yang dibawa bersifat semipolar hingga polar sedangkan eluen yang digunakan bersifat sangat semipolar sehingga pemisahan yang dilakukan kurang efisien. Pada penggunaan eluen diklorometan : methanol (9:1), terdapat noda yang terdeteksi pada sampel E dan G dengan nilai Rf yang hampir sama, hal ini menunjukkan kemungkinan adanya senyawa dengan karakteristik yang hampir sama.

KESIMPULAN DAN SARAN

Fraksinasi ekstrak umbi bunga kelelawar hitam (*Tacca chantrieri* André) menghasilkan 7 fraksi besar dengan variasi warna yaitu kuning, hijau, kuning kecokelatan dan coklat tua. Hasil analisis kromatografi lapis tipis menunjukkan adanya kandungan senyawa metabolit sekunder yang bersifat semipolar dan non polar pada fraksi 60%, 40%, dan 20% n-heksan dalam etil asetat dan 100% etil asetat. Penelitian yang dilakukan merupakan analisis tahap awal, sehingga disarankan bagi peneliti yang ingin melanjutkan riset dengan topik yang sama, dapat melakukan uji fitokimia terkait kandungan metabolit sekunder dalam sampel sehingga dapat dilanjutkan pada analisis senyawa kimia dalam ekstrak umbi bunga kelelawar hitam.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terima kasih kepada Laboratorium Riset Terpadu (Biosains) Universitas Nusa Cendana sebagai tempat penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Badan Pusat Statistik Indonesia. 2020. *STATISTIK INDONESIA 2020 Statistical Yearbook of Indonesia 2020*. Jakarta: Badan Pusat Statistik.
- [2] World Conservation Monitoring Centre. 2020. Megadiverse Countries. URL: <https://www.biodiversitya-z.org/content/megadiverse-countries> . Diakses tanggal 15 September 2020.
- [3] Kusmana, Cecep dan Agus Hikmat. 2015. Keanekaragaman Hayati Flora di Indonesia. *Jurnal Pengelolaan Sumber Daya Alam dan Lingkungan*. 5(2): 187-198. <http://journal.ipb.ac.id/index.php/jpsl/> .
- [4] Simpson, Michael G. 2010. *Plant Systematics (Second Edition)*. USA: Academic Press is an imprint of Elsevier. 181-274.

**SEMINAR NASIONAL KIMIA DAN PENDIDIKAN KIMIA I
UNIVERSITAS NUSA CENDANA**

Kupang, 31 Maret 2022

- [5] He, Juan, dkk. 2021. Taccachatrones A–G, Highly Oxidized Steroids from the Rhizomes of *Tacca chantrieri* and Their Cytotoxicity Assessment. *Journal of Natural Products*. <https://pubs.acs.org/action/showCitFormats?doi=10.1021/acs.jnatprod.1c00342&ref=pdf>.
- [6] Sari, Maya dan Mayta Novaliza Isda. 2021. Respon Pembentukan Kalus Daun *Tacca chantrieri* dengan Berbagai Konsentrasi 2,4D dan BAP Secara *In Vitro*. *Jurnal Biologi Universitas Andalas*. 9(1): 8-17. <http://jbioua.fmipa.unand.ac.id>.
- [7] Yokosuka, A., dkk. 2002. *J. Nat. Prod.*, 65: 283–289.
- [8] Ni, Gang dkk. 2015. Cytotoxic Taccalonolides and Withanolides from *Tacca chantrieri*. *Planta Med.* 81: 247-256.
- [9] Yokosuka, A.; Mimaki, Y.; Sashida, Y. 2003. *J. Nat. Prod.*, 66: 876–878.
- [10] Yokosuka, A.; Mimaki, Y.; Sashida, Y. 2002. *J. Nat. Prod.*, 65: 1293–1298.
- [11] Tinley, T. L.; Randall-Hlubek, D. A.; Leal, R. M.; Jackson, E. M.; Cessac, J. W.; Quada, J. C., Jr.; Hemscheidt, T. K.; Mooberry, S. L. 2003. *Cancer Res.* 63: 3211–3220.
- [12] Peng, J.; Risinger, A. L.; Fest, G. A.; Jackson, E. M.; Helms, G.; Polin, L. A.; Mooberry, S. L. 2011. *J. Med. Chem.* 54: 6117–6124.
- [13] Sudityanwimon, S., dkk. 2010. Phytochemical and Biological Activities of *Tacca Chantrieri*. *Journal of Metals, Materials, and Mineral.* 20(3): 179-183.
- [14] Sindambiwe, J. B., Calomme, M., Geerts, S., Pietres L., Vlietinck, A., J & Vanden Berghe, D. A. 1998. Evaluation of biological activities of triterpenoid saponins from *Maesa lanceolata*. *J. Nat. Prod.* 61(5): 585-590.
- [15] Ola, A. R. B., dkk. 2020. Analysis of production kojic acid from endophytic fungi *Aspergillus flavus* isolated from *Annona squamosa* leaves using an OSMAC Approach. *IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng.* 823 012003. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/823/1/012003>.
- [16] Prawirodiharjo, E. 2014. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol 70% dan Ekstrak Air Kulit Batang Kayu Jawa (*Lannea coromandelica*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, Universitas Syarif Hidayatulloh, Jakarta.
- [17] Salamah, N. dan Widyasari, E. 2015. Aktivitas Antioksidan Ekstrak Metanol Daun Kelengkeng (*Euphoria longan* (L) Steud.) dengan Metode Penangkapan Radikal 2,2' –difenil-1-pikrilhidrazil. *Pharmaciana*. 5(1): 25-34.
- [18] Ghisalberty, E.L. 2008. *Detection and Isolation of Bioactive Natural Products in Bioactive Natural Products: Detection, Isolation, and Structural Determination*. Taylor and Francis Group Inc.
- [19] Khair, Khurriyatul, Yayuk Andayani dan Aliefman Hakim. 2017. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Pada Hasil Fraksinasi Ekstrak *Phaseolus vulgaris* L. dengan Metode *Gas Chromatography-Mass Spectroscopy* (GC-MS). *Jurnal Penelitian Pendidikan IPA*. Vol 3 (1). <http://jppipa.unram.ac.id/index.php/jppipa>.