

ISOLATION OF ACTIVE COMPOUNDS FROM LABAN (*VITEX PINNATA*) NATIVE MEDICINAL PLANTS OF EAST AND NORTH KALIMANTAN AS COSMETIC INGREDIENTS

ISOLASI SENYAWA AKTIF DARI LABAN (*VITEX PINNATA*) TUMBUHAN OBAT ASLI KALIMANTAN TIMUR DAN KALIMANTAN UTARA SEBAGAI BAHAN KOSMETIK

Ritson Purba, Amanda Salwa Nur Azizah*, Rista Maulidawati

Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Samarinda, Kalimantan timur, Indonesia

*email: amandasalwa127@gmail.com

Diterbitkan: 31 Oktober 2024

ABSTRACT

Laban (*Vitex pinnata*), a natural medicinal plant of East and North Kalimantan, was the subject of an isolation process to produce active chemicals. This study uses a chromatography column with a solvent gradient system to carry out the fractionation or isolation process. The crude plant extract is first fractionated using a solvent with the least polarity, n-hexane, and then additional solvent is added. The goal is to ascertain the anti-bacterial and antioxidant activity of plant isolates as well as obtain pure compounds and describe the properties and structure of isolated compounds. Previously, an extract known as Laban (*Vitex pinnata*) extract was utilized.

This plant was isolated, and the isolation yield for Laban (*Vitex pinnata*) was 85.06%. The chromatography column for *Vitex pinnata* is done by mixing a sample of 10 grams of *Vitex pinnata* leaf extract with a 37.5 gram sample of silica and then inserting it into the saturated chromatography column. The isolates were tested for their antioxidant activity and anti-bacterial P.acne (anti-acne). Test of antioxidant were determined by their antioxidant activity through the DPPH free reduction mechanism with 3 repetitions control. The test was using a UV-Vis spectrophotometer at a temperature of 25°C with a wavelength of 514 µm.

Keywords: isolation, antioxidant, P.acne bacteria, cosmetics.

PENDAHULUAN

Kosmetik adalah sebuah bahan atau produk yang digunakan oleh manusia untuk merawat dan membersihkan kulit manusia sehingga kulit manusia semakin sehat dan cantik. Ketertarikan menggunakan produk kosmetik biasanya tergantung pada keadaan tubuh, daya tahan tubuh terhadap lingkungan, proses penuaan, perubahan perilaku (budaya) dan perubahan-perubahan lainnya kepada tampilan, aroma, dan badan yang lebih baik. Kosmetik memiliki empat fungsi utama yaitu sebagai penjaga kondisi kesehatan, sebagai perawatan kecantikan (kosmetik sebenarnya), sebagai penambah tenaga (toniks) dan juga sebagai pelindung (Riswan et al., 2002). Menurut laporan penelitian (Roosita et al., 2008) ada lebih dari 1300 spesies tumbuhan obat yang digunakan sebagai obat-obat tradisional di Indonesia yang sering kita kenal dengan nama jamu dan herbal. Penggunaan obat-obatan tradisional jauh lebih dikenal, berfungsi untuk perawatan kecantikan atau kosmetik. Indonesia sebagai negara kepulauan terkenal memiliki keanekaragaman hayati yang tinggi, baik dari segi jumlah demikian kualitas, baik di darat demikian juga di air.

Dalam penelitian yang dilakukan (Arung Tet al., 2017) juga didapatkan bahwa ekstrak etanol *L. amoena*, *V. pinatta*, *C. pallida* dan *P. corymbosa* memiliki daya hambat bakteri lebih kuat dibandingkan dengan standar (chlorompenicol) ekstrak etanol tanpa adanya pemisahan fraksi dan pemurnian ekstrak. Hal yang menarik dari tumbuhan ini adalah kandungan tumbuhan ini yang memiliki sifat menghambat pertumbuhan bakteri (anti jerawat) menggunakan ekstrak etanol. Dipilihnya empat jenis tumbuhan ini adalah karena keempat tumbuhan ini jumlahnya dan areal tumbuhnya sangat luas di daerah ini. Tumbuhan ini belum diketahui kandungan senyawa utamanya, dan telah dilakukan uji fitokimia untuk melihat golongan

This is an open-access article under the [CC-BY-SA](https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0/) license.



atau sifat jenis senyawa yang dikandung tumbuhan ini, secara kualitatif tetapi jumlah secara kualitatif kandungannya belum diteliti termasuk dalam komponen metabolit sekunder yang merupakan komponen terkuat pengaruhnya memberi memberi efek anti jerawat dan anti oksidan dari ekstrak etanol senyawa kandungan tumbuhan. Walaupun dalam penelitian itu telah juga diidentifikasi kandungan fitokimia tumbuhan tersebut tetapi tidak dapat ditentukan gugus fungsi aktif mana yang memberikan pengaruh anti jerawat dan anti mikroba. Pada penelitian terdahulu uji anti oksidan dan anti bakteri dilakukan menggunakan ekstrak etanol artinya etanol digunakan untuk menarik semua komponen (metabolit sekunder) yang terdapat didalam tumbuhan- tumbuhan itu, sedangkan untuk penelitian ini uji anti oksidan dan anti bakteri dilakukan bukan menggunakan ekstrak kasar tetapi menggunakan isolat yang telah dipisahkan berdasarkan kolom kromatografi dengan Rf yang sama. Senyawa dari golongan mana yang mampu memiliki daya hambat maksimal dan sifat antioksidan terbaik.

METODOLOGI PENELITIAN

Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara pengambilan sampel dilakukan di beberapa tempat seperti Melak di Kutai Barat di samboja kota Timur dan Kebun Raya Unmul Samarinda di Kalimantan Timur dan Berau Tanjung Palas Kalimantan Timur Utara identifikasi dan determinasi sampel dilakukan di laboratorium dendrologi Fakultas Kehutanan Unmul pengumpulan dan persiapan sampel dilakukan dilaboratorium kimia hasil hutan fakultas kehutanan universitas muwarman.

Waktu Penelitian

Waktu penelitian dimulai pada bulan Januari 2018 sampai bulan Juni 2018

Objek Penelitian

Objek penelitian adalah beberapa spesies tumbuhan obat asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara yaitu Belaluq lesooq dari sejenis pardu.

Prosedur Penelitian

Alat

Alat yang digunakan ialah pipet tetes, pisau (sabit), blender, gelas beaker, shaker, gunting, gelas ukur, kertas saring, Erlenmeyer, aluminium foil, plastik wrap, labu evaporasi, vaselin, tabung reaksi, seperangkat alat evaporator, spatula, botol vial, timbangan analitik, oven, cup, kuvet, plat KLT, mikropipet, statif, lem, corong pisah, kulkas, penjepit, pinset, chamber, UV lem, kamera, kromatografi kolom, Spektrofotometer IR, GC/MS

Bahan

Bahan Tumbuhan

Bahan-bahan tumbuhan berupa Laban yang telah dikoleksi dan dikumpulkan sebelumnya dari beberapa lokasi di Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara oleh tim peneliti di Universitas Mulawarman.

Bahan-bahan (spesimen) atau simplisia tumbuhan ini telah diidentifikasi di laboratorium Dendrologi Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman serta dikoleksi di Fakultas Kehutanan Universitas Mulawarman di Laboratorium Kimia Hasil Hutan. Bakteri yang dipakai adalah bakteri (*Propionibacterium Acnes*) yang diperoleh dari Korea Selatan (*Korean Culture Center of Microorganism*, KCM). Uji antioksidan menggunakan DPPH.

Reagen (pelarut)

Adapun pelarut yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol, aseton, dimetil sulfoksida (DMSO), nutrient agar, nutrient broth, 2,3,5-trifenil tetra zolium klorida (TTC), kloramfenikol, larutan Dragendroff, HCL, H₂SO₄ Pb asetat, N-heksan, DPPH, metanol, NaOH, asam asetat, etil asetat, metanol, larutan Lieberman Butchard, sillika gel dan bahan-bahan lainnya adalah dalam kemurnian tinggi (pa).

Alur Penelitian

Penyiapan Sampel

Sampel yang digunakan adalah daun Laban (*Vitex pinnata*) yang sudah dibersihkan dan dirajang kecil-kecil. Setelah itu, ditimbang beratnya dengan timbangan digital. Sampel yang telah berukuran kecil dihaluskan dengan blender hingga menjadi serbuk.

Ekstraksi Maserasi

Masing-masing sampel ditimbang sebanyak 1000 gram, dimaserasi menggunakan pelarut etanol selama 3 x 24 jam pada temperatur ruangan dengan menggunakan shaker, selanjutnya disaring. Kemudian hasil ekstraksi dipekatkan/diuapkan dengan menggunakan alat rotary vacuum evaporator pada suhu 30-40°C dan diuapkan di dalam oven vakum hingga diperoleh ekstrak kasar.

Isolasi Senyawa atau fraksinasi

Isolasi merupakan metode untuk memisahkan suatu senyawa dari tumbuhan. Metode pemisahan yang dilakukan meliputi kromatografi lapis tipis dan kromatografi kolom

Kromatografi lapis tipis

Melarutkan ekstrak etanol daun Laban (*Vitex pinnata*) dengan aseton secukupnya hingga larut secara sempurna. Menyiapkan plat KLT dan diberi jarak 0,5 cm pada plat bagian atas dan bagian bawah 1 cm dan 0,5 cm sebagai jarak spot satu dengan spot lainnya. Kemudian dilakukan penotolan ekstrak yang telah dilarutkan dengan aseton dan dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi eluen tertentu (normal heksan etil asetat), dibiarkan hingga titik spot naik pada batas yang telah ditentukan. Dilihat KLT dengan menggunakan sinar UV dan batas pemisahan ditandai dengan pensil.

Kromatografi kolom ekstrak etanol

Sampel ditimbang sebanyak 2 g, kemudian silika gel untuk sampel 2 g dan silika gel untuk kolom 20 g. Sampel dilarutkan dengan kloroform secukupnya kemudian dimasukkan silika gel ke dalam sampel tersebut sedikit demi sedikit, selanjutnya dimasukkan ke dalam vakum oven hingga kering dan berbentuk butiran pasir halus, atau dapat dilakukan pengadukan secara perlahan dengan bantuan air *pump* (pompa udara) hingga larutan kloroform menguap dan sampel berbentuk seperti silika gel. Tabung kolom disiapkan dan dimasukkan kapas yang sudah dibasahi dengan kloroform ke dalam tabung kolom tersebut hingga menghasilkan laju tetesan yang ideal.

Kemudian dimasukkan larutan kloroform ke dalam tabung kolom, proses bilasan dilakukan pengulangan sebanyak 3x. Silika gel yang dicampur dengan kloroform dimasukkan perlahan ke dalam tabung kolom hingga tingginya mencapai 3/4 tabung kolom sambil dipadatkan dengan cara diguncang. Ekstrak yang telah dilarutkan dengan kloroform dimasukkan ke dalam tabung kolom secara perlahan-perlahan kemudian bilas dengan kloroform murni 1 kali, dan kemudian dimasukkan eluen yang telah ditentukan sebelumnya (n-heksan etil asetat) dengan perbandingan 10:0, 9:1, 7:3, 6:4, 5:5, 4:6, 3:7, 2:8, 1:9, 0:10, hingga pemisahan pita warna senyawa terlihat sempurna. Kemudian hasil kolom ditampung di dalam tabung reaksi ukuran 20 ml erlenmeyer. Dengan perbandingan yang sama dilakukan menggunakan eluen etil asetat: metanol sampai didapatkan fraksi-fraksi yang terpisah menggunakan sistem gradien pelarut.

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dari Kromatografi Kolom

Eluat yang ditampung dalam tabung di KLT, siapkan plat KLT dan diberi jarak 0,5 cm pada plat bagian atas 1cm di bagian bawah serta 0,5 cm sebagai jarak spot satu dengan spot lainnya kemudian dilakukan penotolan eluat dan dimasukkan ke dalam chamber yang telah berisi larutan sesuai dengan perbandingan eluen pada saat kolom dan dibiarkan hingga eluen mengelusi eluat sampai pada batas yang telah ditentukan. Plat KLT dilihat dengan menggunakan sinar UV, kemudian akan terlihat pada plat spot yang naik pada tiap eluat, spot yang sama pada beberapa eluat digabungkan menjadi satu.

Uji Antioksidan

Pengujian dilakukan dengan UV-Vis Spektrofotometer pada temperatur ruangan 25°C dengan panjang gelombang 514 nm. Disiapkan tube dan cuvet, kemudian ekstrak tumbuhan sebanyak 4,5 mg dilarutkan dalam DMSO sebanyak 200 ml. Larutan stok sampel dimasukkan ke dalam tube sebanyak 33 µl. 467 µl etanol dan ditambahkan 500 µl DPPH (1,1-diphenyl-2 picrylhydrazyl) larutan pencampuran dicukupkan apabila volume sampel telah sampai 1000 µl. Selanjutnya sampel diinkubasi selama 20 menit dalam ruangan yang minim cahaya dan pada suhu ruangan.

Uji Anti Jerawat

Penyiapan Media Tumbuhan

Media yang digunakan untuk pertumbuhan bakteri adalah Nutrient Agar (NA) dengan komposisi yaitu Nutrient Broth (pH 7,2) sebanyak 4 gr dan 7,5 gr bubuk agar yang dicampur dengan 500 ml aquades. Setelah itu media, dimasukkan ke dalam tabung erlenmeyer dan disumbat kapas rapat-rapat lalu ditutup dengan menggunakan aluminium foil. Agar memperoleh media yang steril selanjutnya media tersebut dimasukkan kedalam autoclave selama 21 menit dengan tekanan 0,1 Mpa dan temperatur 121 °C dan peralatan dan bahan yang akan digunakan dalam pengujian juga disterilisasi menggunakan autoclave dengan suhu sebesar 121 °C selama 21 menit.

Penyiapan Kultur *P.acne*

Sebanyak 5 ml aquades steril dimasukkan kedalam agar miring yang berisi kultur *P.acnes*, lalu digoreskan ke permukaan agar miring dengan menggunakan spatula steril. Selanjutnya suspensi spora tersebut dimasukkan ke dalam botol sampel kemudian dihitung nilai % transmitansi dengan menggunakan WMS Spektrofotometer 530 nm

Pengujian anti *P.acne* (metode sumuran)

Uji anti *P.acne* secara in vitro dengan metode difusi dimulai dengan mensterilkan petri dish yang berisi NA dengan menggunakan autoclave pada suhu 121 °C selama 21 menit. Setelah itu pada keadaan aseptik (didalam laminar flow) biarkan media mengeras, lalu tambahkan 100 ml suspensi *P.acnes* dan diratakan dengan menggunakan kaca perata karena menggunakan metode sumuran, beri lubang pada media yang masing-masing berisi 20 ml sampel. Dengan susuna aseto sebagai kontrol negatif, chloramphenicol sebagai kontrol positif, untuk kultur bakteri yaitu *P.acne* dan ekstrak dalam beberapa konsentrasi

Pengukuran penghambatan ekstrak terhadap bakteri *P.acne*

Setelah inkubasi selama 24 jam, hambatan ekstrak terhadap *P. acnes* diukur menggunakan penggaris dengan 3 kali ulangan untuk setiap sumur. Daya hambat minimum (MICs dan MBCs) ditentukan menggunakan metode Broth Microdilution dalam 96 well plates sesuai dengan Lunga et al. (2014) dengan sedikit modifikasi. Setiap well diisi 100 µl Nutrient Broth untuk *P. acnes*. Sampel (fraksi) dan kloramfenikol sebagai kontrol positif disiapkan dengan konsentrasi akhir 1250, 625, 312,5, dan 156,25 ppm. Stok sampel dan fraksi sebanyak 55 µl ditambahkan ke 96 well plates bersama 100 µl Nutrient Broth dan 50 µl suspensi bakteri. Setelah inkubasi 24 jam pada 37°C, 50 µl larutan 2,35 triphenyl tetrazolium chloride (TTC) ditambahkan satu jam sebelum inkubasi berakhir. Warna merah menunjukkan bakteri hidup, sedangkan area terang menunjukkan bakteri terhambat. Daerah terang diukur dengan tes MBCs dengan menambahkan 50 µl dari suspensi daerah terang ke 96 well plates yang mengandung 100 µl Nutrient Broth untuk mendapatkan duplikasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah sampel yang sudah diambil dan telah dipersiapkan sebelumnya oleh tim riset tanaman obat Fakultas Kehutanan UNMUL yang dipimpin Enos Tangke Arung (Arung T., dkk). Sampel Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini. Laban (*Vitex pinnata*) adalah jenis tumbuhan obat asli (Laban) yang dikenal sudah jelas dan digunakan masyarakat lokal (suku suku asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara bat Bahan seperti Dayak, Kutai, Banjar, Tidung, Bajau, Paser, Bugis) sebagai Bedak (pupur) dingincetong atau sebagai Pelembaban belindring wate. Setelah kering, selanjutnya dihaluskan sampai menjadi serbuk. Serbuk ditimbang ditimbang dan dimaserasi menggunakan pelarut etanol dan dibiarkan selama tiga hari lalu disaring. Kemudian ekstrak dipekatkan dengan rotary evaporator. Maka didapatkan berat ekstrak kering sebesar daun belaluq lesoq sebesar 6,25 gram. Ekstrak kasar yang didapatkan kemudian disimpan didalam desikator dan telah diujikan aktivitas antioksidan dan antibakteri *P.acne* nya.

Dalam penelitian sebelumnya sudah diketahui bahwa *Vitex pinnata* mengandung senyawa Alkaloid, Flavanoid, Terpenoid dan Tanin dalam hal ini Laban memiliki tanin karena umumnya senyawa tanin sering mengacaukan eluen-eluen yang lain. Sebelum dilakukan isolasi maka juga dilakukan KLT terhadap sampel *Vitex pinnata* untuk melihat perbandingan pelarut yang digunakan. Kolom kromatografi untuk *Vitex pinnata* dilakukan dengan mencampurkan sampel ekstrak daun *Vitex pinnata* sebanyak 10 gram dengan silica sampel 37,5 gram kemudian dimasukkan kedalam kolom kromatografi yang sudah dijenuhkan terlebih dahulu menggunakan silica gel kolom sebanyak 132,28

gram. Isolasi sampel dilakukan dengan cara mengelusi sampel dalam kolom kromatografi menggunakan pelarut yang memiliki kepolaran paling rendah dalam hal ini digunakan n-heksan mulai dari n-heksan 100%. Isolat yang turun ditampung dalam fial atau beaker glass dan disesuaikan sesuai fraksinya. Jika eluennya tidak turun atau terdapat komponen sampel yang tidak turun maka polaritas pelarut dinaikkan dengan cara membuat eluen campuran n-heksan berbanding etil-asetat, dimana etil-asetat adalah eluen yang bersifat lebih polar dibanding n-heksan dengan perbandingan 80:20 demikian seterusnya sampai didapat etil-asetat 100% dan jika sampel masih menunjukkan pola kolom yang sama maka dielusasi dengan terus meningkatkan kepolaran pelarut yaitu etil-asetat berbanding metanol dengan perbandingan 80:20 persen demikian seterusnya hingga didapatkan semua fraksi yang ada hingga eluen 100% metanol dalam hal ini metanol sebagai eluen yang paling polar. Setelah semua komponen senyawa yang terdapat dalam sampel turun lewat kolom dan ditandai dengan kolom yang sudah berwarna jernih maka kolom dibilas dengan menggunakan metanol 100% sebanyak 2 kali (tergantung sudah jernih atau tidak).

Eluen yang turun dimasukkan dalam beaker gelas dan diuji lewat kromatografi lapis tipis dan melihat harga Rf nya. Isolat atau fraksi yang memiliki harga Rf sama maka sampelnya digabungkan karena dianggap satu senyawa yang sama selanjutnya fraksi-fraksi disimpan untuk di uji selanjutnya.

Berat masing-masing isolat yang dihasilkan setelah dipekatkan dengan rotary evaporator dimasukkan kedalam botol kaca, diberi label dan disimpan didalam desikator. Rendemen isolasi atau persentase isolasi (fraksinasi) dari sampel ekstrak Laban dapat dihitung dengan cara yang sama, didapatkan rendemen isolasi Laban sebesar 85,06%.

Adapun isolat yang memiliki rendemen terbaik dalam hal ini diduga komponen terbanyak kandungan ekstrak adalah masing-masing V28 diikuti V36 dan V32. Ada sebanyak 39 isolat atau fraksi hasil isolasi ekstrak Laban (*Vitex pinnata*). Isolat ini yang diisolasi merupakan turunan dari *Vitex pinnata* dengan pelarut heksan berbanding etil asetat 80:20 diuji antioksidannya melalui mekanisme peredaman radikal bebas DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) dengan kontrol sebanyak 3 kali pengulangan, konsentrasi penetralan DPPH dihitung menggunakan absorbansi hitung yang didapat dari pengukuran menggunakan alat spektro UV. Kontrol negatif yang digunakan adalah DMSO yang dicampurkan dengan DPPH seperti pengukuran pada sampel terdahulu. Kontrol positifnya adalah vitamin C. Pengujian dilakukan dengan menggunakan UV-Vis spektrofotometer pada temperature 25°C dengan panjang gelombang 514 μm . Diperoleh hasil aktivitas antioksidan isolat *Vitex pinnata* (V30) memiliki IC₅₀ paling besar yaitu sebesar 101,69 mg/L, dengan kontrol positif vitamin C sebesar 2,93 mg/L. Jika sesuai standar ekstrak tumbuhan maka aktivitas antioksidan isolat V30 masuk ke dalam kategori SEDANG. Jika dibandingkan dengan ekstrak kasar *Vitex pinnata* awalnya maka sifat antioksidan ini juga berkurang, hal ini dikarenakan dalam ekstrak kasar ada campuran beberapa komponen kimia yang saling bersinergi menghambat atau meredam radikal bebas pada DPPH seperti isolat sampel-sampel sebelumnya.

Pada penelitian ini ekstrak tanaman Laban (*Vitex pinnata*) dengan berat 11,09 g dilarutkan dengan pelarut semi-polar etanol atau etil asetat. Dari 39 isolat yang diperoleh nilai luas zona hambat terbesar yakni pada V30, V11 dan V26. Senyawa fenolik yang kemungkinan mempengaruhi kurangnya daya penghambatan pada suatu isolat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian, disimpulkan beberapa hal sebagai berikut:

1. Isolasi senyawa aktif dari ekstrak tumbuhan obat asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara dapat dilakukan dengan baik menggunakan kromatografi kolom dan menghasilkan 27 isolat Selekop (*Lepisanthes amoena*), 28 isolat Laban (*Crotalaria pallida*), 35 isolat Singkil (*Premna corymbosa*) dan 39 isolat Laban (*Vitex pinnata*) dengan rendemen masing-masing 65% untuk Selekop, 78,77% untuk Belalauq Lesooq, 90,64% untuk Singkil dan 85% untuk Laban.
2. Isolat-isolat dari tumbuhan obat asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara memiliki aktivitas antioksidan yang kurang baik karena tidak semua isolate memiliki sifat antioksidan dan sifat antioksidan yang terbaik adalah isolat BS18 yang berada pada kategori sangat kuat.
3. Isolat-isolat tumbuhan obat asli Kalimantan Timur dan Kalimantan Utara juga memiliki daya hambat terhadap pertumbuhan anti jerawat, meskipun daya hambatnya berkurang.

4. Untuk memurnikan dan menentukan struktur dari sifat senyawa yang dikandung oleh isolat-isolat maka isolat yang terbaik digunakan adalah V30, karena memiliki anti-oksidan ($IC_{50}=101,69$ mg/L) dan anti jerawat ($P. Acne=1250 > \mu\text{g/well}$) yang baik.

DAFTAR PUSTAKA

- Amasa W, Santiago D, Mekonen S, Ambelu A. 2012. Are Cosmetics Used In Developing Countries Safe? Use and Dermal Irritation of Body Care Products in Jimma Town, Southwestern Ethiopia, *J Toxico/ 2012*: 1-8.
- Arung, E. T; Kusuma, I. W; Christy, E. O; Shimizu, K; & Kondo R. 2009. Evaluation of medicinal plants from Central Kalimantan for antimelanogenesis. *Journal of natural Medicines*, 63(4), 473-480.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modera Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan: Koesasih P, Soediro Iwang. Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia Penuntun Cara Modera Menganalisa Tumbuhan*. Terjemahan: Koesasih P, Soediro Iwang. Bandung: ITB.
- Hidayah, H; Rolan Rusli; Herman; Muhammad A.M. 2015. Potensi ekstrak daun kokang (*Lepisanthes amoena* (Haask) Leenh) sebagai obat luka. *Jurnal Sains dan Kesehatan Vol 1 No. 3*.
- Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Komariah, Nurul. 2013. *Isolasi Senyawa Aktif Antioksidan Dari Ekstrak Etil Asetat Herba kemangi (Ocimum Americanum L.)*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Program Studi Farmasi. UIN Syarif Hidayatullah. Jakarta.
- Kusuma IW, Arung ET, Rosamah E, Purwatiningsih S, Kuspradini H, Syafrizal, Astuti J, Kim YU, Shimizu K. 2010. Antidermatophyte and antimelanogenesis compound from *Eleutherine americana* groen in Indonesia. *J Nat Med* 64: 223-226.
- Nora, 1. 2011. Free Radical Scavenging Activity and Phenolic Content of *Ficus deltoidea* Accessions MFD4 and MFD6 Leaves. *Journal Tropical Agriculture and Food Science* 39(1):1-8.
- Riswan, Soedarsono; Roemantyo, Harini S. 2002. *Jamu as traditional medicine in java, indonesia*. *South Pacific Study Vol. 23, No. 1*. Diunduh: 16 Januari 2012.
- Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan tingkat Tinggi*. Penerbit ITB: Bandung.
- Roosita K, Kusharto, Sekiyama CM, Fachrurozi M, Othsuka Y. 2008. Medicinal Plants Used by the Villagers of a Sundanese Community in West Java, Indonesia. *J Ethnopharmacol* 115:72-81.