

# SKRINING FITOKIMIA DAN UJI TOKSISITAS EKSTRAK DAUN PECUT KUDA (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) TERHADAP LARVA UDANG *Artemia salina* Leach

Lany Indrayani, Hartati Soetjipto\*, dan Lydia Sihalale\*

Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga

## ABSTRACT

Phytochemical screening and Brine Shrimp lethality test of pecut kuda leaf extract had been done against *Artemia salina* Leach. The aims of this study is to screen potentially bioactive extract of pecut kuda leaf as an effort to find out the chemical substances responsible for the toxic effect. The Pecut kuda leaves (*Stachytarpheta jamaicensis*, L. Vahl) was extracted by methanol 80%, then partitioned successively with hexane, chloroform, and ethyl acetate. Phytochemical screening was done according to Ciulei method (1984). The toxicity effect was tested against *A. salina*, L (Brine Shrimp Test). The result of phytochemical screening known that compounds in the extract of pecut kuda leaves (*S. jamaicensis*, L. Vahl), hexane fraction contained of sterol and triterpenes; where the chloroform fraction contained of saponin, sterol, and triterpenes; further more the ethyl acetate fraction contained flavonoid, tannin, saponin, sterol, dan triterpenes. The result of the study shows that several fractions of extract of pecut kuda leaves (*S. jamaicensis*) hexane fraction, chloroform, and ethyl acetate was toxic because it was able to kill more than 50% larva of *A. salina*, L at the concentration less than 1000 ppm. The  $LC_{50}$  of all fractions of pecut kuda leaves extract (*S. jamaicensis*, L. Vahl) were shown from the most toxic to the lowest were as followed:  $LC_{50}$  of hexane fraction = 98.33 ppm, of chloroform fraction  $LC_{50}$  = 204.17 ppm, and of ethyl acetate fraction  $LC_{50}$  = 249.80 ppm. Finally results of the TLC profile showed that all fraction (hexane, chloroform, and ethyl acetate) indicated that the pecut kuda leaves extract (*S. jamaicensis*) contained terpenoid compound.

**Key words:** *S. jamaicensis*, BST, toksisitas, poeterweed, pecut kuda

## PENGANTAR

Kanker menempati peringkat tertinggi sebagai penyebab kematian di negara berkembang. Usaha penyembuhan dengan obat kanker umumnya masih relatif mahal dan memiliki efek samping yang besar. Hal tersebut mendorong dilakukannya pencarian sumber baru senyawa-senyawa toksik dari tanaman yang mungkin nantinya dapat ditingkatkan pemanfaatannya sebagai salah satu kandidat tumbuhan obat yang berkhasiat antikanker.

Sebagai salah satu negara tropis yang kaya sumber daya hayati, Indonesia memiliki  $\pm 30.000$  spesies tumbuhan, dan baru  $\pm 7000$  spesies di antaranya yang dikenal sebagai tumbuhan berkhasiat obat. Dengan kata lain masih banyak spesies tumbuhan di Indonesia yang belum dikenal manfaatnya, sehingga berpeluang untuk diteliti lebih lanjut.

Tumbuhan pecut kuda atau jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) dikenal sebagai salah satu tumbuhan obat yang digunakan oleh sebagian masyarakat Asia dan Amerika sebagai obat haid tidak teratur, hepatitis, maupun sakit tenggorokan. Namun demikian nampaknya tanaman ini belum populer secara umum sebagai tanaman obat bagi masyarakat di Indonesia. Bahkan pecut kuda lebih dikenal sebagai tumbuhan liar yang sering dijumpai di ladang-ladang yang tidak terawat. Dalam rangka mencari sumber

senyawa hayati baru sekaligus mencoba mengangkat tumbuhan yang belum memiliki nilai ekonomi maka pecut kuda dipilih sebagai bahan penelitian kali ini.

Beberapa hasil penelitian tumbuhan pecut kuda yang telah dilakukan sebelumnya adalah ekstrak kasar daun pecut kuda terbukti positif memiliki efek molusisidal terhadap hama padi keong mas (*Pomacea canaliculata*) dengan  $LC_{50}$  pada konsentrasi 0,89% pada pengamatan 24 jam, dan 0,52% pada pengamatan 48 jam (Lulan, 2002). Selain itu ekstrak kasar daun tumbuhan ini juga positif memiliki efek antibakteri yang kuat terhadap bakteri *Eschericia coli* dan *Bacillus subtilis* masing-masing pada dosis 20 mg (Cahyaningrum, 2003). Maka dari itu sebagai kelanjutan dari penelitian bioaktivitas pecut kuda, ingin diketahui efek toksisitasnya melalui uji *Brine Shrimp Lethality Test* (Uji BST). Berawal dari asumsi untuk membiarkan tumbuhan ini tetap hidup maka untuk penelitian selalu dipilih daun sebagai sampel yang diteliti, namun demikian tidak menutup kemungkinan untuk menggunakan bagian lain tumbuhan seperti akar maupun batangnya.

Metode pengujian BST dengan menggunakan *Artemia salina* dianggap memiliki korelasi dengan daya sitotoksik senyawa-senyawa antikanker, sehingga sering dilakukan untuk skrining awal pencarian senyawa antikanker. Metode ini dikenal sebagai metode yang cepat, mudah, murah, dan hasilnya dapat dipertanggungjawabkan (Meyer dkk.,

1982). Sifat sitotoksik dapat diketahui berdasarkan jumlah kematian larva pada konsentrasi tertentu. Suatu ekstrak dikatakan toksik jika memiliki nilai  $LC_{50}$  (Konsentrasi yang mampu membunuh 50% larva udang) kurang dari 1000  $\mu\text{g/ml}$  setelah waktu kontak 24 jam (Meyer, dkk., 1982)

## BAHAN DAN CARA KERJA

### Bahan

Tanaman pecut kuda (*S. jamaicensis* L. Vahl) diperoleh dari daerah Pabelan dan Blotongan Salatiga, bagian yang digunakan adalah daun. Bagian tersebut dikeringanginkan kemudian dihaluskan sampai menjadi serbuk. Untuk hewan uji yang digunakan adalah larva udang *A. salina*. Larva *A. salina* yang digunakan berasal dari telur *A. salina* yang telah dikeringkan bermerk Ocean Free yang dibeli dari Laboratorium Kimia UKSW.

Bahan-bahan kimia yang digunakan adalah metanol (80%) untuk maserasi, heksan, etil asetat, kloroform,  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , garam dapur, etanol, plat KLT, fosfomolibdat, asam asetat anhidrat,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat, 1,5–2% HCl, reagensia Dragendorff, reagensia Mayer, Amonia 10%,  $\text{FeCl}_3$ , dan akuades destilat.

### Cara Kerja

#### Ekstraksi

Dua ratus gram sampel (serbuk daun) dimaserasi selama 24 jam menggunakan pelarut metanol 80%, kemudian filtrat yang dihasilkan ditampung dan dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*. Selanjutnya hasil pemekatan dipartisi berturut-turut dengan menggunakan 3 pelarut yaitu, heksan, kloroform, dan etil asetat. Hasil dari partisi masing-masing fraksi heksan, kloroform, dan etil asetat digunakan untuk uji toksisitas dan skrining fitokimia.

#### Uji Larva Udang *Artemia salina* (Brine Shrimp Lethality Test)

Telur udang *A. salina* ditetaskan dalam wadah kaca berisi air laut buatan. Air laut buatan dibuat dengan melarutkan 20 gram garam dapur ke dalam 1 liter air kran, kemudian disaring dan diaerasi sehingga siap untuk digunakan untuk penetasan telur *A. salina*. Telur *A. salina* dimasukkan dalam air laut buatan yang telah diaerasi dan diberi penerangan dengan cahaya lampu. Setelah 48 jam telur akan menetas dan siap digunakan untuk uji toksisitas.

Sampel yang akan diuji dimasukkan ke dalam botol sampel berisi 5 ml air laut untuk masing-masing fraksi. Konsentrasi ekstrak yang akan digunakan dalam penelitian adalah 30, 60, 80, 120, 240, 480 ppm untuk fraksi heksan,

untuk fraksi kloroform adalah 120, 160, 240, 360, 480, 720 ppm, dan untuk fraksi etil asetat adalah 120, 240, 360, 480, 600, 720 ppm. Larutan uji dari masing-masing fraksi dimasukkan ke dalam botol uji sesuai dengan konsentrasi yang digunakan, kemudian dikeringkan dengan  $\text{N}_2$  sampai kering. Untuk fraksi heksan dan kloroform perlu ditambahkan aseton 0,05 ml pada botol yang telah diberi larutan uji yang kering untuk melarutkan ekstrak. Selanjutnya ditambahkan 3 ml air garam dengan konsentrasi 20 g/l ke dalam botol uji dan digojok. Dengan menggunakan pipet, 10 ekor larva *A. salina*, dimasukkan dalam botol uji dan volume air ditambahkan sehingga menjadi 5 ml. Botol-botol uji kemudian disimpan di tempat yang cukup cahaya. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva *A. salina* yang mati.

### Skrining Fitokimia

Fraksi-fraksi yang digunakan untuk skrining fitokimia adalah fraksi heksan, kloroform, etil asetat, dan metanol. Metode skrining yang digunakan berdasarkan metode Ciulei (1984).

#### Identifikasi Minyak Atsiri

Ekstrak daun pecut kuda diuapkan sampai kering, jika residu yang diperoleh berbau enak ditambah dengan etanol. Selanjutnya larutan alkoholik tersebut diuapkan kembali sampai kering, jika residu tetap berbau enak, menunjukkan ekstrak positif mengandung minyak atsiri.

#### Identifikasi Sterol dan triterpen

Ekstrak daun pecut kuda diuapkan sampai kering, kemudian residu yang dihasilkan dilarutkan dalam 0,5 ml kloroform, lalu ditambah dengan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Selanjutnya campuran ini ditetesi dengan 1–2 ml  $\text{H}_2\text{SO}_4$  pekat melalui dinding tabung tersebut. Jika hasil yang diperoleh berupa cincin kecoklatan atau violet pada perbatasan dua pelarut menunjukkan adanya triterpen, sedangkan munculnya warna hijau kebiruan menunjukkan adanya sterol.

#### Identifikasi Alkaloid

Ekstrak daun pecut kuda diuapkan sampai kering, kemudian residu ditambah 1,5–2% HCl dan larutan dibagi dalam tiga tabung. Tabung 1 larutan ditambah 0,5 ml larutan asam encer sebagai pembanding, tabung 2 ditambah 2–3 tetes reagensia Dragendorff, dan tabung 3 ditambah 2–3 tetes reagensia Mayer. Jika tabung 2 terbentuk endapan jingga dan pada tabung 3 terbentuk endapan kekuning-kuningan menunjukkan adanya alkaloid.

### Identifikasi Kumarin

Ekstrak daun pecut kuda diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam air panas, setelah dingin, larutan dibagi dalam 2 tabung reaksi, yaitu tabung 1 sebagai blanko, dan tabung 2 ditambah 0,5 ml  $\text{NH}_3$  10%. Adanya pijaran yang kuat di bawah sinar UV menunjukkan adanya kumarin dan turunannya.

### Identifikasi Flavonoid

Ekstrak daun pecut kuda diuapkan sampai kering, kemudian dilarutkan dalam 1–2 ml metanol panas 50%. Setelah itu ditambahkan logam Mg dan 4–5 tetes HCl pekat. Larutan berwarna merah atau jingga yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid.

### Identifikasi Tannin

Ekstrak daun pecut kuda dilarutkan dalam 1–2 ml air dan ditambahkan 2 tetes larutan  $\text{FeCl}_3$ , timbulnya warna biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin galat dan jika warnanya hijau kehitaman menunjukkan adanya senyawa tannin katekol.

### Identifikasi Saponin

Ekstrak kasar daun pecut kuda dalam tabung reaksi ditambah air (1 : 1) sambil dikocok selama 5 menit. Adanya

busa yang dapat bertahan selama 30 menit menunjukkan adanya senyawa saponin.

### Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Fraksi Aktif Ekstrak Daun Pecut Kuda

Analisis KLT dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT silika gel  $\text{F}_{254}$  (Merck) dengan fase gerak berupa campuran  $\text{CHCl}_3$  : MeOH : EtOAc (9 : 3 : 5)

### HASIL

Hasil skrining fitokimia ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis* L.) pada berbagai fraksi pelarut dapat dilihat pada Tabel 1, sedangkan hasil pengujian BST disajikan pada tabel 2, 3, 4, dan 5.

**Tabel 1.** Hasil skrining fitokimia ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*) pada berbagai fraksi pelarut

Uji	Fraksi			
	Heksan	Kloroform	Etil Asetat	Metanol
Minyak atsiri	-	-	-	-
Sterol dan triterpen	+	+	+	+
Alkaloid	-	-	-	-
Kumarin	-	-	+	+
Flavonoid	-	-	+	+
Tannin saponin	-	+	+	+

**Tabel 2.** Purata mortalitas *A. salina* (%  $\pm$  SE) antarberbagai konsentrasi ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*) fraksi heksan pada pengamatan jam ke-24

	Konsentrasi (ppm)						
	0	30	60	80	120	240	480
X $\pm$ SE	0 $\pm$ 0	28 $\pm$ 3,07	43,33 $\pm$ 4,76	45,33 $\pm$ 3,38	54 $\pm$ 2,88	78 $\pm$ 3,92	88 $\pm$ 1,88
W = 12,76	(a)	(b)	(c)	(c)	(cd)	(d)	(e)

**Tabel 3.** Purata mortalitas *A. salina* (%  $\pm$  SE) antarberbagai konsentrasi ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*) fraksi kloroform pada pengamatan jam ke-24

	Konsentrasi (ppm)						
	0	120	160	240	360	480	720
X $\pm$ SE	0 $\pm$ 0	37,33 $\pm$ 3,63	41,33 $\pm$ 2,91	56,67 $\pm$ 3,29	71,33 $\pm$ 3,38	76 $\pm$ 4,48	86 $\pm$ 2,31
w = 11,61	(a)	(b)	(b)	(c)	(d)	(de)	(e)

**Tabel 4.** Purata mortalitas *A. salina* (%  $\pm$  SE) antarberbagai konsentrasi ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*) fraksi etil asetat pada pengamatan jam ke-24

	Konsentrasi (ppm)						
	0	120	240	360	480	600	720
X $\pm$ SE	0 $\pm$ 0	27,33 $\pm$ 3,63	41,33 $\pm$ 3,38	44,67 $\pm$ 3,38	55,33 $\pm$ 2,91	79,33 $\pm$ 3,19	97,33 $\pm$ 2,08
w = 6,32	(a)	(b)	(c)	(c)	(d)	(e)	(f)

Keterangan: x: purata; w: Beda nyata jujur dengan tingkat kebermaknaan 5%

**Tabel 5.** Analisis probit persentase mortalitas *A. Salina* antarberbagai konsentrasi ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*)

Bagian tumbuhan	Fraksi	LC <sub>50</sub> (ppm)
Daun	Heksan	98,33
	Kloroform	204,17
	Etil asetat	249,80

## PEMBAHASAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa dari 200 g sampel daun pecut kuda (*S. jamaicensis* L.) diperoleh fraksi heksan sebesar 0,5942 g, fraksi kloroform 2,3048 g, dan fraksi etil asetat 1,7860 g. Hasil skrining fitokimia pada fraksi heksan hanya mengandung senyawa sterol dan triterpen; fraksi kloroform mengandung senyawa sterol, triterpen, dan saponin; fraksi etil asetat mengandung senyawa sterol, triterpen, flavonoid, tannin, dan saponin; dan fraksi metanol mengandung senyawa tannin, sterol, triterpen, dan saponin.

Hasil pengujian ekstrak daun pecut kuda pada berbagai konsentrasi terhadap *A. salina* dalam waktu pengamatan 24 jam menunjukkan bahwa fraksi heksan, kloroform, dan etil asetat memiliki daya toksik. Hal ini dapat dilihat dari adanya purata mortalitas *A. salina* pada setiap konsentrasi yang diujikan. Purata mortalitas dari berbagai konsentrasi dapat dilihat pada Tabel 2, 3, dan 4.

Purata mortalitas (% ± SE) larva *A. salina* dalam berbagai konsentrasi ekstrak kasar daun pecut kuda fraksi heksan pada Tabel 2 menunjukkan kisaran nilai purata mortalitas *A. salina* antara 0 ± 0% sampai 88 ± 1,88%. Untuk mortalitas 50% pada fraksi heksan tercapai pada konsentrasi antara 80 ppm sampai 120 ppm yaitu sebesar 45,33 ± 3,38% sampai 54 ± 2,88%. Hasil penelitian juga menunjukkan persentase kematian larva *A. salina* yang meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak

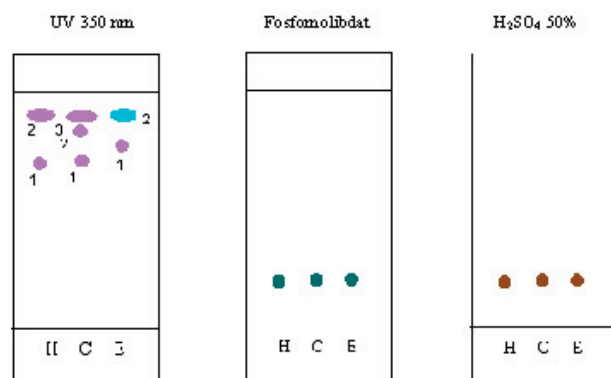
Dari Tabel 3 mortalitas 50% pada waktu pengamatan 24 jam dicapai pada konsentrasi antara 160 ppm sampai 240 ppm yaitu antara 41,33 ± 2,91% sampai 56,67 ± 3,29%. Tabel 3 juga menunjukkan peningkatan konsentrasi ekstrak yang digunakan dan persentase mortalitas dari larva *A. salina*.

Dari Tabel 4 pada fraksi etil asetat tampak mortalitas 50% pada waktu pengamatan 24 jam tercapai pada konsentrasi antara 240 ppm sampai 360 ppm. Telah lebih lanjut dari Tabel 2, 3, dan 4 menunjukkan bahwa di antara ketiga fraksi yang digunakan, fraksi heksan yang terlihat paling efektif karena 50% mortalitas dicapai pada konsentrasi yang relatif rendah bila dibanding dengan dua fraksi yang lainnya. Konsentrasi kematian larva *A. salina*

50% pada fraksi heksan berkisar antara 80 sampai 120 ppm, sedangkan untuk fraksi kloroform antara 160 sampai 240 ppm dan fraksi etil asetat berkisar antara 240 sampai 360 ppm. Tingginya efektivitas fraksi heksan ekstrak daun pecut kuda nampaknya berkaitan dengan senyawa sterol dan triterpen karena berdasarkan hasil skrining pada fraksi heksan hanya mengandung senyawa sterol dan triterpen. Senyawa sterol dan triterpen yang terdapat dalam daun pecut kuda adalah  $\alpha$ -spinasterol, stigmasterol, dan asam ursolat (Anonim, 2002)

Hasil analisis probit ekstrak daun pecut kuda terhadap larva *A. salina* disajikan dalam Tabel 5. Hasil penelitian menunjukkan bahwa di antara ketiga fraksi yang diuji, fraksi heksan memiliki nilai LC<sub>50</sub> yang relatif lebih kecil bila dibandingkan dengan kedua fraksi yang lain sehingga dapat dikatakan bahwa fraksi heksan bersifat paling toksik. Namun demikian bila dibandingkan dengan K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> dengan nilai LC<sub>50</sub> sebesar 20–40 ppm (Colgate *et al.*, 1993) sebagai kontrol positif, toksisitas fraksi heksan masih lebih lemah. Terlepas dari nilai LC<sub>50</sub> ekstrak daun pecut kuda untuk ketiga fraksi lebih lemah dibandingkan kontrol positif K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, namun demikian ketiga fraksi tersebut tetap dianggap bersifat toksik karena menurut Mayer (1982) suatu ekstrak dinyatakan toksik jika memiliki nilai LC<sub>50</sub> kurang dari 1000 ppm.

Hasil dari Kromatografi Lapis Tipis (KLT) fraksi aktif ekstrak daun pecut kuda dapat dilihat pada Gambar 1.



**Gambar 1.** profil kromatografi lapis tipis fraksi aktif ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*)

Keterangan: Fase gerak: CHCl<sub>3</sub> : MeOH : EtOAc (9 : 3 : 5); Fase diam: Silika gel F<sub>254</sub>; H: fraksi heksan, C: fraksi kloroform, E: fraksi etil asetat

Dari Gambar 1. terlihat hasil KLT dengan fase gerak CHCl<sub>3</sub> : MeOH : EtOAc (9 : 3 : 5) dengan visualisasi UV 350 nm nampak pada fraksi heksan muncul 2 spot yaitu H<sub>1</sub> dan H<sub>2</sub> yang berwarna merah muda, fraksi kloroform terdapat 3 spot yaitu C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> dan C<sub>3</sub> yang ketiganya berwarna

merah muda, untuk fraksi etil asetat hanya tampak 2 spot yaitu  $E_1$  yang berwarna merah muda dan  $E_2$  yang berwarna biru.

Hasil KLT setelah divisualisasi dengan reagen fosfomolibdat nampak 1 spot pada semua fraksi dan berwarna hijau kebiruan sedangkan spot yang tampak pada UV 350 nm tidak terdeteksi dengan menggunakan reagen fosfomolibdat. Sedangkan hasil KLT yang divisualisasi dengan reagen  $H_2SO_4$  50% kemudian dipanaskan pada suhu 100–110 °C selama 5 menit menunjukkan adanya spot yang sama pada setiap fraksi berwarna coklat muda. Menurut Stahl (1969), reagen fosfomolibdat dapat digunakan untuk deteksi senyawa terpenoid di mana warna yang dihasilkan adalah hijau kebiruan. Hasil KLT setelah visualisasi dengan reagen fosfomolibdat menunjukkan warna hijau kebiruan pada semua fraksi, sehingga diduga senyawa yang tampak adalah senyawa terpenoid. Menurut Harborne (1987) reagen  $H_2SO_4$  50% biasanya digunakan untuk mendeteksi adanya senyawa terpenoid yang ditunjukkan dengan warna berupa bercak hijau, **coklat**, kuning, merah atau biru. Berdasarkan data di atas nampaknya penggunaan reagen  $H_2SO_4$  50% memperkuat asumsi bahwa bercak senyawa yang terdeteksi adalah golongan terpenoid.

Dari hasil penelitian di atas dapat disimpulkan bahwa skrining fitokimia ekstrak daun pecut kuda (*S. jamaicensis*) fraksi heksan hanya mengandung senyawa sterol dan triterpen; fraksi kloroform mengandung senyawa saponin, sterol, dan triterpen; fraksi etil asetat mengandung senyawa flavonoid, saponin, tannin, sterol dan triterpen; sedangkan fraksi metanol mengandung tannin, saponin, sterol, dan triterpen. Hasil uji BST menunjukkan ekstrak daun pecut kuda

pada berbagai fraksi pelarut bersifat toksik menurut metode BST. Nilai  $LC_{50}$  berbagai fraksi pada ekstrak daun pecut kuda berturut-turut adalah: fraksi heksan  $LC_{50} = 98,33$  ppm, fraksi kloroform  $LC_{50} = 204,17$  ppm, dan fraksi etil asetat  $LC_{50} = 249,80$ . Berdasarkan hasil KLT fraksi aktif ekstrak daun pecut kuda fraksi heksan, kloroform, dan etil asetat, diduga mengandung senyawa terpenoid.

## KEPUSTAKAAN

- Anonim, 2002. Stachytarpheta. <http://www.rain-tree.com/gervao.htm>.
- Cahyaningrum DI, 2003. Pemisahan Senyawa Antibakteri yang terdapat dalam Fraksi Etil asetat Ekstrak daun Pecut Kuda (*Stachytarpheta jamaicensis* L. Vahl) Skripsi. Fakultas Sains dan Matematika Jurusan Kimia. Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga.
- Ciulei J, 1984. Metodologi for Analisis of Vegetables and Drugs. Faculty of Pharmacy, Bucharest Rumania, 11–26.
- Colgate, Steven M, and Russel JM, 1993. *Bioactive Natural Products*, CRC Press. USA.
- Harborne JB, 1987. *Metode Fitokimia Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. ITB, Bandung.
- Lulan JKT, 2002. Efek Moluscisida Ekstrak Kasar Tumbuhan Jarong (*Stachytarpheta jamaicensis* L.) terhadap Keong Mas (*Pomacea canaliculata*). Skripsi Fakultas Sains dan Matematika Jurusan Kimia. Universitas Kristen Satya Wacana, Salatiga.
- Meyer BN, Ferigni NR, Putnam JE, Ja Cobsen LB, Nichols DE, dan McLaughlin JL, 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent. *Planta Medica*, 45, 31–45.
- Stahl E, 1969. Thin-Layer Chromatography, Toppan Company Limited, Tokyo-Japan.