

EKSTRAK TERSTANDAR SECARA KIMIA DAUN *Brucea javanica* Merrill

Marissa Angelina¹, Abdul Mun'im², M. Hanafi¹

¹Pusat Penelitian Kimia, LIPI ,Kawasan Puspitek, Tangerang 15314

²Departemen Farmasi, FMIPA UI, Kampus Depok

E-mail : marissa_angelina@yahoo.com

Diterima : 12 Mei 2011; Disetujui : 15 Juni 2011

ABSTRAK

Penyediaan daun Brucea telah dilakukan melalui pengujian parameter spesifik dan parameter non spesifik yang mengacu pada Badan Pengawas Obat dan Makanan Indonesia tentang regulasi kontrol kualitas ekstrak. Hasil dari penetapan parameter spesifik ekstrak yaitu rendemen ekstraksi sebesar 28%. Kadar senyawa terlarut dalam air dan dalam etanol berturut-turut sebesar 11,49% dan 9,41%. Hasil penentuan parameter non spesifik ekstrak yaitu susut pengeringan 18,95%, kadar air 15,06%, kadar abu total 16,12% dan kadar abu yang tidak terlarut dalam asam sebesar 11,14%. Analisis kandungan senyawa kimia, menunjukkan bahwa ekstrak mengandung flavonoid, tannin, glikosida, dan alkaloid. Untuk penetapan kuantitatif dilakukan pengukuran kadar flavonoid total sebesar 9,901%.

Kata kunci: Penyedian, Brucea, Parameter spesifik, Parameter non spesifik, Ekstrak

ABSTRACT

The preparation of Brucea leaves have been done for specific parameters and non specific parameter laboratory works refers to The National Agency of Drug and Food Control Regulation for extract quality control. The result for specific extract parameters were the rendement of extraction is 28%, the values of water-extractive and ethanol-extractive are 11.49% and 9.41%, respectively. The result of determination of the non specific parameters of the extract are; loss on drying is 18.95%, the water content is 15.06%, the total ashes is 16.12%, and the level of ashes not dissolved in acid is 11.14%. The analysis of

chemical compound shows that the extract contained flavonoid, tannin, and glycoside. For the quantitative control has been measured the level of total flavonoid where the result is 9.901%

Keywords : Preparation, Brucea, Specific parameter, non specific parameter, extract

PENDAHULUAN

Dalam menanggapi perkembangan bentuk bahan dan produk ekstrak, pemerintah perlu mengambil kebijakan baru dalam aspek pembinaan dan pengawasan. Ekstrak sebagai bahan kefarmasian harus memenuhi persyaratan yang telah ditetapkan. Untuk itu diperlukan suatu standardisasi yang tidak lain adalah serangkaian prosedur dan cara pengukuran yang parameter hasilnya merupakan unsur-unsur yang terkait dengan konsep mutu kefarmasian, mutu dalam artian memenuhi standar kimia dan biologis sekaligus jaminan stabilitas produk kefarmasian umumnya⁽¹⁾.

Ekstrak sebagai bahan dan produk dibuat dari simplisia. Simplisia yang merupakan produk hasil pertanian tentu saja kandungan kimianya tidak dapat dijamin keajegannya, karena adanya keragaman bahan, tempat tumbuh, iklim, kondisi waktu panen, serta proses pasca panen yang meliputi tahap pengeringan dan penyimpanan. Terpenuhinya standar mutu produk atau bahan ekstrak tidak terlepas dari pengendalian proses, artinya bahwa proses yang terstandar dapat menjamin produk yang terstandar. Inilah hal yang sementara ini banyak dilakukan, yaitu dengan menggunakan bahan baku terstandar dan proses yang terstandar, maka akan diperoleh

produk/bahan yang terstandar. Persyaratan mutu ekstrak terdiri dari berbagai parameter standar spesifik dan parameter standar non spesifik yang diterapkan oleh pemerintah dalam hal ini Badan POM.⁽¹⁾ Dari hasil rapat kerja penyusunan parameter standar umum ekstrak, parameternya meliputi: berat kering dan berat jenis, kadar air, kadar abu, sisa pelarut, residu pestisida, uji batas logam berat, cemaran mikroba, sari larut dalam pelarut tertentu, kadar terlarut dengan spektrofotometer, sidik jari kromatogram, kadar total golongan zat kandungan dan kadar zat aktif atau zat identitas⁽¹⁾. Sebagian besar pemanfaatan tanaman *Brucea javanica* di beberapa daerah di nusantara adalah untuk pengobatan disentri, luka, dan kanker⁽²⁾. Telah dilaporkan juga bahwa senyawa aktif Brusatol yang terdapat didalam tanaman Brucea merupakan senyawa aktif untuk pengobatan disentri^(2,3). Bruceantin dan Brucein C merupakan senyawa aktif didalam tanaman Brucea yang bersifat amubasida⁽⁴⁾ Bruceantin dan Brucein C yang merupakan golongan senyawa quassinoïd juga mempunyai aktivitas sebagai anti bakteri. Dalam rangka peningkatan produk bahan obat tradisional maka perlu dilakukan penetapan parameter spesifik dan non spesifik ekstrak daun *Brucea javanica*, sehingga bahan baku ekstrak daun *Brucea javanica* untuk pembuatan obat fitoterapi/fitofarmaka dapat terjamin kualitasnya.

BAHAN DAN METODA

Bahan

Daun *Brucea javanica* Merril yang diperoleh dari Balitro Bogor dan dideterminasi di Herbarium Pusat Penelitian Biologi LIPI, Etanol, Lempeng KLT, asam pikrat, formalin, Dragendorf LP, Bouchardat LP, logam Zn, logam Mg, Mollisch LP, Asam klorida P, Asam sulfat P, Alumunium (III) klorida, kuersetin standar.

Alat

Alat-alat gelas (Pyrex), evaporator (Bucher) bejana KLT (Pyrex), spektrofotometer (Shimadzu)

Cara Kerja

Penyiapan bahan dan pembuatan ekstrak

Daun kering *B. javanica* sebanyak 2,5 kg diperoleh dari Balai Tanaman Obat Tradisional

Bogor. Daun dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70 %, selama 7 hari. Ekstrak pekat dikeringkan di oven vakum sehingga diperoleh ekstrak kental.

Penetapan parameter spesifik ekstrak⁽¹⁾

Kadar senyawa yang larut dalam air

Sejumlah 5,0 gr ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air-kloroform LP (2,5 mL kloroform dalam air suling hingga 1000 mL) menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat disaring dan filtrat diuapkan. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.

Kadar senyawa yang larut dalam etanol

Sejumlah 5,0 gr ekstrak dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95% P menggunakan labu bersumbat sambil berkali-kali dikocok selama 6 jam pertama dan kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat disaring dan diuapkan. Residu dipanaskan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.

Kromatografi lapis tipis

Ekstrak etanol dipartisi dengan menggunakan etil asetat. Kemudian fraksi yang telah dipekatkan dilarutkan dalam etanol sebagai larutan uji. Larutan uji ditotolkan pada lempeng KLT, kemudian dielusi dengan berbagai jenis kombinasi fase gerak yang sesuai.

Penetapan kadar flavonoid

Penetapan kadar flavonoid pada ekstrak berdasarkan dengan metode⁽⁶⁾. Fraksi air yang sudah dikentalkan ditimbang seksama lebih kurang 1 gram lalu dihidrolisis dengan HCl 4 N selama 30 menit, lalu larutan disaring. Ekstrak kemudian disari dengan dengan 15 mL etil asetat sebanyak 3 kali, fraksi etil asetat dikumpulkan dan dipekatkan. Hasil ekstrak etil asetat dimasukkan ke dalam labu bersumbat 25 mL dilarutkan dengan metanol. Larutan tersebut sebagai larutan uji. Larutan uji dipipet 0,5 mL lalu dilarutkan dengan metanol 1,5 mL pada tabung reaksi, kemudian tambahkan pereaksi yang terdiri dari 0,1 mL AlCl₃ 10 % (b/v); 0,1 mL Na asetat 1 M ; 2,8 mL aquadest, larutan dicampur hingga homogen dan diinkubasi pada

suhu kamar selama 30 menit. Selanjutnya larutan diukur serapannya pada alat spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 415 nm. Kandungan flavonoid total dinyatakan dengan kesetaraan pembanding kuersetin. Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan menggunakan pembanding kuersetin.

Penetapan parameter non spesifik

Susut pengeringan

Ekstrak ditimbang secara seksama sebanyak 1 gram. Kemudian dimasukkan ke dalam oven, tutup dibuka dan dikeringkan pada suhu 105°C hingga bobot tetap.⁽¹⁾

Kadar air

Timbang seksama 10 g ekstrak. Pengeringan dilanjutkan dan ditimbang setiap 1 jam sampai perbedaan antara 2 penimbangan tidak boleh lebih dari 0,25%.⁽¹⁾

Kadar abu

Penetapan kadar abu total

2 g ekstrak dimasukkan ke dalam krus silikat yang telah dipijar dan ditara, lalu diratakan. Kemudian dipijarkan perlahan-lahan hingga arang habis, dinginkan, dan ditimbang. Jika arang tidak dapat dihilangkan, ditambahkan air panas, dan disaring dengan kertas saring bebas abu. Sisa kertas dan kertas saring dipijarkan dalam krus yang sama. Filtrat dimasukkan ke dalam krus, diuapkan, dipijarkan hingga bobot tetap, dan ditimbang. Kadar abu dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara⁽¹⁾.

Penetapan kadar abu yang tidak larut dalam asam.

Abu yang diperoleh pada penetapan kadar abu, dididihkan dengan 25 mL asam sulfat encer selama 5 menit, bagian yang tidak larut dalam asam dikumpulkan, disaring dengan krus kaca masir atau kertas saring bebas abu, cuci dengan air panas, dan dipijarkan hingga bobot tetap, kemudian timbang. Kadar abu yang tidak larut dalam asam dihitung terhadap bahan yang telah dikeringkan di udara⁽¹⁾.

Uji kandungan kimia ekstrak

Identifikasi alkaloid

Sebanyak 500 mg ekstrak ditambahkan 1 mL asam klorida 2 N dan 9 mL air, dipanaskan. filtrat dibagi menjadi tiga bagian pada kaca arloji dan ke dalam masing-masing ditambahkan berturut-turut pereaksi Mayer LP, Bouchardat LP, pereaksi Dragendorff LP⁽¹⁾.

Identifikasi saponin

Sebanyak 0,5 g ekstrak dalam tabung reaksi ditambahkan 10 mL air panas, didinginkan, dan kemudian dikocok kuat-kuat selama 10 detik.⁽¹⁾

Identifikasi flavonoid

Lebih kurang 2 g ekstrak diuapkan di atas penangas air, sisanya dilarutkan dalam 1-2 mL etanol, ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 mL asam klorida, ditambahkan 0,5 g serbuk seng P dan 2 mL asam klorida 2 N, lalu didiamkan selama 1 menit. Kemudian ditambahkan 10 tetes asam klorida pekat P⁽¹⁾.

Identifikasi tanin

Lebih kurang 200 mg ekstrak diencerkan dengan 20 mL air suling panas lalu dikocok homogen, setelah dingin disentrifugasi dan cairan diatasnya didekantasi. Kemudian ditambahkan 5 tetes larutan natrium klorida 10% dan disaring. Filtrat dibagi menjadi 2 bagian, yang pertama ditambahkan larutan besi (III) klorida 3%, bagian 2 ditambahkan dengan pereaksi timbal asetat⁽⁷⁾.

Identifikasi glikosida

Lebih kurang 200 mg ekstrak yang dilarutkan dalam 2 mL metanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Sisa ditambahkan 2 mL air dan 5 tetes pereaksi Mollisch LP, lalu ditambahkan secara hati-hati 2 mL asam sulfat P.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Dari proses ekstraksi 2,5 kg daun kering *B. javanica* dengan pelarut etanol yang kemudian dievaporasi dengan *rotary evapor*, diperoleh ekstrak kental sebanyak 647 g, sehingga rendemennya diperoleh sebesar 26%. Penetapan kadar senyawa terlarut dalam pelarut tertentu yang dilakukan terhadap ekstrak menunjukkan bahwa kadar senyawa larut dalam air adalah 11,49 %

(Tabel 1) lebih tinggi dibandingkan senyawa larut dalam etanol yaitu 9,41 % (Tabel 2). Walaupun air dan etanol sama-sama pelarut polar tetapi kepolaran air lebih tinggi dibandingkan etanol. Dengan persentase lebih tinggi kelarutan pada air, menunjukkan bahwa kadar senyawa yang tinggi pada fase yang lebih polar.

Tabel 1. Kadar senyawa pada ekstrak daun *B. javanica* yang larut dalam air

Kode ekstrak	Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Berat ekstrak akhir dalam air rata-rata (%)	Kadar Senyawa dalam air rata-rata (%)
1	5.0132	0.557	11.51	11.49
2	5.1012	0.5733	11.24	
3	5.0955	0.5972	11.72	

Tabel 2. Kadar senyawa pada ekstrak daun *B. javanica* yang larut dalam etanol

Kode ekstrak	Berat ekstrak awal (g)	Berat ekstrak akhir (g)	Kadar Senyawa larut dalam etanol (%)	Kadar Senyawa dalam etanol rata-rata (%)
1	5.0629	0.4774	9.43	9.41
2	5.0179	0.4657	9.28	
3	5.0354	0.4789	9.51	

Untuk penetapan parameter spesifik secara kuantitatif dilakukan juga pengukuran kadar flavonoid dalam ekstrak. Pada pengujian ini digunakan kuersetin sebagai flavonoid pembanding. Dibuat kurva kalibrasi dari berbagai konsentrasi kuersetin sehingga diperoleh persamaan kurva kalibrasi $y=67,414x-2,7038$ dengan $R^2 = 0,9948$. Dari persamaan kurva kalibrasi yang diperoleh dapat ditetapkan kadar flavonoid dalam ekstrak berdasarkan nilai absorbansi ekstrak. Diperoleh kadar flavonoid dalam ekstrak adalah 9,901%. Hal ini sesuai dengan penelitian sebelumnya yang menyebutkan bahwa ekstrak daun *B. javanica* mengandung senyawa flavonoid⁽⁹⁾.

Dilakukan juga identifikasi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT

mempunyai keuntungan dibanding metode lain yaitu, untuk pemisahan yang spesifik memerlukan pelarut yang paling sedikit. Kepolaran dari pelarut atau tipe campuran pelarut dapat diubah dalam beberapa menit. Karena pengembangan yang cepat dan mudah dari fase gerak, KLT mungkin merupakan metode kromatografi yang paling mudah untuk senyawa yang spesifik⁽¹⁰⁾. KLT menggunakan pelat dengan fase diam silika gel 60 F254 (Merck), fase diam yang banyak digunakan karena merupakan fase diam yang paling aktif dengan kemampuan pemisahan yang cukup baik. Pengembang yang digunakan yaitu dicoba dengan kombinasi pelarut polar dan lebih non polar, kemudian persentasenya fase polar dinaikkan atau diturunkan tergantung dari hasil kromatogram yang dapat menunjukkan pemisahan yang lebih baik.

Dari percobaan dalam menentukan profil kromatogram ekstrak, maka dibuat beberapa perbandingan fase gerak yang berbeda. Dimulai dengan perbandingan heksan : etil asetat = 6:4, heksan:etil asetat = 4 : 6 dan etil asetat 100%. Dari gambar kromatogram diperoleh bahwa profil terbaik ditunjukkan oleh kromatogram dengan fase gerak etil asetat 100%. Hasil hRf dapat dilihat pada Tabel 3.

Tabel 3. Tabel Ukuran hRf bercak pada kromatogram

	(nm)	hRf	Warna
a	366	82	Merah
b	366	70	Biru
c	366	52	Biru
d	366	33	Merah
e	366	12	Merah

Parameter susut pengeringan dilakukan bertujuan untuk melihat batasan maksimal hilangnya senyawa pada proses pengeringan yang dilakukan pada suhu 105°C selama 30 menit hingga diperoleh bobot konstan. Dalam hal khusus (jika bahan tidak mengandung minyak menguap/atsiri dan sisa pelarut organik menguap) susut pengeringan dapat dikatakan identik dengan kadar air, yaitu kandungan air karena berada di atmosfer lingkungan udara terbuka. Makin tinggi susut pengeringan maka makin sulit memperoleh

ekstrak dalam bentuk kering. Penetapan kadar air bertujuan untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air didalam ekstrak. Air dapat berasal dari kandungan simplisia atau juga dapat berasal dari penyerapan uap air dari udara baik pada waktu penyimpanan simplisia maupun ekstrak. Kadar air ekstrak daun *B.javanica* adalah 15,06% (Tabel 5), dimana persentase susut pengeringan lebih tinggi yaitu 18,95% (Tabel 4). Hal ini bisa disebabkan adanya kandungan minyak atsiri dan sisa pelarut organik yang menguap dalam ekstrak⁽⁹⁾.

Tabel 4. Susut Pengeringan Ekstrak Daun *B.javanica*

Kode ekstrak	Berat ekstrak awal (g)	Berat abu (g)	Kadar abu tidak larut	Kadar abu rata-rata (%)
1	4.0244	0.7524	18.69	18.95
2	4.0263	0.7888	19.59	
3	4.0102	0.7452	18.58	

Tabel 5. Kadar Air Ekstrak Daun *B.javanica*

Kode ekstrak	Berat ekstrak awal (g)	Berat abu (g)	Kadar abu tidak larut	Kadar abu rata-rata (%)
1	1.0032	0.1528	15.23	15.06
2	1.0095	0.1582	15.67	
3	1.0049	0.1435	14.28	

Kadar abu total rata-rata ekstrak yang diperoleh dari percobaan yaitu 16,2% (Tabel 6), sedangkan kadar abu yang tidak larut asam 11,14 % (Tabel 7). Hal ini memberikan gambaran kandungan mineral internal dalam simplisia maupun eksternal yang berasal dari awal pengambilan simplisia sampai diolah menjadi ekstrak. Kandungan mineral eksternal bisa berasal dari pencemaran polusi udara dari lingkungan yang terserap oleh tanaman. Selain itu kontaminasi selama proses pembuatan ekstrak juga dapat menjadi sebab tingginya kadar abu ekstrak.

Tabel 6. Kadar Abu Total Ekstrak Daun *B.javanica*

Kode ekstrak	Berat ekstrak awal (g)	Berat abu (g)	Kadar abu tidak larut	Kadar abu rata-rata (%)
1	2.0717	0.3781	18.25	16.12
2	2.0807	0.2897	15.68	
3	2.061	0.2977	14.44	

Tabel 7. Kadar Abu Tidak Larut dalam Asam Ekstrak Daun *B.javanica*

Kode ekstrak	Berat ekstrak awal (g)	Berat abu (g)	Kadar abu tidak larut	Kadar abu rata-rata (%)
1	2.0717	0.2178	10.51	11.14
2	2.0807	0.2338	11.24	
3	2.061	0.2404	11.66	

Dari uji kandungan kimia ekstrak diketahui bahwa ekstrak positif mengandung flavonoid, glikosida, dan tannin. Ekstrak negatif tidak mengandung alkaloid dan saponin.

Alkaloid adalah senyawa yang bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen, yang biasanya sebagai bagian dari sistem siklik⁽⁹⁾. Senyawa ini didalam tumbuhan biasanya dalam bentuk garam berbagai asam organik. Alkaloid dan dalam bentuk garamnya merupakan senyawa padat yang kebanyakan berbentuk kristal tidak berwarna. Cara mengekstraksi alkaloid bahan tumbuhan menggunakan air yang diasamkan, sehingga melarutkan alkaloid sebagai garam⁽¹⁰⁾. Setelah itu dilakukan pemanasan dengan tujuan untuk meningkatkan energi kinetik dari masing-masing molekul sehingga reaksi penarikan alkaloid akan berlangsung cepat dan sempurna. Filtrasi dilakukan untuk menghilangkan senyawa selain alkaloid yang bisa mengendap. Setelah filtrat diperoleh, dilakukan identifikasi untuk menentukan adanya alkaloid. Preaksi alkaloid yang digunakan adalah preaksi Mayer, Bouchardat, dan Dragendorf. Hasil setelah filtrat direaksikan dengan preaksi Mayer memberikan hasil negatif, dimana tidak

terbentuk endapan putih⁽⁵⁾. Dengan pereaksi Dragendorf juga tidak terbentuk endapan merah bata. Begitu juga dengan pereaksi Bouchardat juga tidak terbentuk endapan yang apabila positif terbentuk endapan coklat kehitaman. Dari hasil diatas, diketahui bahwa daun tidak mengandung alkaloid. Hal ini berbeda dengan literatur⁽¹¹⁾ yang menyebutkan bahwa biji dari tanaman *Brucea javanica* mengandung alkaloid. Identifikasi flavonoid dilakukan dengan menguapkan ekstrak kering kemudian ditambahkan etanol 95% yang berfungsi sebagai media reaksi sehingga reaksi dapat berjalan dengan baik. Kemudian ditambahkan seng (Zn) dan asam klorida 2N didiamkan, lalu ditambah asam klorida pekat, muncul warna jingga intensif yang menunjukkan adanya glikosida-3-flavonol. Identifikasi juga dilakukan dengan menguapkan ekstrak yang kemudian ditambah etanol 95%, yang kemudian ditambah serbuk Mg dan asam klorida pekat, terbentuk warna merah jingga yang menunjukkan adanya flavonoid. Untuk mengidentifikasi adanya tanin dilakukan penambahan larutan feri klorida 3% yang juga merupakan pereaksi untuk identifikasi fenol, dimana ketika ditambah larutan feri klorida 3 % akan terbentuk kompleks yang berwarna. Tanin merupakan bagian dari senyawa fenol sehingga akan bereaksi dengan dengan adanya feri klorida membentuk kompleks yang berwarna. Dari warna yang dihasilkan tanin dapat dibedakan menjadi dua, menghasilkan endapan berwarna yaitu tanin galat dan tanin katekol⁽⁹⁾. Tanin galat memberikan warna hijau atau biru kecoklatan, sedangkan tanin katekol memberikan warna biru sampai hijau kehitaman⁽⁵⁾. Dari hasil percobaan yang menunjukkan warna hijau kehitaman menunjukkan kemungkinan adanya tanin katekol dalam ekstrak. Identifikasi tanin juga dilakukan dengan penambahan timbal asetat pada larutan ekstrak, hasil positif terlihat dari terbentuknya endapan putih. Saponin dalam air membentuk larutan koloidal dan bila dikocok berbusa. Dari percobaan dengan ekstrak tidak terbentuk busa pada saat pengocokan yang menunjukkan ekstrak tidak mengandung saponin. Hal ini sesuai dengan literatur sebelumnya bahwa daun *B.javanica* tidak mengandung saponin⁽¹¹⁾. Untuk identifikasi glikosida menunjukkan hasil yang positif ketika digunakan pereaksi Molisch

LP dan asam sulfat pekat. Dimana terbentuknya cincin ungu pada batas lapisan cairan. Dalam hal ini, disakarida, trisakarida, dan polisakarida akan dihidrolisis menjadi monosakarida. Selanjutnya, monosakarida akan mengalami dehidrasi. Akibatnya pentosa akan diubah menjadi furfural dan heksosa diubah menjadi hidroksi metil furfural. Dengan penambahan α-naftol, zat tersebut memberikan warna pink sampai violet yang menunjukkan adanya karbohidrat.

KESIMPULAN

1. Dari penetapan parameter spesifik diperoleh rendemen ekstrak sebesar 28%, Kadar senyawa larut air dan etanol berturut-turut 11,49 % dan 9,41 %. Kadar flavonoid dalam ekstrak 9,901%.
2. Dari penetapan parameter non spesifik diperolehkan susut pengeringan 18,95%, kadar air 15,06 %, kadar abu 16,12 %, dan kadar abu tidak larut dalam asam 11,14 %.
3. Kandungan kimia ekstrak mengandung flavonoid, tannin, dan glikosida.

UCAPAN TERIMA KASIH

Saudari Megawati S.Si, atas bantuannya dalam preparasi ekstrak dan Proyek DIPA LIPI Tahun 2009 yang telah membiayai proyek ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Anonim. *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan. Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. Jakarta. 2000
2. Anonim. *WHO regional publications Western pacific series No. 3 Medicinal plants in Vietnam*: Hanoi. 1990
3. S. Kumala.,et.al. . *Cytotoxic secondary metabolites from fermentation broth of Brucea javanica endophytic fungus 1.2.11.* J.of Micro 2(8) 661-65 (2007)
4. Materia Medika Indonesia Jilid I Departemen Kesehatan, Republik Indonesia, Jakarta.1997

5. Anonim, Quality control methods for medicinal plant material. Geneva. World Health Organization. 1998
 6. Chang et.al. *Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric method.* J. of Food and Drug An., Vol 10, No 3, 178-182 (2002)
 7. W.C. Evans.,. *Trease & Evans Pharmacognosy*, 15th ed., W.B. Saunders.2002
 8. W. Tang., G. Elsenbrand . Chinese drug of plant origin chemistry ,Pharmacology, and in use in traditional and modern medicine Berlin Springer Verlag, 207-222 (1992)
 9. Touchstone & Dobbins. *Practice of thin layer Chromatography* 2nd John Wiley and Sons. England.1983
 10. Harborne. *Metode fitokimia penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Penerbit ITB. Bandung. 1987
 11. S. Annaria., Identifikasi Senyawa Organik Bahan Alam pada Daun Melur (*Brucea javanica* (L) Mess), Artikel Kimia. Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam. Universitas Negeri Padang.2010
 12. Pan Li, et.al. *Bioactivity-guided isolation of Cytotoxic Constituent of Brucea javanica collected in Vietnam.* Bio. Med. Chem. 17: 2219-2224 (2009)