

**PENETAPAN KADAR TANIN DAUN RAMBUTAN (*Nephelium lappaceum.L*)
SECARA SPEKTROFOTOMETRI ULTRAVIOLET VISIBEL**

Dewi Andriyani, Pri Iswati Utami, Binar Asrining Dhiani

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Purwokerto
utami_pie@yahoo.co.id

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian penetapan kadar tanin pada daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) dengan metode spektrofotometri ultraviolet visibel. Penetapan kadar dilakukan untuk mengetahui jumlah kadar yang terkandung dalam daun rambutan. Metode yang digunakan untuk penyarian simplisia adalah metode maserasi. Ekstrak yang sudah didapat kemudian diencerkan, ditambahkan reagen Folin Denis dan Natrium Karbonat anhidrat, setelah itu dibaca pada panjang gelombang maksimum dan pada saat *operating time* tercapai. Reaksi pembentukan yang terjadi adalah reduksi oksidasi dimana tanin sebagai reduktor dan folin Denis sebagai oksidator. Hasil oksidasi akan membentuk warna biru yang dapat dibaca panjang gelombang maksimal. Hasil perhitungan rata-rata kadar pada daun rambutan muda adalah 6.25% dengan SD sebesar 0.08327 dan KV sebesar 1.3%. Kadar rata-rata daun rambutan tua adalah 6.62%, dengan SD sebesar 0.02309%. dan KV 0.35%. Hasil uji t menunjukkan bahwa kadar tanin daun rambutan dengan variasi umur mempunyai perbedaan kadar yang signifikan.

Kata Kunci: Tanin, Daun Rambutan, Spektrofotometri Ultraviolet visibel

ABSTRACT

*A research on determination of tannin in rambutan leaf (*Nephelium lappaceum*) by the ultraviolet visible spectrophotometry method has been done. Determination was done to investigate the tannin content in rambutan leaf. Extraction method used in this research was maceration method. Extract was added by reagent Folin Denis and Natrium Carbonate anhydrate and subsequently read at particular maximum wavelength and operating time. Forming reaction that happened was oxidize reduction where tannin as reducer and folin Denis as oxidator. Result of oxidation formed blue color which could be read maximal wavelength. Result of the mean of tannin content in young rambutan leaf was 6.25 % with SD equal to 0.08327 and CV equal to 1.3 %. The mean of tannin content old rambutan leaf, SD, and CV was 6.62%, 0.02309% and CV 0.35%, respectively. T-test showed that there were differences of tannin content in young and old rambutan leaves.*

Keywords: Tannin, Rambutan Leaf, Ultraviolet visible spectrophotometry.

Pendahuluan

Banyak jenis tanaman yang dapat tumbuh di Indonesia yang sebagian besar dapat digunakan sebagai sumber bahan obat alam dan telah banyak digunakan oleh masyarakat secara turun temurun untuk keperluan pengobatan guna mengatasi masalah kesehatan. Obat tradisional tersebut perlu diteliti dan dikembangkan sehingga dapat bermanfaat secara optimal untuk peningkatan kesehatan masyarakat (Tjokronegoro dan Baziad, 1992).

Rambutan (*Nephelium lappaceum L*) merupakan tanaman buah hortikultura berupa pohon dengan famili sapindaceae. Selain enak dimakan, rambutan juga memiliki sejumlah khasiat bagi kesehatan. Berbagai referensi menyebutkan, khasiat rambutan yang baik untuk kesehatan tidak lepas dari kandungan kimia di dalamnya. Salah satu bagian dari tanaman rambutan yang dapat berguna untuk kesehatan adalah daun rambutan. Daun rambutan mengandung tanin dan saponin (Dalimartha, 2007).

Tanin merupakan kelompok besar dari senyawa kompleks yang didistribusikan merata pada berbagai

tanaman. Hampir setiap famili tanaman mempunyai spesies yang mengandung tanin. Tanin biasanya terdapat pada bagian tanaman yang spesifik seperti daun, buah, kulit dahan dan batang. Tanin adalah polifenol tanaman yang berfungsi mengikat dan mengendapkan protein. Tanin juga dipakai untuk menyamak kulit (Harborne, 1987). Dalam dunia pengobatan, tanin berfungsi untuk mengobati diare, menghentikan pendarahan, dan mengobati ambeien.

Penetapan kadar tanin dapat dilakukan dengan metode spektrofotometri ultraviolet visibel. Untuk dapat dibaca serapannya pada daerah panjang gelombang ultraviolet visibel maka tanin harus direaksikan dengan reagen pembentuk warna, yaitu folin denis. Pembentukan warnanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor. Folin denis sebagai oksidator, tanin yang teroksidasi akan mengubah fosmolibdat dalam folin denis menjadi fosmolibdenim yang berwarna biru yang dapat menyerap sinar pada daerah panjang gelombang ultraviolet visibel.

Metode Penelitian

Tempat Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Kimia Analisis Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan Yogyakarta.

Bahan dan Alat Penelitian

Daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) muda dan tua yang diperoleh dari Badan Pemeliharaan Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu, Asam tanat p.a. (E Merck), Folin Denis p.a (E Merck), Natrium karbonat anhidrat p.a (E Merck), gelatin LP, FeCl₃ LP, NaCl 2%, H₂SO₄ encer p.a (E Merck), akuades.

Alat yang dipakai adalah PharmaSpec uv vis 1700 (Shimadzu), Seperangkat alat gelas (Iwaki Pyrex), seperangkat alat maserasi mesin pengaduk, sonikator (Ultrasonic LC 30H), penangas air.

Jalannya Penelitian

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Fakultas Biologi Universitas Jenderal Soedirman Purwokerto.

Pengumpulan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) yang masih basah yang diperoleh dari Badan

Pemeliharaan Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu Solo.

Pembuatan Serbuk Daun

Pembuatan simplisia daun rambutan dilakukan dengan cara pengeringan buatan menggunakan almari pengering dengan suhu 50° C, setelah kering dibuat menjadi serbuk dengan menggunakan blender.

Pembuatan Ekstrak Daun Rambutan

Pembuatan ekstrak daun rambutan dibuat dengan metode maserasi. Caranya sebagai berikut : sebanyak 250,0 gram serbuk kering dimasukkan maserator atau toples kaca, dilarutkan dengan etanol 96% sebanyak 7 kali bobot serbuk dan diaduk, kemudian dimerasasi dalam maserator tertutup dan diaduk dengan mesin pengaduk selama 10 jam. Setelah itu menyaring maserat dari ampas dengan corong bucner . Maserat diendapkan selama 2 hari, kemudian memisahkan maserat dari endapan dengan hati-hati. Setelah itu menguapkan maserat dalam alat evaporator. Setelah itu diuapkan dalam cawan porselein dengan pemanasan di atas penangas sambil diangin-anginkan dengan kipas angin.

Pembuatan Larutan Perekaksi

a. Gelatin LP

Dilarutkan 1 gram gelatin ke dalam air hingga 10 ml *aqudestilata* lalu dipanaskan (Depkes RI, 1995).

b. FeCl_3 LP

Dilarutkan 9 gram Besi (III) Klorida heksa hidrat P dalam *aqudestilata* hingga 100 ml (Depkes RI, 1995).

c. Larutan Na karbonat jenuh

Tiap 100,0 ml *aquabidestillata* ditambahkan dengan 35,0 gram Na Karbonat anhidrat, kemudian dipanaskan pada suhu 70-80° C dan didinginkan semalam sampai didapat larutan jenuh yang ditandai dengan adanya kristal $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$. Setelah proses kristalisasi tersebut kemudian larutan disaring dengan *glasswool* (Cunnif, 1996).

Larutan Standar Asam tanat 1 mg/ml

100 mg Asam tanat dilarutkan dalam 100,0 ml *aquabidestillata*. Larutan standar ini harus selalu dibuat baru tiap kali akan melakukan pengujian (Cunnif, 1996)

Uji Kualitatif Tanin

Sebanyak 2 gram maserat dipanaskan dengan 10 ml *aquadestilata* selama 15 menit diatas pemanas air, kemudian disaring (filtrat I). Lima ml Filtrat (I) ditambahkan 1 ml larutan NaCl 2%, bila terjadi suspensi atau endapan

disaring melalui kertas saring (filtrat II). Filtrat (II) ditambah 5 ml larutan Gelatin 1%, bila terjadi endapan putih menunjukkan adanya tanin.

Sebanyak 2 gram maserat dipanaskan dengan 10 ml *aquadestilata* selama 15 menit di atas penangas air, kemudian disaring (Filtrat I). Lima ml filtrat I ditambahkan 1 ml larutan NaCl 2%, bila terjadi suspensi atau endapan disaring melalui kertas saring (filtrat II). Filtrat (II). Ditambahkan beberapa tetes FeCl_3 LP, jika terbentuk wama hitam kebiruan yang hilang pada penambahan asam sulfat encer P menjadi endapan coklat kekuningan, menunjukkan adanya tannin.

Penetapan Panjang Gelombang Serapan Maksimum

Dilakukan percobaan seperti pada no 3.5.7 dan diukur serapannya pada panjang gelombang antara 400-900 nm setelah *operating time* tercapai. Dibuat spektrogram hubungan antara serapan dengan panjang gelombang, panjang gelombang serapan maksimum adalah panjang gelombang dimana larutan sampel mempunyai serapan maksimum.

Penentuan *Operating Time (OT)*

Dipipet 1,0 ml larutan standar asam tanat dengan seksama, kemudian

dimasukkan dalam wadah berukuran 10 ml yang telah berisi 7,5 ml *aquabidestilata*. Kemudian ditambahkan 0,5 ml pereaksi Folin denis dan 1,0 ml larutan Na_2CO_3 jenuh dan diencerkan dengan *Aquabidestilata* sampai 10,0 ml dicampur dengan baik dan diuji serapannya selama 1 jam pada panjang gelombang 760 nm (Cunnif, 1996)

Pembuatan Kurva Baku

Dibuat suatu seri larutan baku dari larutan standar asam tanat 1mg/ml. Diambil dari larutan standar asam tanat yaitu: 0,020; 0,030; 0,040; 0,050; 0,060; 0,070; 0,080 mg/ml dan dilakukan percobaan seperti no 3.5.8 kemudian diukur serapannya pada panjang gelombang serapan maksimum setelah *operating time* tercapai.

Penetapan Kadar Tanin

Sebanyak 10,0 mg maserat ditimbang dan dilarutkan dengan *aquabidestilata* sampai 10,0 ml. Jika belum larut sempurna bisa dibantu dengan alat sonikator yang berfungsi untuk menghomogenkan larutan. Dipipet 1,0 ml sampel dengan seksama, dimasukkan ke dalam wadah berukuran 10 ml yang telah berisi 7,5 ml *aquabidestilata* . Ditambahkan 0,5 ml pereaksi Folin Denis dan 1,0 ml larutan

Na_2CO_3 jenuh. Dicampur dengan baik, kemudian dibaca serapannya pada waktu serapan stabil (*operating time*) dan pada panjang gelombang maksimum. Dihitung dengan menggunakan kurva baku yang telah didapat sehingga diketahui konsentrasi dari sampel yang diukur.

Analisis Data

Untuk mengambil kesimpulan suatu hasil analisis digunakan parameter ketepatan dan ketelitian. Ketepatan pengukuran adalah jauh dekatnya penyimpangan hasil pengukuran dari harga sebenarnya. Ketelitian merupakan hasil hampir sama.

Analisis data yang digunakan adalah dengan uji paired sampel t test yang dilakukan menggunakan program SPSS versi 11.

Hasil dan Pembahasan

Penyiapan Bahan

Daun rambutan (*Nephelium lappaceum*) yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari Badan Pemeliharaan Tanaman Obat (BPTO) Tawangmangu Solo Pada bulan Januari 2009. Bagian daun rambutan yang digunakan adalah daun rambutan muda

dan daun rambutan tua yang dibeli dalam keadaan basah.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman bertujuan untuk mencocokan ciri-ciri morfologi yang ada pada tanaman yang akan diteliti dengan melihat pada buku Flora of Java agar tidak terjadi kesalahan mengambil tumbuhan untuk penelitian. Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi Universitas Jendral Soedirman Purwokerto. Berdasarkan hasil determinasi menggunakan buku Flora of Java vol II (Backer & Bakhuizen Van Den Brink, 1965) dinyatakan bahwa tumbuhan tersebut adalah tanaman rambutan.

Pembuatan Simplisia

Pembuatan simplisia dilakukan dengan cara pengeringan secara buatan yaitu menggunakan almari pengering dengan suhu 50° C. Tujuan pengeringan adalah untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, sehingga dapat disimpan dalam waktu yang lama. Dengan mengurangi kadar air dan menghentikan reaksi enzimatik akan dicegah penurunan mutu atau perusakan simplisia. Dengan menggunakan pengeringan buatan dapat diperoleh simplisia dengan mutu yang lebih baik karena pengeringan

akan lebih merata dan waktu yang diperlukan untuk pengeringan akan lebih cepat, tanpa dipengaruhi oleh keadaan cuaca (Depkes RI, 1985). Setelah kering, simplisia dibuat menjadi serbuk. Penyerbukan sangat penting karena dapat meningkatkan luas permukaan partikel yang kontak dengan pelarut sehingga pelarut dapat masuk ke dalam serbuk dan akan mengeluarkan zat kimia yang akan bercampur dengan zat penyari sehingga proses penyarian dapat berlangsung efektif.

Pembuatan Ekstrak Daun Rambutan (*Nephelium lappaceum*)

Pembuatan ekstrak dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan mesin pengaduk. Penggunaan mesin pengaduk yang berputar terus menerus, waktu proses maserasi dapat dipersingkat menjadi 6-24 jam. Pada penyarian dengan cara maserasi perlu dilakukan pengadukan. Pengadukan diperlukan untuk melarutkan konsentrasi larutan di luar butir serbuk simplisia. Hingga dengan pengadukan tersebut tetap terjaga oleh adanya derajat perbedaan konsentrasi sehingga yang sekecil-kecilnya antara larutan sel dengan larutan sel (Depkes RI, 1986).

Hasil penyarian dengan cara maserasi perlu dibiarkan dalam waktu tertentu, waktu tersebut untuk mengendapkan zat-zat yang tidak diperlukan tapi ikut terlarut dalam cairan penyari (Depkes RI, 1986).

Merasasi merupakan cara penyarian sederhana. Merasasi digunakan untuk penyarian simplisia yang mengandung zat aktif yang mudah larut dalam cairan penyari, tidak mengandung zat yang mudah mengembang dalam cairan penyari.

Tabel 1. Hasil uji kualitatif tanin

Sampel	Jenis Pereaksi				Hasil
	+NaCl +Gelatin	+NaCl +FeCl ₃	+NaCl, +FeCl ₃ +H ₂ SO ₄ encer		
Asam tanat	Endapan putih	Hitam kebiruan	Coklat kekuningan	+	
Daun rambutan muda	Endapan putih	Hitam kebiruan	Coklat kekuningan	+	
Daun rambutan tua	Endapan putih	Hitam kebiruan	Coklat kekuningan	+	

Keterangan: + menunjukkan adanya tanin pada sampel

Identifikasi Kualitatif Tanin

Untuk mengetahui tanin yang terkandung dalam daun rambutan maka uji kualitatif yang dapat dilakukan adalah dengan menambahkan gelatin pada sampel. Gelatin adalah suatu protein, berdasarkan sifat tanin yang dapat menggumpalkan protein (Robinson, 1995).

Adanya endapan putih menunjukkan adanya tanin yang menggumpalkan protein dari gelatin (Robinson, 1995). Sedangkan reaksi FeCl₃ melibatkan struktur tanin yang merupakan senyawa polifenol, dimana dengan adanya gugus fenol akan berikatan dengan FeCl₃ membentuk

kompleks berwarna hitam kebiruan. Sifat yang spesifik dari kompleks biru dari tanin yang berikatan dengan FeCl₃ ini adalah kompleksnya tidak stabil dengan penambahan H₂SO₄ encer (Depkes RI, 1979).

Penetapan Panjang Gelombang Maksimum (λ_{\max})

Panjang gelombang maksimum (λ_{\max}) adalah panjang gelombang pada saat serapannya maksimum dengan cara membaca serapan larutan standar asam tanat dan kemudian diubah-ubah panjang gelombangnya. Pemilihan panjang gelombang yang tepat akan meningkatkan kualitas hasil analisis, sepanjang tidak dipengaruhi oleh

komponen pengganggu atau variasi yang mungkin terjadi selama proses analisis (Afrianto, 2008).

Penetapan panjang gelombang maksimum bertujuan untuk mengetahui besarnya panjang gelombang yang dibutuhkan larutan asam tanat untuk mencapai serapan maksimum. Pemilihan panjang gelombang serapan maksimum ini karena akan diperoleh sensitivitas maksimum, yaitu pada panjang gelombang perbedaan kadar yang kecil saja telah mampu memberikan serapan yang cukup besar, panjang gelombang maksimum tersebut memberikan kesalahan serapan yang minimal atau memungkinkan adanya pengaruh interferensi dari zat lain yang terlarut adalah paling kecil (Mulja dan Suharman, 1995). Panjang gelombang yang dapat menghasilkan serapan tertinggi merupakan panjang gelombang maksimumnya. Hasil penetapan gelombang serapan maksimum larutan standar asam tanat 0,05 mg/ml adalah 743,0 nm.

Penetapan *Operating Time* (OT)

Uji ini untuk mengetahui lama waktu yang dibutuhkan larutan baku asam tanat untuk mencapai serapan konstan. Dari hasil percobaan

penetapan *operating time* menggunakan asam tanat 0,05 mg/ml menunjukkan serapan stabil mulai menit ke-59. Hasil ini menunjukkan bahwa semua pengukuran absorbansi harus dilakukan pada waktu menit ke 59 dari proses perlakuan.

Pembuatan Kurva Baku

Pembuatan kurva baku bertujuan untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi asam tanat dengan serapan. Dari larutan standar asam tanat 1mg/ml dibuat seri larutan dengan konsentrasi 0,020; 0,030; 0,040; 0,050; 0,060; 0,070 dan 0,080 mg/ml. Persamaan kurva baku yang diperoleh dari konsentrasi larutan asam tanat adalah: $Y = 9,1714x + 0,0223$, $r = 0,999$

Dari data yang diperoleh dibuat persamaan kurva baku dan dibuat kurva hubungan antara konsentrasi serapan. Data yang didapat menunjukkan bahwa makin besar konsentrasi maka serapannya makin besar. Dari persamaan yang diperoleh dapat digunakan sebagai dasar perhitungan kadar (sumbu x) dengan memasukkan harga serapan terukur (sumbu y). Uji ini menggambarkan kemampuan pada rentang tertentu untuk mendapatkan hasil uji yang secara langsung

proporsional dengan konsentrasi (jumlah) analit dalam sampel.

Nilai koefisien korelasi hitung sebesar r , dari data yang diperoleh dekat dengan garis regresi. Perhitungan harga r hitung (0,999) dibandingkan dengan r tabel (0,997) dengan taraf kepercayaan 5% diperoleh harga r hitung lebih besar dari r tabel (Arikunto, 2002: 328). Sehingga kurva baku di atas merupakan persamaan garis linear dan dapat digunakan untuk menentukan kadar tanin dalam sampel.

Penetapan Kadar Tanin

Penetapan kadar tanin dilakukan dengan metode spektrofotometri ultraviolet visibel. Untuk dapat dibaca serapannya pada daerah panjang gelombang ultraviolet visibel maka tanin harus direaksikan dengan reagen pembentuk warna, yaitu folin denis. Pembentukan warnanya berdasarkan reaksi reduksi oksidasi, dimana tanin sebagai reduktor. Folin denis sebagai oksidator, tanin yang teroksidasi akan mengubah fosmolibdat dalam folin denis menjadi fosmolibdenim yang berwarna biru yang dapat menyerap sinar pada daerah panjang gelombang ultraviolet visibel. Semakin banyak tanin yang terkandung semakin banyak fosmolibdat yang

tereduksi menjadi molibdenim sehingga terbentuk warna biru dengan nilai serapan yang semakin besar.

Hasil penetapan kadar tanin dari penelitian ini diperoleh kadar tanin dalam daun rambutan muda sebesar 6,16%, 6,28% dan 6,32% dengan kadar rata-rata 6,25% (b/v) Kadar tanin pada daun rambutan tua sebesar 6,64%, 6,60% dan 6,63% dengan kadar rata-rata 62,255 (b/v). Hasil perhitungan Standar Deviasi (SD) dan Koefisien Variansi (KV) pada daun rambutan muda sebesar 0,08327 dan 1,3% sedangkan pada daun rambutan tua diperoleh Standar Deviasi (SD) 0,02309 dan Koefisien Variansi (KV) sebesar 0,35%. Ketelitian (repeatability) dalam penelitian ini dapat dikatakan baik, karena nilai Koefisien Variansi yang didapat kecil yaitu untuk daun rambutan muda nilai KV 1,3%, dan daun rambutan tua 0,35%. Nilai KV yang kecil juga menunjukkan homogenity yang baik, karena hasil yang didapat tidak berbeda jauh. Nilai KV $< 2\%$ dapat dikatakan memberikan hasil yang baik (Gandjar, 2007). Nilai tersebut menunjukkan bahwa metode ini layak digunakan dalam analisis penetapan kadar tanin.

Analisis Data

Analisis data bertujuan untuk mengetahui apakah ada perbedaan kadar tanin yang signifikan antara kadar tanin daun rambutan muda dan kadar tanin daun rambutan tua, maka dilakukan pengujian dengan menggunakan uji t.

Analisis dengan menggunakan uji t diperoleh nilai t hitung sebesar 6,718 lebih besar dibandingkan t tabel sebesar 2,13. nilai t hitung tersebut menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara kadar tannin daun rambutan muda dengan daun rambutan tua. Rata-rata kadar tanin daun rambutan muda sebesar 6,25% (b/v) sedangkan rata-rata kadar tanin daun rambutan tua sebesar 6,62 % (b/v).

Kesimpulan

Hasil penetapan kadar tanin dari penelitian ini diperoleh kadar rata-rata daun rambutan muda sebesar 6,25% (b/v) sedangkan kadar tanin rata-rata daun rambutan tua sebesar 6,62% (b/v). Kadar tanin daun rambutan dengan variasi umur daun mempunyai perbedaan yang signifikan ($t_{hitung} = 7,483 > t_{tabel} = 2,13$). Semakin tua daun rambutan kadar tanin yang terkandung semakin besar

Daftar Pustaka

- Afrianto, E. 2008. *Pengawasan Mutu Bahan/ Produk Pangan jilid II Untuk Sekolah Menengah Kejuruan*. Jakarta: Direktorat Pembinaan SM
- Arikunto, S. 2002. *Prosedur Penelitian Suatu Pendekatan Praktek edisi Revisi V*. Jakarta: PT. Asdi Mahasatya P: 328,333
- Backer & Bakhuizen Van Den Brink, 1963. *Flora Of Java (Spermatophytes only) Vol II*. The Netherlands: N.V.P Noordhoff-groningen P: 138
- Cunnif, P., 1996. *Official Method Of Analysis Of AOAC International sixteenth edition Vol II*, Published by AOAC international Suite 500, 481 North frederick Avenue Gaithersburg: Maryland 20877-2417 USA
- Dalimarta, S. 2007. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*, Jakarta
- Depkes RI, 1979. *Farmakope Indonesia ed III*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI P:59
- Depkes RI, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat Dan Makanan P: 10,14

Dekkes R1, 1986. *Sediaan Galenik.*

Jakarta: Departemen Kesehatan

RI P: 2, 10-13

Harborne, S.B, 1987. *Metode Fitokimia.*

Bandung: ITB P: 21, 71,102-104

Robinson, T. 1995. *Kandungan Organik*

Tumbuhan Tinggi. Bandung: ITB

P:71-73.

Tjokronegoro, A., dan Baziad, A., 1992.

Etik Penelitian Obat Tradisional.

Fakultas Kedokteran Universitas

Indonesia, Jakarta P:27