**AKTIVITAS PENGHAMBATA N POLIMERISASI HEM DARI FRAKSI ETIL ASETAT DAUN MANURAN,**

***Coptosapelta tomentosa* Valeton ex K.Heyne (Rubiaceae)**

Arnida1, Sutomo1, Lia Rusyida1

1Program Studi FarmasiaFakultasaMIPAaUniversitasaLambungaMangkurat

Jl. aA. aYaniaKma36aBanjarbaru, aKalimantanaSelatan

Korespondensi: [arnida01@ulm.ac.id](mailto:arnida01@ulm.ac.id)

***Abstract***

*Malaria is a serious disease caused by Plasmodium parasites and is transmitted by the salivary glands of female Anopheles mosquito. The manuran (Coptosapelta tomentosa Valeton ex K.Heyne) is empirically used as a malarial treatment. The study aimed to determine the IC50 value of ethyl acetate fraction and the coumpounds contained on the C. tomentosa Valeton ex K. Heyne leaf ethyl acetat fraction. The identification of chemical composition used tube test method. The inhibitory activity of heme polymerization in vitro did by Basillico modified method. The identification of chemical contents on the ethyl acetate fraction of C. tomentosa leaf Valeton ex K. Heyne showed positive results containing flavonoid, tannin, saponin, terpenoid, and anthraquinone. The average percentage heme polymerization inhibition of C. tomentosa valeton ex K. Heyne leaf ethyl acetate fraction respectively from large to small concentrations of 97.94; 96.94; 95.01; 91.63; 86.19; 76.12; and 44.83 %. Result of probit analysis, that it has HPIA IC50 value of 0.252±0.009 mg/mL and chloroquine diphosphate was 0.214±0.012 mg/mL. The independent sample T-test showed that there was significant difference between IC50 value of them. The ethyl acetate fraction of C. tomentosa leaf Valeton ex K. Heyne has heme polymerization inhibition activity.*

***Keywords****: heme polymerization, Coptosapelta tomentosa Valeton ex K. Heyne, Rubiaceae, Antimalarial*

**Abstrak**

Malaria merupakan penyakit yang sangat berbahaya yangadisebabkanaolehaparasit P*lasmodium*adanaditularkanaolehaairaliuranyamuka*Anopheles*abetina. Tumbuhan manuran (*Coptosapelta tomentosa* Valeton ex K.Heyne) secara empiris digunakan sebagai obat malaria. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan nilai IC50 fraksi etil asetat dan mengetahui kandungan kimia yang terdapat dalam daun *C. tomentosa*. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem secara *in vitro* dengan metode *Basillico* yang dimodifikasi. Identifikasi kandungan kimia pada fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* menunjukkan hasil yang positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan antrakuinon. Rerata persentase penghambatan polimerisasi hem fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* secara berturut-turut dari konsentrasi kecil sampai konsentrasi besar yaitu 97,94; 96,94; 95,01; 91,63; 86,19; 76,12; dan 44,83 % v/v. Hasil analisis probit pada fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem dengananilai IC50 sebesar 0,252±0,009 mg/mLadanaklorokuinadifosfat yaitu 0,214±0,012amg/mL. Uji *independent* sampelaT-*test* menunjukkanabahwa ada perbedaan yang signifikan antara nilai IC50 fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* dengan klorokuin difosfat.

**Kata**a**Kunci**: PolimerisasiaHem; *Coptosapeltaatomentosa* ValetonaexaK. Heyne; Rubiaceae; antimalaria

**PENDAHULUAN**

Malariaamerupakanapenyakitayangasangataberbahayaayangadisebabkan olehparasita*Plasmodium*adanaditularkanaolehaairaliuranyamuka*Anopheles*abetina (WHO, 2010). Penyakit ini banyak ditemukan di daerah iklim tropis salah satunya seperti di Indonesia (Wahyono *et al.,* 2010). Penyakit malaria ini dapat menyebabkan kekurangan sel darah merah (anemia) dan berkurangnya jumlah kandungan hemoglobin (Hb) di dalam darah. Data yang ada diaKabupatenaBanjar mengalamiapeningkatanadaria275aorangapadaatahuna2011amenjadia335 orang di tahun 2012 (Dinkes Kab Banjar, 2012).

Manuran, *Coptosapelta tomentosa* Valeton ex K. Heyne adalah salah satu tanaman dari daerah Kotabaru Kalimantan Selatan yang digunakan secara empiris oleh masyarakat sebagai antimalaria. Ekstrak etanol batang *C. tomentosa* memiliki aktivitas antiplasmodium in vitro yang potensial dengan nilai IC50 45,864 ± 0,76 μg/mL (Arnida, *et al*., 2017). Ekstrakaetanol daun *C*. a*tomentosa* mengandungasenyawaaflavonoid, atanin, asaponin, antrakuinon, aterpenoid, dan glikosida. Penelitian Shafwatunnida (2009) tentang kandungan senyawa pada fraksi etil asetat dari akar *C*. *tomentosa* meliputi flavonoid, tanin, saponin, antrakuinon, dan terpenoid. Belum adanya penelitian mengenai khasiat fraksi etil asetat daun *C*. *tomentosa* asal Kotabaru Kalimantan Selatan sebagai antimalaria, sehingga peneliti ingin melakukan penelitian lebih lanjut mengenai aktivitas penghambatan polimerisasi hem fraksi etil asetat daun *C*. *tomentosa* asal Kotabaru Kalimantan Selatan.

Penelitian ini dilakukan dengan metode penghambatan polimerisasi hem. Polimerisasiahem merupakan metodeayang sederhana danacukupaakuratauntuk mengetahuiaadanyaaaktivitasaantimalaria. aPolimerisasiahem juga digunakan sebagai skrining awal untuk mempelajari mekanisme kerja senyawa tanaman yang mengandung khasiat sebagai antimalaria (Huy *et al.,* 2007).

**METODE**a**PENELITIAN**

**Alat**a**dan**a**Bahan**

Peralatanayangadigunakanaadalahaalatagelas (Pyrex® Iwaki Glass) batang pengaduk, cawan penguap, chamber, amaserator, amikrotube, apipet tetes, pipetavolume, apisau, aproapipet, arakatabung, a*rotary*a*evaporator* (Heidolph), mikroplatea96asumuran (Matrix®),amikropipet (Effendorf), UV 254, aUVa366, pHameter, atimbanganaanalitik, asentrifuge, ainkubatora (Memmert), vortex mixer (MaxiaMixaII®),awaterbatha (Memmert) adanaELISAa*reader* (EONTM).

Bahanayangadigunakanaadalahadauna*C.* a*tomentosa*, aluminium foil, anisaldehid asam sulfat (teknis), aammoniaa (p.a), akuades, asam asetataanhidrat (teknis), aasamaasetataglasial (p.a), asamasulfatapekat (teknis), benzena, besi (III) klorida, DMSO 100% (p.a), etil asetat (teknis), *n*-heksana (teknis), aFeCl3 1%, H2SO4, HCla2 N, kaliumahidroksidaaetanolik, akertasasaring, kloroforma (teknis), klorokuinadifosfat, akristal hematin, amethanol (p.a), NaOH, etanola96%,apereaksiaDragendorff, apereaksiaMayer, adanasilikaaGF254.

**Pembuatan**a**ekstrak**a**daun *C.*** a***tomentosa***a**Valeton**a**ex**a**K.**a**Heyne**

Sebanyak 193,73agramaserbukakasaradauna*C. tomentosa*adirendamadengan pelarutaetanol 96 % sebanyak 4 L. Maserasiadilakukan 1x24 jam. aLarutanaselanjutnyaadisaring dan residu diremaserasi sebanyak 4 kali. Hasil maserasi diuapkan dengan menggunakan *rotary vacuum evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental.

**Pembuatan fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* Valeton ex K. Heyne**

Ekstrak etanol kental yang diperoleh disuspensikan menggunakan akuades dengan perbandingan ekstrak dan akuades 1:4. Sampel sebanyak 10 gram disuspensikan dengan 40 mL akuades sampai homogen dan dimasukkan ke dalam corong pisah, kemudian ditambahkan *n*-heksana sebanyak 40 mL, dihomogenkan dan difraksinasi dengan cara di gojok, dan didiamkan sampai terjadi pemisahan 2 lapisan. Lapisan *n*-heksana dipisahkan dan lapisan air yang tertinggal ditambahkan pelarut etil asetat sebanyak 40 mL, dihomogenkan dan difraksinasi dalam corong pisah dengan cara digojog. Fraksinasi ini dilakukan 9x replikasi hingga pelarut *n*-heksana jernih, selanjutnya fraksi air di fraksinasi kembali menggunakan pelarut etil asetat dengan menggunakan cara yang sama seperti di atas, dilakukan 3x replikasi, Lapisan etil asetat yang terdapat pada bagian atas diambil, kemudian diuapkan menggunakan *rotary evaporator,* kemudian dipekatkan menggunakan *waterbath* hingga didapat ekstrak kental.

**Skrining fitokimia fraksi etilasetat**

**a. Alkaloid**

Sebanyaka2amg fraksi etilasetat dilarutkan dengan 5 mL HCL 2 N. Larutanadibagiakeadalama2atabungareaksi. Tabung pertama ditambahkan pereaksiaDragendorffasebanyaka3atetes, dan tabung kedua ditambahkan pereaksi Mayerasebanyaka3atetes. Terbentuknyaaendapanajinggaapada tabungapertama dan endapan putih hingga kekuningan pada tabung kedua menunjukkan adanya alkaloid (Jones & Kinghorn, 2006).

**b. Flavonoid**

Sebanyak 2 mL fraksi etilasetat ditambahkan beberapa tetes larutan FeCl3, apabila terbentuk warna ungu maka positif mengandung flavonoid (Atun, 2014).

**c. Steroid**

Larutan fraksi etilasetat sebanyak 0,5 mL ditambah dengan 2 mL pereaksi Lieberman Burchard. Hasil positifaadanyaasteroidaditandaiadengan perubahan warna dariaviolet menjadiabiruaatauahijau (Tiwari *et al.*, 2011).

**d. Terpenoid**

Sebanyak 0,10 mg fraksi etilasetat dilarutkan denganakloroform kemudianadisaring, aditambahkanabeberapaatetes asamasulfat pekat, lalu dikocok. Jikaacampuran berbentuk endapan cincin coklat hasil positif triterpen (Tiwari *et al.*, 2011).

**e. Tanin**

Sebanyak 3 mL larutan fraksi etilasetat ditambahkan 5 tetes NaCl 10%, dan 3 tetes pereaksi FeCl3. Terbentuknya campuran berwarna biru tua atau hijau kehitaman (Tiwari *et al.*, 2011).

**f. Saponin**

Sebanyak 0,5 g fraksi etilasetat ditambahkan 5 ml akuades. Larutan dikocok kemudian terbentuknya buih yang stabil selama 30 menit maka dapat dinyatakan senyawa positif mengandung saponin (Atun, 2014).

**g. Antrakuinon**

Sebanyak 1 mL larutan fraksi etilasetat ditambahkan dengan 2 mL ammonia. Jika terbentuk warna merah maka senyawa tersebut mengandung antrakuinon dan kuning untuk antron dan diantron (Setyawaty *et al*., 2014).

**Analisis KromatografiaLapisaTipis Fraksi Etilasetat**

Faseadiamayangadigunakan adalah plat silika GF254. Pengamatan dilakukan diabawahasinaraUV 254anmadana366 nm sedangkan fase gerakadan penampakan noda yang digunakan adalah sebagai berikut :

**a. Alkaloid**

Fase gerak *n*-heksana (p.a) – etil asetat (p.a) (7:3). Hasil positif apabila timbul bercak warna coklat atau jingga pada hasil kromatografi setelah disemprot dengan Dragendorff. Penampakan bercak tanpaapereaksiakimiaadiabawahalampuaUV 366 nmaalkaloidaakanaberfluoreseniabiru, abiru hijau, aatauaungua (Marliana, 2007).

**b. Flavonoid**

Fase gerak *n*-heksana (p.a) – etil asetat (p.a) (7:3). Penampak noda berupa uap ammonia yang menimbulkan warna kuning muda pada hasil kromatografi menunjukkan adanya flavonoid (Marliana, 2007).

**c. Steroid dan terpenoid**

Fase gerak *n*-heksana (p.a) – etil asetat (p.a) (7:3). Penampakan bercak yang digunakan adalah pereaksi semprot anisaldehid asam sulfat. Hasil positif apabila timbul bercak warna ungu -merah atau ungu pada hasil kromatografi (Wagner & Bland, 1996).

**d. Tanin**

Fase gerak *n*-heksana (p.a) – etil asetat (p.a) (7:3). Jika timbul warna ungu kehitam pada hasil kromatografi setelah penyemprotan pereaksi FeCl3 10% menunjukkan adanya senyawa tanin (Tiwari *et al.*, 2011).

**e. Antrakuinon**

Fase gerak *n*-heksana (p.a) – etil asetat (p.a) (7:3). Pereaksi semprot kalium hidroksida etanolik. Hasil dikatakan positif apabila memberikan warna violet merah pada hasil kromatografi (Wagner & Bland, 1996).

**Uji**a**aktivitas**a**penghambatan**a**polimerisasi**a**hem**

Kelompok bahan uji dan kontrolapositif (klorokuinadifosfat) masing-masing dibuataseriakonsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; dan 0,3125 mg/mL. Diambil masing-masing 100aμL dimasukkan ke dalam mikrotube. Penambahan 200 μL larutan hematin ke dalam masing masing seri konsentrasi, selanjutnya ditambahkan 100 μL alarutanaasamaasetat glasial 100 % (pHa2,6). Kemudian,adiinkubasiapada suhu 37oC selama 24 jam. Setelah inkubasi selesai, tiap-tiap uji dalam mikrotube disentrifugasi denganakecepatana8000arpmaselamaa10amenit. Endapan dan supernatant dipisahkan, supernatant dibuang. Endapan dicuci dengan menambahkan 400 μL DMSO 100%, disentrifuseaberkecepatana8000arpmaselamaa10amenit, setelah itu dibuang supernatant dibuang, lalu ditambahkan lagi dengan 400 μL DMSO 100%. Pencucian diulangi sebanyaka3akali. aEndapan yangadiperolehaditambaha NaOHa0,1 Masebanyaka400 μL, akemudianadiambil sebanyaka100aμLadimasukkanake adalamamikroplatea96asumuran dan dibaca nilaiaabsorbansinya pada Elisa *reader*.

**HASIL**a**DAN**a**PEMBAHASAN**

**Ekstraksi**a**dan**a**Fraksinasi**

Ekstrak yang diperoleh dari prosesaekstraksi maserasi sebanyak 12,35 gram, sehingga diperoleh persen rendemen sebesar 6,37%. Dari 10 gram ekstrak etanol yang difraksinasi dengan cara corong pisah diperoleh fraksi etilasetat sebesar 0,817 gram sehingga diperoleh persen rendemen 8,17%.

**Skrining Fitokimia**

Golongan senyawa yang positif dari hasil skrining fitokimia yaituagolongan flavonoid, atanin, asaponin, asteroid, aterpenoid, adan antrakuinon (Tabela1).

Tabel 1. Hasilaskrining fitokimia fraksi etil asetat daun *C. tomentosa*

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| No | Golonganasenyawa | Jenisapereaksi | Hasil |
| 1 | aAlkaloid | Dragendorff  aMayer | -  - |
| 2 | aFlavonoid | FeCl3 | + |
| 3 | aTanin | FeCl3 | + |
| 4 | aSaponin | Tes buih | + |
| 5 | aSteroid | Lieberman Burchard | - |
| 6 | aTerpenoid | Salkowski’s Test | + |
| 7 | Antrakuinon | Ammonia | + |

**Kromatografi Lapis Tipis**

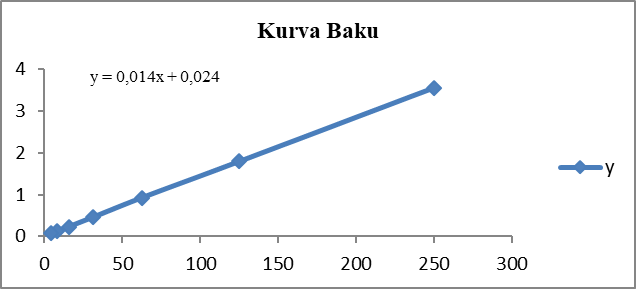
Kromatografi lapis tipis dilakukan untuk mempertegas hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan (Tabel 1). Hasil identifikasi dengan KLT diperoleh senyawa yang bereaksi positif adalah flavonoid, terpenoid dan steroid, tanin, antrakuinon, dan saponin (Tabel 2).

Tabel 2. Hasil kromatogram fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* Valeton setelah disemprot dengan pereaksi.

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| No. | Senyawa | Pereaksi Semprot | Warna Bercak | Kesimpulan |
| 1 | Alkaloid | Dragendorff | Coklat | (-) |
| 2 | Flavonoid | Uap ammnia | Biru terang | (+) |
| 3 | Terpenoid dan Steroid | Anisaldehid asam Sulfat | Merah | (+) |
| 4 | Tanin | FeCl3 | Hitam-hijau | (+) |
| 5 | Antrakuinon | KOH-etanolik | Violet-Merah | (+) |
| 6 | Saponin | Anisaldehid as. sulfat | Violet | (+) |

**Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem Fraksi Etil Asetat Daun *C. tomentosa* Valeton Ex. K Heyne.**

Pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi hem diawali dengan penentuan kurvaabakuahematin, dengan cara pembacaanaabsorbansi pada ELISAa reader dengan panjangagelombanga405anm (Basilico *et al*., 1998).. Hasil kurva baku yang diperoleh menunjukkan persamaan linear y = 0,014x + 0,024 dengan nilaiakoefisienakolerasi (r) = 0,999 dan nilai r2 = 0,998 (Gambara1). Nilai koefisien kolerasi menunjukkan bahwa adanya hubungan linear yang terjadi antara konsentrasi dan absorbansi sebesar 99,9%.



**Konsentrasi *β*-hematin**

**Absorbansi**

r2= 0,998

Gambara1. Kurvaabakuahematin

Persamaanakurvaabaku ya=a0,014xa+a0,024 digunakan untuk menentukanakadara*beta*-hematin masing-masing konsentrasi. Penetapanakadara*β*-hematin ditentukan dengan cara memasukkan nilai absorbansi sampel uji sebagaianilaia’y’apadaapersamaan ya=a0,014xa+a0,024. Kadar *beta-*hematin yang diperoleh adalah nilai ‘x’ pada persamaan (Tabel 3). Persen penghambatan akan diperoleh dari nilai kadar *beta*-hematin yang diperoleh. Semakin tinggi konsentrasi sampel maka semakin tinggi nilai persen penghambatannya (Tabel 3).

**Tabel 3**. Pengaruh pemberian fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* terhadap aktivitas penghambatan polimerisasi hem

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **No** | **Bahan**  **Uji** | **Konsentrasi**  **(mg/mL)** | **Rerata Kadar Hemozoin** ± **SD** | **Rerata % Penghambatan** ± **SD** | **IC50**  **(mg/mL)** |
| 1 | Fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* | 20  10 | 2,67±0,27  3,95±0,29 | 97,94±0,21  96,94±0,22 | 0,252±0,009 |
| 5 | 6,45±0,48 | 95,01±0,37 |
| 2,5 | 10,81±0,62 | 91,63±0,48 |
| 1,25 | 17,83±0,46 | 86,19±0,36 |
| 0,625 | 30,86±0,31 | 76,12±0,42 |
| 0,3125 | 71,29±1,18 | 44,83±0,91 |
|  |  |  |  |
| 2 | Kontrol positif  Klorokuin difosfat | 20 | 2,31±0,11 | 98,17±0,09 | 0,214±0,012 |
| 10 | 3,48±0,15 | 97,25±0,12 |
| 5 | 5,67±0,23 | 95,51±0,18 |
| 2,5 | 9,62±0,33 | 92,38±0,26 |
| 1,25 | 15,74±0,92 | 87,53±0,73 |
| 0,625  0,3125 | 27,02±0,72  64,45±1,94 | 78,59±0,57  48,93±1,54 |

Nilai IC50 didapatkan melalui analisis probit. Hasil penelitian pada fraksi etilasetat daun *C. tomentosa* memilikiaaktivitas penghambatanapolimerisasiahemadengananilai IC50 0,252 ± 0,009 mg/mL, sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etilasetat daun *C. tomentosa* memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem. Nilai IC50 klorokuin difosfat pada penelitian ini sebesar 0,214±0,012amg/mL.

Analisisahasilapengujianaaktivitasapenghambatanapolimerisasiahemaini dilakukanadengan uji *independent* sampel T-*test* yang digunakan untuk mengetahui signifikasi nilai IC50 antara fraksi etil asetat dengan klorokuin difosfat. Hasil uji menunjukkan terdistribusi normal karena tidak ada perbedaan antara bahan uji dengan klorokuin difosfat karena nilai signifikansi > 0,05 yaitu secara berturut-turut 0,600 dan 0,312. Homogenitas data dapat diketahui melalui uji homogenitas varians. Hasil uji tersebut menunjukkan nilai signifikansi 0,013 yang berarti < 0,05 sehingga H0 ditolak. H0 ditolak yang artinya menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna atau signifikan nilai IC50 fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* dengan klorokuin difosfat. Aktivitas penghambatan polimerisasi hem antara fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* dengan klorokuin difosfat dapat dikatakan tidak sebanding, karena klorokuin difosfatamemiliki aktivitasayangalebihabesaradalamamenghambatapolimerisasiahemadibandingkan fraksi etil asetat daun *C.* a*tomentosa*.

**KESIMPULAN**

* + - 1. Identifikasi kandungan kimia pada fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* menunjukkan hasil yang positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, terpenoid, dan antrakuinon.
      2. Persentase pengambatan polimerisasi hem fraksi etil asetat daun *C. tomentosa* pada konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL secara berturut-turut yaitu 97,94; 96,94; 95,01; 91,63; 86,19; 76,12; dan 44,83 %
      3. Fraksiaetilaasetatadaun *C. tomentosa* penghambatanapolimerisasiahemadengananilaiaIC50asebesara0,252 ± 0,009 mg/mL.

**UCAPAN TERIMAKASIH**

Penulis mengucapkan terima kasih atas dukungan pembiayaan kepada Kementerian Ristek-Dikti melalui hibah PPT. Terima kasih kepada Ibu Nurlely, M.Sc (Pharm)., Apt dan Bapak Nashrul Wathan, M. Farm., Apt atas sumbangsih saran-saran dalam perbaikan tulisan. Terima kasih dukungan tim di laboratorium Silfi, Usna, dan Humairah.

**DAFTAR PUSTAKA**

Arnida, Eka Rahmawaty Sahi, Sutomo, 2017, Aktivitas Antiplasmodium In Vitro Dan Identifikasi Golongan Senyawa Dari Ekstrak Etanol Batang Manuran (Coptosapelta tomentosa Valeton Ex K.Heyne) Asal Kalimantan Selatan, *Jurnal Ilmiah Ibnu Sina,* 2 (2), 270-278 .

Atun, S. 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organik Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur.* ***8***: 53-61.

Basilico, N., E. Pagani, D. Monti, P. Olliaro, & D. Taramelli. 1998. A Microtitre-Based Method for Measuring the Haem Polymerization Inhibitory Activity (HPIA) of Antimalarial Drugs. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. ***42***: 55–60.

Dinkes Kabupaten Banjar. 2012. *Laporan Tahunan Bidang Keluarga Tahun 2012.* Seksi KIA. Kabupaten Banjar.

Huy, N.T., Maeda, A., Uyen, D.T., Trang, D.T.X., Sasai, M., Shiono, T., Oida, T., Harada, S. & Kamei, K., 2007, Alcohols induce beta-hematin formation via the dissociation of aggregated hem and reduction in interfacial tension of the solution.*Acta Tropica.* ***101***:130–138.

Jones, W.P., Kinghorn, A.D. (2006). Extraction of Plant Secondary Metabolites. In: Sharker, S.D. Latif Z., Gray A.L, eds. Natural Product Isolation. 2nd edition. New Jersey, Humana Press.

Marliana, S.D., V. Suryanti & Suyono. 2005. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. Jurusan Biologi FMIPA UNS, Surakarta.

Setyawaty, R., A. Ismunandar, & N.Q. Ngaeni. 2014. Identifikasi Senyawa Antrakuinon Pada Batang Mengkudu (*Morinda citrifolia* L)Menggunakan Kromatografi Lapis Tipis. *Prosiding* Seminar Nasional Hasil - Hasil Penelitian dan Pengabdian LPPM UMP, Purwokerto.

Shafwatunnida, L. 2009. *Isolasi dan Identifikasi Senyawa Kimia Fraksi Etil Asetat Akar Tumbuhan Manuran (Coptosapelta tomentosa Valeton ex K. Heyne) Asala Kabupaten Kotabaru Kalimantan Selatan*. Skripsi, Universitas Lambung Mangkurdat, Banjarbaru.

Tiwari, Prashant., Bimlesh Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, Harleen Kaur. 2011. Phytochemical Screening and Extraction: A Review. *International Pharmaceutica Scienca*. ***1***: 98-106

Wagner, H. & S. Bland. 1996. Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd Edition. Springer. Berlin Heidelberg:

Wahyono, Pudjono & P. Widyati. 2010. Uji Aktivitas Senyawa Anti Plasmodium dari Fungi Endofit Tanaman *Artemsiaannua* L. *Majalah Farmasi Indonesia*. ***21*** : 230-235.

WHO. 2010. *World Malaria Report*. WHO Library Cataloguing-in-Publication Data, Switzerland.