

KARAKTERISASI EKSTRAK ETANOL BIJI KLABET (*Trigonella foenum-graecum* L) SEBAGAI TANAMAN OBAT PELANCAR ASI

Ani Isnawati*¹, Sukmayati Alegantina¹, Lucie Widowati²

¹ Pusat Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan, ²Pusat Teknologi Terapan dan
Epidemiologi Klinik

E-mail : isnawati@yahoo.com

CHARACTERIZATION OF EXTRACT KLABET SEED AS FACILITATING BREAST MILK

Abstract.

Background. From the collection of data (SDKI) in 2002-2003, it was found that the number of exclusive breastfeeding in infants below the age of two months covers only 64% of total infants. The most alarming facts was that 13% of infants under two months have been fed infant milk formula and one of three infants aged 2-3 months has been given additional food. A survey reveals that 38% of mothers stop giving breastfeeding because they cannot provide enough breast milk. Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) is a herbal that is used in Europe as facilitating breast milk. Therefore, using Klabet as herba to facilitating breast milk is needed as extract requirement. In addition, this research considers characterization of Klabet extract as a first step to standardize Klabet extract.

Method. Sample was extract of Klabet seed from East Java. To ensure the quality requirements of 50% ethanol extract from Klabet seed for herbal medicine, it had to meet the quality requirement guidelines established by BPOM. Examination includes non-specific parameter such as water content, total ash, total acid insoluble ash, and extract microscopic examination. In the other side, specific parameter includes content of dilute alkohol, content of dilute water, assay of Trigonelline and chemistry compound test.

Result. Characteristic of 50 % ethanol extract from Klabet seed semen for non-specific parameter were water content 13,70%, total ash 1,16%, total acid insoluble ash 0,06% and loss on drying 20,59% , whereas characteristic of spesific parameter for content of dilute etanol 59,58%, content of dilute water 47,78%, and assay of total alkaloid with Trigonellin standard 9,72 %. Content of Chemistry coumpound are tannin, saponin, steroid, sterol-triterpenoid, flavanoid, and alkaloid

Keywords: ethanol extract from Klabet seed, breast milk , trigonelline

Abstrak.

Latar belakang. Data (SDKI) tahun 2002-2003, ditemukan jumlah pemberian ASI eksklusif pada bayi di bawah usia dua bulan hanya mencakup 64% dari total bayi yang ada dan lebih memprihatinkan, 13% bayi di bawah dua bulan telah diberi susu formula. Selain itu satu dari tiga bayi usia 2-3 bulan telah diberi makanan tambahan. Hasil suatu survei melaporkan bahwa 38% ibu menghentikan pemberian ASI bagi bayi dengan alasan

Submit : 05-04-2012 Review : 23-04-2012 Review : 23-04-2012 revisi : 04-09-2012

produksi ASI tidak mencukupi. Klabet sebagai herbal penambah ASI perlu dilakukan karakterisasi ekstrak biji Klabet sebagai langkah awal standarisasi ekstrak biji Klabet.

Metode. Sampel adalah ekstrak biji Klabet. Tanaman Klabet diperoleh dari Jawa Timur. Untuk menjamin persyaratan mutu ekstrak etanol 50 % biji Klabet yang digunakan sebagai herbal untuk pelancar ASI pertama –tama harus memenuhi karakteristik mutu berdasarkan Pedoman persyaratan ekstrak yang dikeluarkan BPOM. Pemeriksaan mencakup parameter non spesifik antara lain: kadar air, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, dan susut. Sedangkan parameter spesifik mencakup penetapan kadar sari larut alkalioid, penetapan kadar sari larut air, penetapan kadar Trigonellin dan uji golongan senyawa kimia

Hasil. Karakterisasi ekstrak etanol 50 % biji klabet non spesifik : kadar air 13,70 %, kadar abu total 1,16 %, kadar abu tidak larut asam 0,06 % dan susut pengeringan 20,59 %, sedangkan karakteristik spesifik : kadar sari larut etanol 59,58 %, kadar sari larut air 47,78 %, dan kadar Trigonellin 9,72 %.

Kata kunci : Ekstrak etanol Biji Klabet, Trigonellin, *Trigonella foenum-graecum* L, ASI,

PENDAHULUAN

Survei Demografi dan Kesehatan Indonesia (SDKI) tahun 2002-2003, ditemukan data jumlah pemberian ASI eksklusif pada bayi di bawah usia dua bulan hanya mencakup 64% dari total bayi yang ada. Persentase tersebut menurun seiring dengan bertambahnya usia bayi, yakni 46% pada bayi usia 2-3 bulan dan 14% pada bayi usia 4-5%. Yang lebih memprihatinkan, 13% bayi di bawah usia dua bulan telah diberi susu formula dan satu dari tiga bayi usia 2-3 bulan telah diberi makanan tambahan¹. Hasil suatu survei melaporkan bahwa 38% ibu menghentikan pemberian ASI bagi bayi dengan alasan produksi ASI tidak mencukupi^{2,3}.

Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) merupakan tumbuhan herba, tegak, tinggi 30 cm sampai 60 cm, dari suku *Papilionaceae*. Klabet mempunyai potensi yang besar untuk pengembangan obat, karena besar harapan dapat menyaingi tanaman *Dioscorea* sp. sebagai penghasil diosgenin, prekursor hormon kontrasepsi, kaya akan fitoestrogen. Di Eropa digunakan sebagai pelancar ASI (Simplisia klabet mengandung minyak lemak 20-30%, lendir, trigonelin sebagai basa kuaterner, nikotinamida, kholin,

dan saponin, sapogenin steroid antara lain diosgenin dan dilaporkan mengandung 0,8 – 2,2 % sebagai basa bebas^{4, 5}. Klabet dapat berfungsi sebagai galaktogoga yang baik. Suatu penelitian terhadap 10 wanita, signifikan dapat meningkatkan volume ASI⁶. Protein yang terkandung dalam biji klabet mempunyai angka banding lisin-arginin yang rendah. Selain itu dalam biji klabet terdapat 16 asam amino lain, karbohidrat, serat, mineral. Biji klabet di Indonesia kurang mendapat perhatian untuk dikembangkan menuju arah fitofarmaka atau kearah penemuan obat baru, walaupun potensinya sangat besar. Budidaya klabet sangat mudah, panen dilakukan pada saat tanaman berumur 3-4 bulan, setiap kali panen menghasilkan biji antara 600 – 900 kg untuk setiap hektar lahan⁷.

Sehingga untuk mendapatkan ekstrak dengan mutu yang diharapkan maka perlu dilakukan karakteristik ekstrak sebagai langkah awal untuk menstandarisasi ekstrak. Dengan demikian, maka produk herbal terjamin kualitas mutu ekstrak melalui mutu kadar senyawa identitas dan menetapkan kadar senyawa yang tidak dikehendaki akibat kondisi penanaman, waktu panen, proses pembuatan simplisia dan proses ekstraksi.

BAHAN DAN METODA

Bahan dan Alat

Populasi penelitian adalah tanaman Klabet dan sebagai sampel Biji klabet (*T. foenum-graecum*) yang diperoleh dari petani di Jawa Timur. Determinasi tanaman dilakukan di Pusat Biologi Nasional, LIPI, Bogor. Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah simplisia kering yang berasal dari biji klabet yang telah dikeringkan dan digiling. Serbuk yang diperoleh diayak sehingga menjadi serbuk dengan ukuran mesh 41. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara menimbang serbuk simplisia biji klabet lebih kurang 2000 gram direndam dengan etanol 50 % lebih kurang 10 liter selama 1 hari. Ekstrak yang diperoleh disaring dan hasil saringan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* sampai diperoleh ekstrak kental. Untuk menghilangkan etanol dari ekstrak maka ekstrak kental diuapkan lagi dengan menggunakan *penangas air* pada suhu lebih kurang 40°C. Ampas simplisia direndam lagi dengan 10 liter etanol 50 % selama 1 hari dan diperlakukan seperti tersebut di atas. Hasil keseluruhan ekstrak yang telah diuapkan dengan penangas air disatukan dan ditimbang untuk mendapatkan rendemen.

Alat

Rotavapor, Muffle furnace, Oven, Chamber, plat TLC GF 254, Lampu UV, Densitometer, Spektrofotometer UV-Vis,

Cara Kerja^{5,6,7,8}

Karakterisasi ekstrak

Karakterisasi ekstrak dilakukan dengan 2 tahap yaitu karakteristik non spesifik dan karakteristik spesifik. Karakterisasi non spesifik meliputi :

a. Penetapan Kadar Air

Lebih kurang 10 gram ekstrak dimasukkan ke dalam labu destilasi yang telah

terhubung dengan alat destilasi, yang telah terisi dengan 200 mL toluen. Kemudian panaskan pada suhu 105°C selama 2 jam. Setelah 2 jam diukur volume air yang ditampung pada tabung pengukur.

b. Penetapan Susut Pengerinan

Ditimbang ekstrak lebih kurang 1 gram dimasukkan dalam botol timbang bertutup yang telah ditara. Kemudian dipanaskan pada suhu 110°C sampai berat konstan.

c. Penetapan Kadar Abu Total

Lebih kurang ditimbang 2 gram ekstrak dimasukkan ke dalam krus silica bertutup yang telah ditara. Kemudian dipijarkan dengan panas 700-800°C sampai arang habis kemudian didinginkan ditimbang jika arang tidak habis tambahkan dengan air panas dan disaring. Filtrat dipanaskan sampai berat tetap.

d. Kadar Abu Larut dalam Asam

Hasil penetapan kadar abu total ditambahkan HCl encer 2% secukupnya. Kemudian disaring dipanaskan sampai berat tetap.

Karakterisasi spesifik meliputi :

a. Kadar Sari Larut dalam etanol

Lebih kurang ditimbang 5 gram ekstrak dimasukkan ke dalam botol bertutup dan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL etanol 95 %. Kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 6 jam kemudian disaring. Hasil saringan diambil 20 mL filtrat dan masukkan ke dalam cawan yang sudah ditara. Cawan dipanaskan pada suhu 110°C sampai berat konstan.

b. Kadar Sari Larut dalam Air

Lebih kurang ditimbang 5 g ekstrak dimasukkan ke dalam botol bertutup dan dimaserasi selama 24 jam dengan 100 mL air. Kemudian dikocok dengan menggunakan *shaker* selama 6 jam kemudian disaring. Hasil

saringan diambil 20 mL filtrat dan masukkan ke dalam cawan yang susah ditara. Cawan dipanaskan pada suhu 110°C sampai berat konstan.

c. Kadar Trigonellin Ekstrak

Ekstrak biji klabet ditimbang sejumlah 0,526 gram, dimasukkan ke dalam labu takar dengan volume 10 ml dan encerkan dengan metanol sampai tanda, demikian pula dengan baku pembanding Trigonellin ditimbang sejumlah 0,100 gram dimasukkan dalam labu takar 10 ml dan encerkan dengan metanol sampai tanda. Penetapan kadar alkaloid biji klabet ditetapkan dengan metode KLT (Kromatografi Lapis Tipis) menggunakan larutan pengembang propanol : metanol : air (4 : 1 : 4). Volume total ekstrak biji klabet 5 ul dan volume total baku pembanding Trigonelin 5 ul. Pengukuran kadar dengan alat densitometer. Perhitungan dilakukan dengan rumus sebagai berikut :

$$Cu = \frac{Au}{As} \times Cs$$

Keterangan :

Cu = kadar alkaloid trigonelin dalam ekstrak

Cs = kadar baku pembanding (Trigonelin)

Au = Absorban kromatogram ekstrak pada panjang gelombang 289 nm

As = Absorban kromatogram baku pembanding pada panjang gelombang 289 nm

Uji Kandungan golongan kimia

Tanin

Sejumlah lebih kurang 1 mL ekstrak ditambah 2mL akuades dan 2-3 tetes FeCl₃ dan jika terjadi warna biru tua atau coklat tua menunjukkan adanya tannin.

Saponin

Sejumlah lebih kurang 1 mL ekstrak dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 3 mL akuades kemudian dikocok selama 15 menit untuk diamati, jika terjadi busa setinggi 1 cm yang bertahan selama 15 menit maka menunjukkan adanya saponin.

Steroid

Sejumlah lebih kurang 1 mL ekstrak ditambah kloroform kemudian dikocok ditambahkan akuades biarkan sampai terbentuk dua lapisan. Lapisan pertama kloroform diteteskan pada pelat tetes dan dibiarkan kering, ditambahkan beberapa tetes asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat. Terbentuknya warna biru atau hijau positif steroid.

Sterol – triterpenoid

Sejumlah 1 mL ekstrak ditambah 0,5 mL asam asetat anhidrat dan 0,5 mL kloroform dan selanjutnya ditambah H₂SO₄ pekat setetes demi setetes sebanyak 0,2 mL ke dalam dasar tabung jika terjadi warna ungu maka menunjukkan adanya sterol triterpenoid.

Flavanoid

Sejumlah lebih kurang 1 mL ekstrak ditambah 1-2 mL metanol, dipanaskan pada suhu sekitar 50°C dan setelah dingin ditambahkan logam Mg dan 4-5 tetes HCl pekat. Warna merah atau jingga pada filtrat menunjukkan ada flavanoid.

Alkaloid

Sejumlah lebih kurang 1 mL ekstrak ditambah 1,5 mL HCl 2%, dipanaskan sambil dikocok di atas penangas air kemudian disaring. Filtrat yang diperoleh dibagi 2. Filtrat pertama ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Meyer, sedangkan filtrat kedua ditambahkan 2-3 tetes pereaksi Dragendrof. Adanya senyawa alkaloid ditunjukkan oleh endapan putih dengan pereaksi Meyer dan endapan jingga dengan pereaksi Dragendorf pada masing-masing filtrat.

Fenol

Sejumlah lebih kurang 1 mL larutan ekstrak ditambah 2 mL akuades dan beberapa tetes larutan FeCl₃ perubahan ungu tua pada filtrat menunjukkan adanya fenol.

HASIL

Rendaman ekstrak ditimbang berdasarkan berat akhir setelah ekstraksi selesai dilakukan dibandingkan terhadap jumlah simplisia yang digunakan pada saat ekstraksi. Berat simplisia biji Klabet 2000 gram setelah diekstrak dengan menggunakan etanol 50% didapat berat ekstrak 311,87 gram, sehingga diperoleh rendemen 15,59 %.

Karakterisasi ekstrak biji klabet yang meliputi pemeriksaan : kadar air, susut pengeringan, kadar abu total, kadar abu tidak larut asam, kadar sari larut dalam etanol dan kadar sari larut dalam air (Tabel 1).

Tabel 1. Karakteristik Non Spesifik Ekstrak Biji Klabet

No.	Karakteristik	Persentase ekstrak biji klabet
1.	Kadar air	13,70
2.	Susut pengeringan	20,59
3.	Kadar abu total	1,16
4.	Kadar abu larut asam	0,06
5.	Kadar sari larut dalam etanol	59,58
6.	Kadar sari larut dalam air	47,78

Kadar air ekstrak tidak memenuhi persyaratan karena tidak boleh melebihi 10%, sedangkan kadar ekstrak biji klabet 13,78 %. Kadar air dalam ekstrak yang melebihi 10 % akan memudahkan tumbuhnya jamur dan kemungkinan akan membahayakan kesehatan. Karena itu untuk selanjutnya perlu dilakukan standar kekentalan ekstrak, sehingga kadar airpun dapat diharapkan mencapai kurang dari 10 %. Susut pengeringan mengindikasikan bahwa selain kandungan air yang ikut menguap juga kandungan minyak atsiri dan senyawa-senyawa lain yang mudah menguap. Oleh karena itu kadar susut pengeringan lebih besar dari pada kadar air. Kadar abu total ekstrak mempunyai rentang

tendah yaitu sekitar 1,16 – 3,04 % yang menunjukkan bahwa ekstrak tidak tercemar logam-logam, karena penetapan kadar dengan pemanasan lebih dari 700°C hanya yang tersisa adalah logam, sedangkan kadar abu larut asam menunjukkan adanya logam berat. Pada pemeriksaan kadar abu larut asam nilai lebih kecil yang berarti ekstrak tidak banyak tercemar logam dan logam berat. Kadar sari larut air dan alkohol menunjukkan bahwa senyawa kimia yang diduga berperan dalam menentukan efek dapat tertarik pada penetapan kadar sari. Sehingga semakin tinggi persentase kadar sari maka semakin baik ekstrak tersebut. Persyaratan karakteristik ekstrak belum tercantum dalam buku resmi baik Materia Medika maupun Farmakope Herbal, sehingga standar kedua ekstrak dapat dikembangkan lebih lanjut untuk diusulkan kepada Bina Pelayanan Kefarmasian.

Penetapan kadar alkaloid ekstrak (Trigonelin)

Konsentrasi baku pembanding : 0,1003 g/10 ml = 0,01003 g/ml dan ditotolkan dengan volume 5 ul = 0,01003 g/1000 ul = 0,000010 g/ul x 5/1000 = 0,05 mg/ul

Absorban baku Trigonellin pada panjang gelombang 289 nm = 45348,4

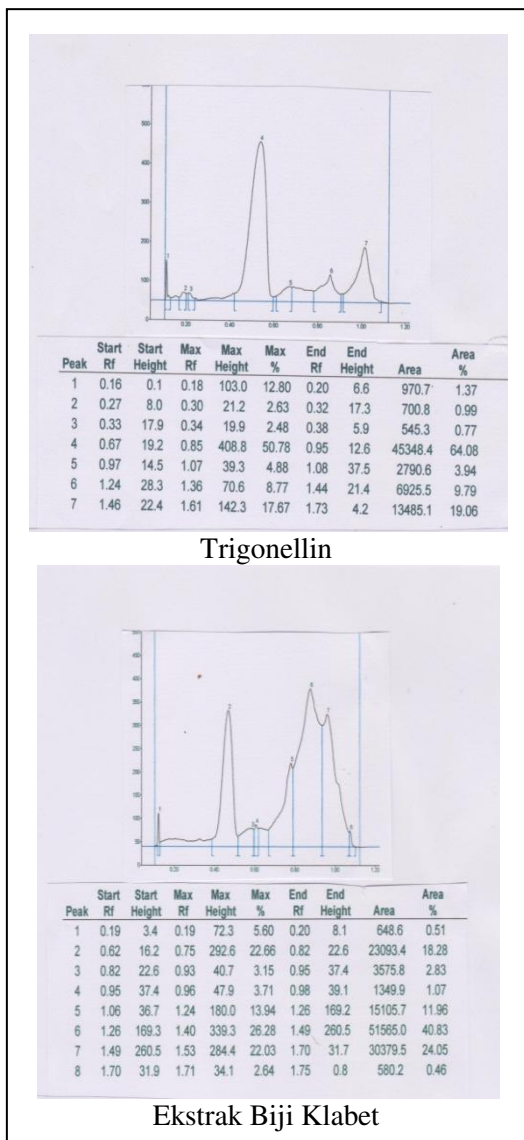
Absorban ekstrak biji klabet pada panjang gelombang 289 nm = 23093,4

Kadar alkaloid trigonellin pada ekstrak biji klabet adalah sebagai berikut :

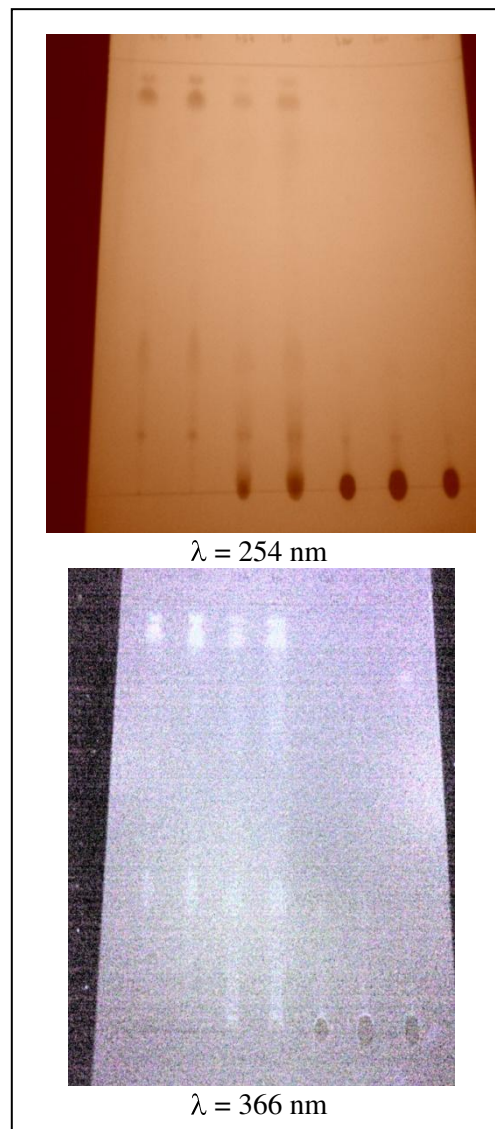
$$\text{Cu} = \frac{23093,4}{45348,4} \times 0,05 \text{ mgr/ul} = 0,02556 \text{ mgr/ul}$$

Ekstrak biji Klabet 0,5263 gr dalam 10 ml metanol = 0,0526 gr/ml = 0,0526/1000 ul
Ditotolkan 5 ul = 0,0526 x 5/1000 = 0,000050 mg/ul = 0,263 mg/ul

$$\frac{0,02556 \text{ mgr/ul}}{0,263} \times 100\% = 9,72 \%$$



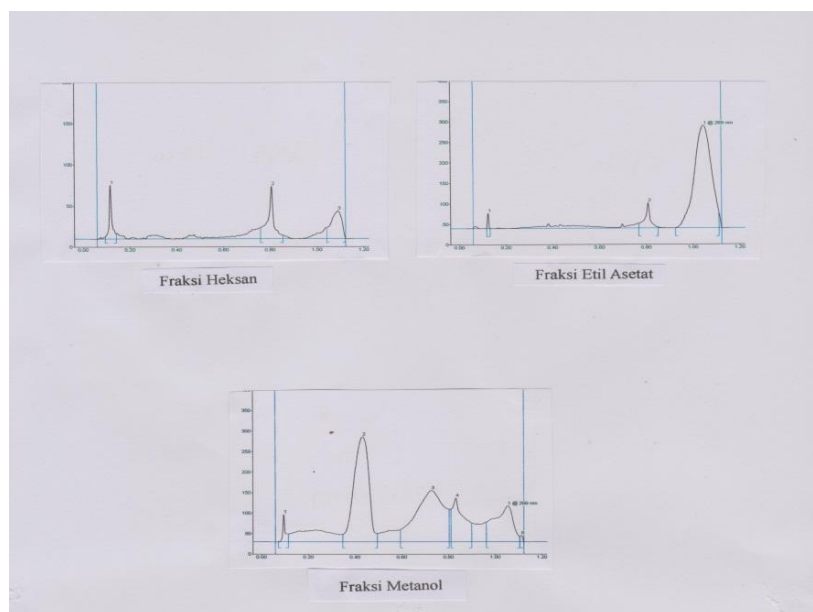
Gambar 1. Kromatogram Densitometri Trigonellin dan Ekstrak Biji Klabet



Gambar 2. Profil kromatogram KLT Ekstrak Biji Klabet ke Tiga Fraksi

Tabel 2 . Hasil perhitungan Rf dan Warna Profil Kromatogram Tiga Fraksi Ekstrak Biji Klabet

No.	Sinar UV 254 nm						Sinar UV 366 nm					
	Fraksi heksan		Fraksi etil asetat		Fraksi etanol		Fraksi heksan		Fraksi etil asetat		Fraksi etanol	
	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna	Rf	Warna
1	-	-	4,5	biru	-	-						
2	-	-	8,7	biru	-	-						
3	-	-	11,4	biru	10,8	biru						
4	-	-	13,3	biru	-	-	14,0	biru f	13,5	Biru f	13,5	Biru f
5	14,8	biru	14,8	biru	14,8	biru	14,7	biru f	14,0	Me rah f	14,0	Me rah f



Gambar 3. Profil Kromatogram Fraksi Heksan, Etil Asetat dan Metanol dari Ekstrak Etanol Biji Klabet pada Panjang Gelombang 289 nm

Tabel 3. Uji Golongan Kimia Ekstrak Biji Klabet

No.	Pengujian golongan senyawa kimia	Ekstrak biji Klabet
1.	Tanin	+
2.	Saponin	+
3.	Steroid	+
4.	Sterol-Triterpenoid	+
5.	Flavanoid	+
6.	Alkaloid	+

Profil kromatogram ekstrak biji klabet

Profil kromatogram ekstrak biji klabet dilihat dari 3 fraksi yaitu fraksi heksan, etil asetat dan fraksi metanol dan ketiganya dilihat pada panjang gelombang 289 nm (Gambar 3). Ekstrak biji klabet mengandung 6 golongan kimia setelah melalui pengujian kimia secara kualitatif. Alkaloid yang terdeteksi adalah alkaloid trigonellin (Tabel 3)

PEMBAHASAN

Kadar air dalam ekstrak yang melebihi 10 % akan memudahkan tumbuhnya jamur dan kemungkinan akan membahaya-

kan kesehatan. Karena itu untuk selanjutnya perlu dilakukan standar kekentalan ekstrak, sehingga kadar airpun dapat dapat diharapkan mencapai kurang dari 10%⁹. Susut pengeringan mengindikasikan bahwa selain kandungan air yang ikut menguap juga kandungan minyak atsiri dan senyawa-senyawa lain yang mudah menguap. Oleh karena itu kadar susut pengeringan lebih besar dari pada kadar air. Kadar abu total ekstrak yang menunjukkan bahwa ekstrak mengandung cemaran logam-logam, karena penetapan kadar dengan pemanasan lebih dari 700°C hanya yang tersisa adalah logam, sedangkan kadar abu larut asam

menunjukkan adanya logam berat yang masih terkandung dalam ekstrak. Pada pemeriksaan kadar abu larut asam nilai lebih kecil yang berarti ekstrak tidak banyak tercemar logam berat. Kadar sari larut air dan alkohol menunjukkan senyawa kimia yang diduga berperan dalam menentukan efek farmakologi. Sehingga semakin tinggi persentase kadar sari maka semakin baik ekstrak tersebut. Persyaratan karakteristik ekstrak belum tercantum dalam buku resmi baik *Materia Medika* maupun *Farmakope Herbal*, sehingga standar ekstrak dapat dikembangkan lebih lanjut untuk diusulkan kepada Bina Pelayanan Kefarmasian.

Ekstrak etanol biji klabet mengandung kadar trigonellin sebesar 9,72 % berdasarkan pengujian dengan menggunakan densitometri. Pengujian densitometri merupakan pengujian semi kuantitatif karena noda kromatogram yang terbentuk kemungkinan masih tercampur dengan senyawa kimia lain yang hampir serupa. Sehingga untuk mendapatkan kadar yang lebih akurat pengujian perlu dikembangkan dengan menggunakan HPLC (*High Performance Liquid Chromatography*). Kadar trigonellin pada ekstrak etanol biji klabet ditetapkan sebagai senyawa identitas dari ekstrak tersebut yang ditentukan untuk menilai mutu ekstrak. Adanya hubungan antara trigonellin dengan efek farmakologi yang ditimbulkan belum terbukti.

Penetapan profil kromatografi pada ke-3 fraksi lebih menunjukkan adanya senyawa kimia yang ada dalam ekstrak yang ditunjukkan dengan adanya jumlah noda kromatogram yang ada pada setiap fraksi. Ini juga penting sebagai penetapan mutu obat tradisional jika penggunaannya dalam bentuk ekstrak, karena pada obat tradisional ternyata terkadang senyawa-senyawa tersebut tidak bekerja sendiri-sendiri untuk dapat menimbulkan efek farmakologi dan jika di-

isolasi senyawa yang diduga menimbulkan efek ternyata tidak menunjukkan efek jika dalam bentuk ekstrak

KESIMPULAN

Karakteristik biji klabet non spesifik : kadar air 13,70 %, kadar abu total 1,16 %, kadar abu tidak larut asam 0,06 % dan susut pengeringan 20,59 %, sedangkan karakteristik non spesifik : kadar sari larut etanol 59,58 %, kadar sari larut air 47,78 %, dan kadar alkaloid total dengan pem-banding zat identitas Trigonellin 13,83 %

DAFTAR RUJUKAN

1. Wirahardja T dan Mulyono MW. Halba Trigonella foenum-graecum L., tumbuhan potensial untuk obat dan industri Farmasi. Prosiding I Seminar Pembudidayaan Tanaman Obat, Purwokerto, Oktober 1985, p. 295-298.
2. Wiryowidagdo S. Kimia dan Farmakologi Bahan Alam, Direktorat Pembinaan Penelitian dan Pengabdian Masyarakat. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Departemen Pendidikan Nasional 2000 : viii + 339 hlm.
3. Sawfford S, Berens B. Effect of fenugreek on breast milk production, ABM News and Views ; 6(3) : Annual meeting abstracts Sept 11-13. 2000.
4. Wirahardja T dan Mulyono MW, Halba Trigonella foenum-graecum L., tumbuhan potensial untuk obat dan industri Farmasi. Prosiding I Seminar Pembudidayaan Tanaman Obat, Purwokerto, Oktober 1985, p. 295-298.
5. Anonim. Parameter Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Edisi I, Departemen Kesehatan RI 2000.
6. Ciulei I. Methodology for Analysis of Vegetable Drugs, Chemical Industries Branch Division. Industrial Operation UNIDO, Bucharest - Rumania : 1984 ; 11 - 23
7. J.B. Harbone. Phytochemical Methods, Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. Toppan Company Limited, Tokyo, Japan 1973.
8. ---, Monografi Ekstrak Tumbuhan Obat Indonesia, Badan Pengawas Obat dan Makanan RI, volume 2.