



Isolasi, Identifikasi dan Uji Sitotoksik Senyawa Flavonoid dari Ekstrak Etil Asetat Daun Binahong (*Anredera Cordifolia* (Tenns) Stennis)

Windi Susmayanti^a, Enny Fachriyah^{a*}, Dewi Kusriani^a

^a Organic Chemistry Laboratory, Chemistry Department, Faculty of Sciences and Mathematics, Diponegoro University, Jalan Prof. Soedarto, Tembalang, Semarang

* Corresponding author: enny.fachriyah@live.undip.ac.id

Article Info	Abstract
<p>Keywords: separation, Madeira vine, <i>Anredera cordifolia</i> (Ten). Steenis, Aurones</p>	<p>Separation of flavonoid compound, identification and toxic test from leaves of Madeira Vine (<i>Anredera cordifolia</i> (Tenns) Stennis) have been conducted. Separation was carried out by Thin Layer Chromatography, Column Chromatography, and preparative Thin Layer Chromatography. Purity test carried out by chromatography Layer Thin and two dimension Thin Layer Chromatography. Identification carried out by UV-Vis Spectrometry and shift reagent, and toxic testing carried out by BSLT (Brine Shrimp Lethality Test). Ethyl Acetate Extract and fraction B column chromatography contain flavonoid compound. Identification isolate using UV-vis and shift reagent showed wavelength 377 nm (band I) and 438 nm (band II). Flavonoid isolate showed Aurones. The structure name of isolate is 4',6,7 Tri-hydroxyl Aurones. Cytotoxic test showed that n-hexan extract, ethylacetate extract, ethanol extract haven't activity because no toxic with LC₅₀ 591,68 ppm, LC₅₀ 611,706 ppm, LC₅₀ 1479,151 ppm and fraction B column chromatography have midly toxic activity with LC₅₀ 58,447 ppm.</p>
<p>Kata kunci: pemisahan, binahong, <i>Anredera cordifolia</i> (Ten). Steenis., Auron</p>	<p>Abstrak Telah dilakukan isolasi, identifikasi dan uji sitotoksik senyawa flavonoid dari ekstrak etil asetat daun binahong (<i>Anredera cordifolia</i> (Tenns) Stennis). Pemisahan dilakukan dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT), Kromatografi kolom, KLT Preparatif. Pengujian kemurnian dilakukan KLT dan KLT 2 dimensi. Analisis dilakukan dengan analisis spektrometri UV-Vis dengan pereaksi geser, sedangkan pengujian sitotoksik menggunakan BSLT (<i>Brine Shrimp Lethality Test</i>). Ekstrak etil asetat dan fraksi B hasil kolom mengandung senyawa flavonoid. Analisis isolat menggunakan spektrometri UV-Vis dengan pereaksi geser menunjukkan panjang gelombang 377nm (pita I) dan 438 nm (pita II) merupakan golongan auron dan senyawa yang terkandung adalah 4',6,7 trihidroksi Auron. Uji sitotoksik menunjukkan hasil ekstrak n-heksana, ekstrak etanol, ekstrak etil asetat tidak bersifat toksik dengan masing-masing LC₅₀ 591,68 ppm, LC₅₀ 1479,151 ppm LC₅₀ 611,706 ppm, dan hasil fraksi B kolom bersifat sedikit toksik dengan LC₅₀ 58,447 ppm.</p>

1. Pendahuluan

Penggunaan obat tradisional cenderung meningkat. Hal ini menandai bahwa kesadaran masyarakat kembali kealam (back to nature) untuk mengatasi penyakit. Salah satu cara untuk memproduksi obat tradisional adalah isolasi senyawa obat langsung dari tanaman obat [1].

Salah satu tumbuhan yang mengandung senyawa obat adalah Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenns) Stennis).

Binahong merupakan salah satu tanaman obat yang banyak tumbuh dan digunakan secara tradisional untuk mengobati berbagai penyakit. Bagian yang sering digunakan adalah daun. Daun binahong dapat digunakan

untuk mengobati penyakit asam urat, stroke, maag, diabetes, radang usus, penyembuh luka). Daun binahong berdasarkan penelitian memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan [2], antibakteri [3], antijamur [4], antidiabetes [5], antiinflamasi [6], antiseptik [7], dan antibakteri [8].

Daun binahong diketahui mengandung flavonoid, polifenol [4], alkaloid [3], steroid [9], Triterpenoid [10]. Senyawa obat dari daun binahong untuk mengobati penyakit adalah senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid dapat dilihat secara kualitatif dari intensitas warna yang tumbuh setelah ditambahkan beberapa pereaksi untuk deteksi senyawa golongan flavonoid [11]. Berdasarkan penelitian senyawa flavonoid pada ekstrak metanol menghasilkan senyawa golongan flavonoid. Senyawa flavonoid yang terkandung didalam ekstrak etil asetat daun binahong belum pernah di teliti dan dipublikasikan.

Jenis senyawa tertentu menjadi ciri khas suatu kelompok tumbuhan. Pada tumbuhan dengan satu family dan genus kemungkinan memiliki kandungan senyawa yang sama [12]. Berdasarkan ilmu kemitaksonomi, pada *Basella rubra* Linn. berfamily Basellaceae mengandung senyawa flavonoid yaitu *apigenin* [13], *kaempferol* dan jenis flavonoid *C-Glycoylflavonoid* [8]. Sedangkan pada daun *Anredera scandens* yang memiliki genus *Anredera* juga mengandung senyawa flavonoid yaitu senyawa *2,4-dihidroksi-6-metoksi-5-formil chalcone* [14]. Oleh karena itu, dapat diduga bahwa daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenns) Stennis) yang berfamily Basellaceae dan bergenus *Anredera* mengandung flavonoid. Untuk itu dilakukan penelitian tentang isolasi dan identifikasi golongan senyawa flavonoid yang terkandung dalam daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenns) Stennis) pada ekstrak etil asetat.

2. Metodologi Penelitian

Alat & Bahan

Alat yang digunakan adalah satu set alat maserator, satu set alat evaporator putar *bucchi*, satu set alat KLT, satu set alat kromatografi kolom, lampu UV 254 dan 366 nm, spektrometer UV, pisau, tempat pengering, alat penyerbuk (blender), neraca analitis, corong pisah, kaki tiga, erlenmeyer, labu ukur, pipet tetes, pipet mikro, botol vial, tabung reaksi, gelas ukur, gelas beker, kaca arloji, kaca pembesar, pengaduk, botol semprot, kertas saring, penggaris.

Bahan yang digunakan dalam penelitian adalah daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenns) Stennis) yang berasal dari Tembalang Semarang, etanol, n-heksana, etil asetat, kloroform, aquades, etanol p.a, HCl 37% p.a, serbuk Mg, amilalkohol p.a, larutan FeCl₃ 1%, ammonia 25% teknis, H₂SO₄ 2 N p.a, H₂SO₄ pekat p.a, pereaksi Meyer (Hg₂Cl₂ p.a, KI p.a), pereaksi Libermann-Burchard (anhidrida asam asetat p.a, H₂SO₄ pekat p.a), silica gel 60 GF₂₅₄, silica gel 60, pereaksi geser (NaOH 2 M, NaOAc, AlCl₃ 5%, HCl, H₃BO₃), larutan Tween-20, garam krosok, telur *Artemia salina*, silica gel 60, pereaksi semprot AlCl₃ 5%.

Isolasi dan Permurnian

Daun binahong sebanyak 2 kg dibersihkan dan diiris-iris tipis. Setelah itu, dikeringkan dan dihaluskan dengan cara diblender. Penyerbukan ini menghasilkan 200 gram. Serbuk daun binahong dimaserasi dengan n-heksana sebagai pelarut. Proses maserasi dilakukan selama 8 kali dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Ekstrak n-heksana dipekatkan dengan evaporator untuk menguapkan pelarut. Setelah dimaserasi n-heksana, residu serbuk daun binahong dikeringkan dan dilakukan maserasi kembali dengan etanol. Proses maserasi dilakukan selama 10 kali dengan penggantian pelarut setiap 24 jam. Kemudian dipekatkan untuk memperoleh ekstrak etanol kental. Ekstrak etanol dipartisi dengan pelarut etil asetat dengan menambahkan aquades (1:1). Kemudian dipisahkan dan diuapkan pelarutnya untuk memperoleh ekstrak etil asetat pekat. Masing-masing ekstrak dilakukan uji penapisan fitokimia.

Ekstrak etil asetat dilakukan pemisahan dengan kromatografi lapis tipis dengan fasa gerak dan fasa diam. fasa gerak berupa perbandingan campuran pelarut kloroform : diklorometana (5:1) dan fasa diam berupa plat silika gel 60 GF₂₅₄. Kemudian dilanjutkan pemisahan skala besar dengan kromatografi kolom yang menggunakan fasa gerak dari KLT dan fasa diam berupa silica gel 60. Kromatografi kolom menghasilkan botol eluat yang dapat digabung menjadi fraksi berdasarkan KLT. Tiap fraksi dilakukan uji flavonoid menggunakan KLT dan penampak bercak (diuapi NH₃ dan penyemprotan AlCl₃). Fraksi B yang positif flavonoid dilakukan pemisahan lebih lanjut menggunakan KLT preparatif. Hasil pita preparatif dilakukan pengerokan dan uji flavonoid. Pita yang positif flavonoid dilakukan preparative kembali untuk memurnikan kembali sehingga isolat yang diduga murni. Isolat murni dilakukan uji kemurnian menggunakan KLT dan KLT 2 dimensi.

Identifikasi Struktur

Identifikasi struktur menggunakan pereaksi geser (NaOH 2 N, AlCl₃, HCl, NaOAc, H₃BO₃). Isolat flavonoid dilarutkan metanol, dilakukan pengukuran spektrum. Larutan flavonoid ditambahkan 3 tetes NaOH 2 N, dilakukan pengukuran spektrum, pendiaman 5 menit dan dilakukan pengukuran spektrum. Larutan flavonoid ditambahkan 6 tetes AlCl₃ 5% dilakukan pengukuran spektrum, kemudian ditambahkan 3 tetes HCl dilakukan pengukuran spektrum. Larutan flavonoid ditambahkan NaOAc dilakukan pengukuran spektrum, kemudian ditambahkan H₃BO₃ dilakukan pengukuran spektrum [11].

Uji Sitotoksik

Telur *Artemia Salina* ditetaskan dalam air laut selama 48 jam sehingga membentuk larva.

Pembuatan konsentrasi 1000,100,10 ppm ekstrak n-heksana, etanol, etil asetat dan fraksi B sebanyak 125 mg menggunakan pengenceran dengan air garam dan Tween-20. Pengujian dilakukan dengan memasukkan 10 larva kedalam botol yang berisi larutan ekstrak. Dilakukan pendiaman selama 24 jam. Setelah itu,

dilakukan perhitungan larva yang mati dan dianalisis menggunakan analisa probit (Spss versi 16) [15].

3. Hasil Dan Pembahasan

Isolasi dan Pemurnian

Persiapan bahan meliputi pembersihan, pengeringan dan penyerbukan bertujuan untuk menghilangkan kotoran, penghilangan air dalam daun yang dapat mengganggu isolasi dan penyerbukan untuk memperluas permukaan. Maserasi n-heksana bertujuan untuk mengikat senyawa nonpolar, maserasi etanol bertujuan untuk mengikat senyawa polar, dan partisi etil asetat bertujuan untuk mengikat senyawa flavonoid. Hasil ekstraksi pada tabel 1 sebagai berikut.

Tabel 1: Hasil ekstraksi

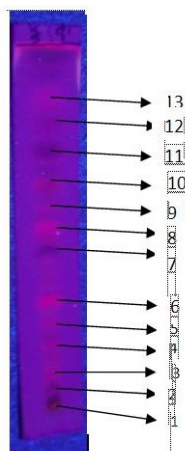
Ekstrak	Berat (gram)	Rendemen (%)	Warna
n-Heksana	1,01	0,505	Coklat Tua
Etanol	12,01	6,05	Hijau Pekat
Etil Asetat	4,02	2,01	Hijau

Penapisan fitokimia bertujuan untuk mengetahui kandungan senyawa yang terdapat pada daun binahong. Hasil Penapisan fitokimia pada tabel 2 sebagai berikut:

Tabel 2: Hasil penapisan fitokimia

Golongan	Flavonoid	Fenolik	Triterpenoid/Steroid	Saponim	Alkaloid
Daun binahong	+	+	+/+	+	-
Ekstrak n-heksana	-	-	+/+	+	+
Ekstrak Etanol	+	+	+/+	-	+
Ekstrak Etil Asetat	+	+	+/+	+	+

Ekstrak etil asetat mengandung positif flavonoid dilakukan KLT untuk bertujuan mengetahui komponen senyawa. KLT menggunakan eluen kloroform : diklorometana (5:1) menunjukkan daya pisah yang baik. Berikut ilustrasi KLT pada gambar 1.



Keterangan : Eluen (kloroform:diklorometana = 5:1: dan pada lampu UV λ = 365 nm

Gambar 1. Ilustrasi KLT

Tabel 3: Harga Rf

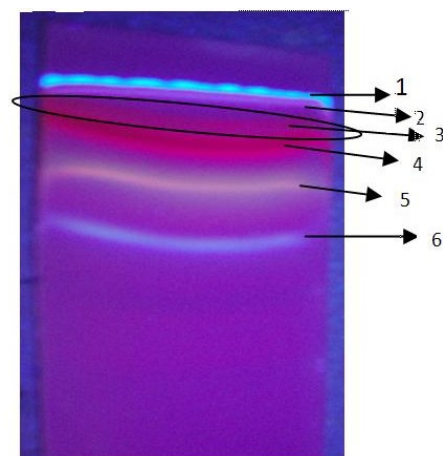
Noda	Warna	Harga Rf
1	Hitam	0,06
2	Merah	0,09
3	Ungu	0,12
4	Merah	0,17
5	Ungu Kehitaman	0,22
6	Hitam	0,29
7	Merah Kekuningan	0,42
8	Pink Keorangean	0,49
9	Hitam	0,58
10	Pink Keorangean	0,68
11	Ungu Kehitaman	0,75
12	Ungu	0,98
13	Merah Kekuningan	0,99

Pemisahan komponen-komponen senyawa dengan kromatografi kolom menggunakan eluen kloroform : diklorometana (5:1) menghasilkan 354 botol eluat. Eluat digabung menjadi 5 fraksi berdasarkan KLT dan menguji flavonoid, sebagai berikut :

Tabel 3: Penggabungan fraksi

Fraksi	Botol	Uji Flavonoid
A	1-11	+
B	12-43	+++
C	44-79	++
D	80-123	+
E	124-354	-

Pengujian flavonoid menunjukkan bahwa fraksi B positif dan lebih dominan. Fraksi B dilakukan KLT preparative menggunakan eluen kloroform : diklorometana: n-heksana (1:1:1) menghasilkan 6 pita. Pita-pita dilakukan pengerokan dan uji flavonoid. Ilustrasi KLT preparatif (1) pada gambar 2.

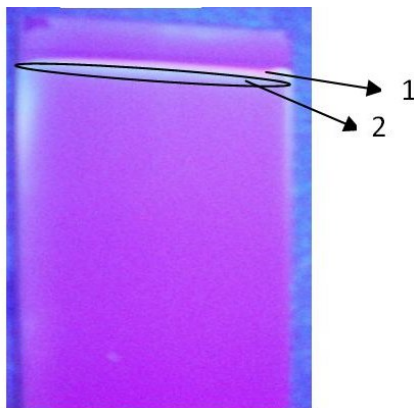


Keterangan : Eluen (kloroform:diklorometana: n-heksana= 1:1:1) dan dilakukan uji flavonoid tiap pita

Gambar 2. Ilustrasi KLT preparatif 1

Uji flavonoid menunjukkan bahwa pita ke-3 lebih dominan mengandung flavonoid. Untuk itu, dilakukan

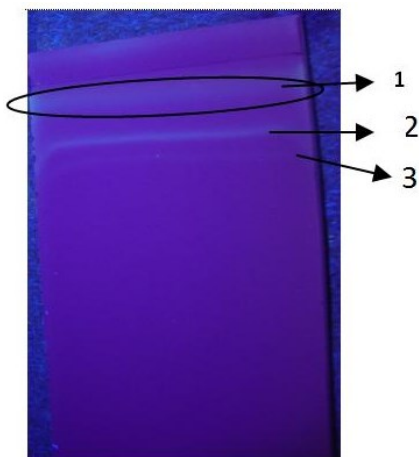
KLT preparatif menggunakan eluen etanol :etil asetat: n-heksana (3:5:8) dan dilakukan uji flavonoid. Ilustrasi KLT preparatif (2) pada gambar 3.



Keterangan : Eluen (etanol: etil asetat: n-heksana= 3:5:8) dan dilakukan uji flavonoid tiap pita

Gambar 3. Ilustrasi KLT preparatif 2

Uji flavonoid menunjukkan bahwa pita ke-2 lebih dominan mengandung flavonoid. Untuk itu, dilakukan KLT preparatif menggunakan eluen etanol dan dilakukan uji flavonoid. Ilustrasi KLT preparatif (2) pada gambar 4.



Keterangan : Eluen (etanol) dan dilakukan uji flavonoid tiap pita

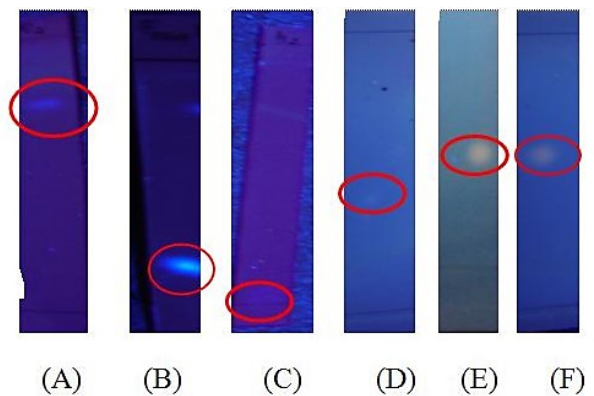
Gambar 3. Ilustrasi KLT preparatif (3)

Keseluruhan pita diujikan flavonoid dengan diuapi NH₃ dan penyemprotan AlCl₃. Pita ke-1 positif mengandung flavonoid. Hal ini ditunjukkan pada perubahan warna. Data perubahan warna isolat pada tabel 4 sebagai berikut.

Tabel 4: Data uji flavonoid isolat

Noda	Warna pita preparatif	Rf	Penguapan NH ₃	Penyemprotan AlCl ₃	Senyawa flavonoid
1	Hijau Kekuningan	0,88	Tanpa perubahan warna	Kuning lebih mencolok	(+) Auron
2	Hijau muda	0,76	Merah	Merah keorangean	(-)
3	Biru tua	0,72	Tanpa perubahan warna	Tanpa perubahan warna	(-)

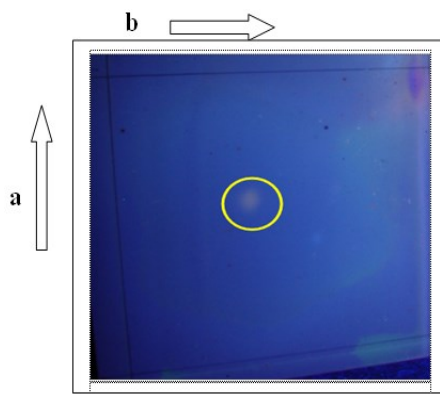
Isolat (kuning kehijauan) diujikan kemurnian menggunakan KLT dengan berbagai pelarut dan KLT 2 dimensi. Hasil KLT berbagai pelarut sebagai berikut.



Keterangan : Eluen A (kloroform: diklorometana = 5:1) B (etil asetat), C (n-heksana), D (etanol: kloroform: n-heksana = 2:1:2), E (etanol: etil asetat: n-heksana = 2:3:2) dan F (etanol: kloroform: n-heksana = 2: 2: 1)

Gambar 5. Hasil uji kemurnian

Berdasarkan hasil uji kemurnian menghasilkan satu noda. Hal ini menunjukkan bahwa isolat murni. Untuk meyakinkan dilakukan KLT 2 dimensi pada gambar 6 sebagai berikut.



Keterangan : KLT dua dimensi. Eluen etanol: etil asetat: n-heksana = 2:3:2) dan etanol: kloroform: n-heksana = 2: 2: 1

Gambar 6. KLT 2 dimensi

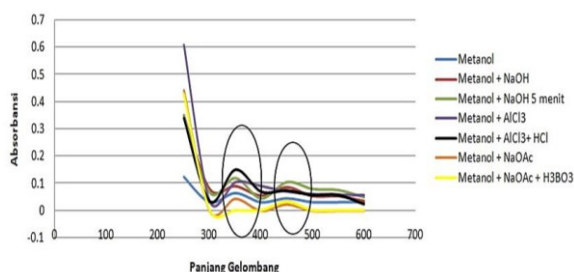
KLT 2 dimensi menggunakan eluen etanol :etilasetat : n-heksana (2:3:2) dan setelah berputar 90° dengan eluen etanol: kloroform :n-heksana (2:2:1). KLT 2 dimensi ini menghasilkan satu noda. Hal ini menunjukkan bahwa isolat tersebut murni.

Identifikasi struktur

Penentuan struktur senyawa flavonoid dalam pita ke-1 hasil preparatif yang ke-3 (hijau kekuningan) dilakukan analisis spektroskopi UV dan pereaksi geser. Berdasarkan data hasil isolat dengan spektroskopi uv dapat diketahui bahwa terjadi adsorpsi cahaya pada panjang gelombang 377 nm pada pita II dan 438 nm pada pita I. Rentang serapan sekitar 370-444 nm pada metanol merupakan senyawa flavonoid golongan auron. Hal ini menjelaskan bahwa adanya eksitasi electron n-η* yang menunjukkan adanya ikatan konjugasi heteroatom dengan system aromatic (-C=C-C=O) dan adanya eksitasi

electron $\pi-\pi^*$ yang menyatakan adanya ikatan konjugasi ($-C=C-C=C-$) [16].

Untuk mengetahui gugus hidroksi pada senyawa flavonoid maka digunakan pereaksi geser. Pereaksi geser tersebut adalah NaOH, AlCl₃, HCl, NaOAc, dan H₃BO₃. Isolat yang diperoleh dilakukan analisis menggunakan spektroskopi uv dengan pereaksi geser. Hasil analisis spektroskopi uv terhadap isolat dengan penambahan pereaksi geser dapat dilihat pada gambar 7.



Gambar 7. Spektrum UV-vis

Data spektrum hasil analisis uv-vis pada tabel 7 sebagai berikut.

Tabel 7: Data hasil analisis UV-vis

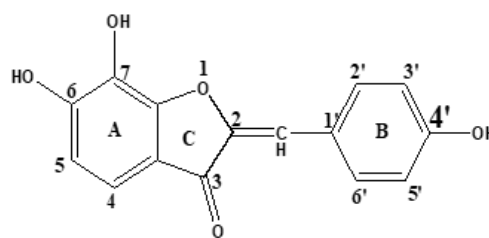
Penambahan Reagen	Pita I		Pita II		Keterangan
	438	377	Pita I	Pita II	
Metanol	438	377	-	-	Auron
+ NaOH	555	488	117	111	4' OH pada cincin B
+ NaOH 5 menit	580	406,5	142	89,5	4' OH pada cincin B
+ AlCl ₃	440	385	2	8	Ortodihidroksi pada cincin A (6 dan 7 OH)
+ AlCl ₃ + HCl	446	358	8	-19	Ortodihidroksi pada cincin A (6 dan 7 OH)
+ NaOAc	252	215	-182	-162	6 OH dan 7 OH
+ NaOAc + H ₃ BO ₃	252	221	-182	-157	Ortodihidroksi pada cincin A (6 dan 7 OH)

Letak hidoksi pada struktur dengan penambahan pereaksi geser NaOH menunjukkan ada pergeseran batokromik sebesar 117 nm tanpa kenaikan kekuatan. Hal ini menunjukkan adanya 4'OH pada cincin B. Pada penambahan AlCl₃ menunjukkan pergeseran 2 nm pada pita I menunjukkan adanya gugus ortodihidroksi pada cincin A. Al³⁺ dapat membentuk kompleks tidak tahan asam pada gugus ortodihidroksi.

Sedangkan pada penambahan HCl terjadi pergeseran batokromik sebesar 8 nm. Hal ini menunjukkan adanya gugus kompleks dihidroksi.

Penambahan NaOAc mengalami pergeseran hipsokromik sebesar 168 nm menunjukkan adanya ortodihidroksi pada 6-OH dan 7-OH. Hali ini diperkuat oleh H₃BO₃ adanya pergeseran hipsokromik lebih kecil menunjukkan adanya ortodihidroksi pada cincin A (6' OH dan 7' OH).

Berdasarkan hasil spektrum UV-vis dan penambahan pereaksi geser menunjukkan bahwa hasil isolasi memiliki nama struktur 4',6,7-trihidroksi auron. Gambar struktur dapat dilihat pada gambar 8 sebagai berikut.



Gambar 8. Struktur hasil isolasi

Uji Sitotoksik

Uji sitotoksik dilakukan pada ekstrak n-heksana, ekstrak etanol, ekstrak etil asetat, dan hasil kolom fraksi B menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*). Metode ini sangat sederhana dan berfungsi untuk menunjukkan potensi aktifitas senyawa. Hasil uji BSLT ini ditunjukkan analisis probit nilai LC₅₀.

Berdasarkan penelitian, ekstrak n-heksana dan ekstrak etil asetat, ekstrak etanol menunjukkan nilai LC₅₀ 591,618 ppm dan 611,706 ppm yang menunjukkan nilai LC₅₀ 1479,151 ppm tidak berpotensi karena tidak toksik, sedangkan hasil kolom fraksi B menunjukkan nilai LC₅₀ sebesar 58,447 ppm yang beraktivitas sedikit toksik.

4. Kesimpulan

Hasil isolasi dan identifikasi dari daun binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) diperoleh senyawa flavonoid golongan Auron yaitu 4',6,7 Trihidroksi Auron. Hasil uji sitotoksik dengan metode BSLT menunjukkan berbagai aktivitas. Ekstrak n-heksana, ekstrak etil asetat dan ekstrak etanol tidak bersifat toksik sedangkan hasil fraksi B memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

5. Daftar Pustaka

- [1] P Tarigan, Beberapa Aspek Kimia Sapogenin Steroid pada Tumbuhan di Indonesia, *Alumni, Bandung*, (1980)
- [2] Salmah Orbayinah, Efikasi Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steenis) terhadap Kadar Alkaline Phosphatase, UMY, Yogyakarta
- [3] TE Tshikalange, JJM Meyer, AA Hussein, Antimicrobial activity, toxicity and the isolation of a bioactive compound from plants used to treat sexually transmitted diseases, *Journal of Ethnopharmacology*, 96, 3, (2005) 515-519 <http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2004.09.057>
- [4] Nita Rochani, Uji Aktivitas Antijamur Ekstrak Daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen) terhadap *Candida albicans* serta Skrining Fitokimianya, Universitas Muhammadiyah Surakarta,
- [5] M. Alfin, Uji Aktivitas Antimicrobia terhadap senyawa triterponoid pada daun Binahong (*Anredera cordifolia* (Tenore) Steen), skripsi, Chemistry,

Fakultas Farmasi universitas Muhammadiyah
Surakarta, Surakarta

- [6] León F Villegas, Irma D Fernández, Holger Maldonado, Rosa Torres, Alfonso Zavaleta, Abraham J Vaisberg, Gerald B Hammond, Evaluation of the wound-healing activity of selected traditional medicinal plants from Peru, *Journal of ethnopharmacology*, 55, 3, (1997) 193-200 [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(96\)01500-0](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(96)01500-0)
- [7] MP Tornos, MT Sáenz, MD García, MA Fernández, Antinociceptive effects of the tubercles of *Anredera leptostachys*, *Journal of ethnopharmacology*, 68, 1, (1999) 229-234 [http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741\(99\)00098-7](http://dx.doi.org/10.1016/S0378-8741(99)00098-7)
- [8] Ray-Yu Yang, Shou Lin, George Kuo, Content and distribution of flavonoids among 91 edible plant species, *Asia Pacific journal of clinical nutrition*, 17, S1, (2008) 275-279 <http://dx.doi.org/10.6133/apjcn.2008.17.s1.66>
- [9] Satya B Paul, Sumeru Singha, Isolation and identification of physiologically important Sterols and sterol glucoside from *Basella rubra* Linn, *Assam University Journal of Science and Technology*, 5, 1, (2010) 120-122
- [10] Alfonso Espada, Ricardo Riguera, Carlos Jiménez, Boussingoside E, a new triterpenoid saponin from the tubers of *Boussingaultia baselloides*, *Journal of Natural Products*, 60, 1, (1997) 17-19 <http://dx.doi.org/10.1021/np960392g>
- [11] KR Markham, Cara mengidentifikasi flavonoid, Bandung: ITB, (1988)
- [12] JB Harbone, Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan, *alih bahasa Padmawinata, K., terbitan ke, 2*, (1987)
- [13] Seema Bhagwat, David B Haytowitz, Joanne M Holden, USDA database for the flavonoid content of selected foods, Release 3.1, *US Department of Agriculture: Beltsville, MD, USA*, (2014)
- [14] Fernando Calzada, Rachel Mata, Robert Bye, Edelmira Linares, A retrochalcone from *Anredera scandens*, *Phytochemistry*, 29, 8, (1990) 2737-2738 [http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422\(90\)85235-8](http://dx.doi.org/10.1016/0031-9422(90)85235-8)
- [15] B. N. Meyer, N. R. Ferrigni, J. E. Putnam, L. B. Jacobsen, D. E. Nichols, J. L. McLaughlin, Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Med*, 45, 05, (1982) 31-34 <http://dx.doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- [16] Hardjono Sastrohamidjojo, Spektroskopi, Yogyakarta: Liberty, (1991)