

Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Hem dari Fraksi *n*-Heksana Daun Manuran (*Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne) Asal Kotabaru Kalimantan Selatan

Arnida¹, Sutomo¹, dan Utsna Uhdatul Khoriah¹

¹ Program Studi Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Lambung Mangkurat

Jl. A. Yani Km 36 Kampus UNLAM Banjarbaru Kalimantan Selatan

Email: arnida01@ulm.ac.id

ABSTRAK

Coptosapelta tomentosa Valetton ex K. Heyne merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari Kotabaru, Kalimantan Selatan yang berpotensi sebagai antimalaria. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan kandungan senyawa kimia dan aktivitas penghambatan polimerisasi hem dari fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne. Identifikasi kandungan senyawa kimia dilakukan dengan metode uji tabung sedangkan aktivitas penghambatan polimerisasi hem secara *in vitro* dilakukan dengan metode *Basillico* yang dimodifikasi. Hasil uji skrining fitokimia dan uji Kromatografi Lapis Tipis pada fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne mengandung senyawa steroid, terpenoid, flavonoid, dan antrakuinon. Persentase penghambatan polimerisasi yang didapatkan dari fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne dengan konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL secara berturut-turut yaitu 98,267; 97,530; 96,001; 93,274; 89,036%; 80,965; 50,322%. Rerata IC₅₀ fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne sebesar $0,196 \pm 0,009$ mg/mL dan klorokuin difosfat sebesar $0,214 \pm 0,012$ mg/mL. Analisis dengan *independent sample t-test* menyatakan tidak terdapat perbedaan yang signifikan antara keduanya dengan nilai signifikansi sebesar 0,110. Hal ini menunjukkan bahwa fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem.

Kata Kunci : *Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne, Polimerisasi hem, fraksi *n*-heksana, skrining fitokimia, KLT.

ABSTRACT

Coptosapelta tomentosa Valetton ex K. Heyne is one of the native plants Kotabaru, Kalimantan Selatan which has potential as antimalarial. This study aimed to determine the

chemical content and heme polymerization inhibition activity of Manuran leaf n-hexane fraction. Identification of these compound contents used tube test while the inhibitory activity of heme polymerization in vitro did by Basillico modified method. The results of phytochemical screening test and Thin Layer Chromatography test on the *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne leaf n-hexane fraction in this study was positive steroid, terpenoid, flavonoid, and anthraquinone compounds. Percentage polymerization inhibition obtained from the *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne leaf n-hexane fraction with concentration 20; 10; 5; 2.5; 1.25; 0.625; 0.3125 mg/mL, respectively, i.e. 98.267; 97.530; 96.001; 93.274; 89.036%; 80.965; 50.322%. The average of IC_{50} on *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne n-hexane fraction was 0.196 ± 0.009 mg /mL, and chloroquine diphosphate was 0.214 ± 0.012 mg/mL. Analysis with independent sample t-test declare, there is no difference between both of them with a significance value is 0,110. This result showed *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne leaf n-hexane fraction and chloroquine had heme polymerization inhibitory activity as well.

Keywords: *Coptosapelta tomentosa* Valetton ex K. Heyne, Heme polymerization, n-hexane fraction, phytochemical screening, TLC.

I. PENDAHULUAN

Penghambatan polimerisasi hem pada suatu bahan alam berhubungan dengan potensinya sebagai antimalaria. Plasmodium mendegradasi hemoglobin eritrosite menjadi asam amino dan hem. Plasmodium memerlukan asam amino untuk pertahanan hidupnya, sedangkan hem bersifat toksik bagi pertahanan hidupnya, sehingga Plasmodium mengubah hem menjadi hemozoin yang tidak bersifat toksik. Perubahan hem menjadi hemozoin dikenal dengan proses polimerisasi hem (Huyetial, 2007).

Coptosapelta tomentosa Valetton ex K. Heyne merupakan salah satu tumbuhan yang berasal dari Kotabaru, Kalimantan Selatan. Ekstrak etanol daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne terbukti memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi hem (Ningsih,

2017). Pemisahan kandungan kimia terhadap ekstrak etanol *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne dilakukan dengan fraksinasi. Berdasarkan informasi di atas, identifikasi kandungan senyawa kimia dan pengujian aktivitas penghambatan polimerisasi hem dari fraksi n-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne perlu dilakukan.

II. METODE PENELITIAN

A. Pengumpulan dan Pengolahan Simplisia Daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne

Sampel yang telah dikumpulkan disortasi basah dengan dipisahkan antara daun dan bagian tumbuhan yang lain. Bagian yang ingin digunakan adalah daun yang segar dan tidak rusak. Kemudian dicuci dengan air mengalir agar daun terbebas dari kotoran. Daun yang sudah dicuci dipotong-potong

menjadi haksel, kemudian haksel dikeringanginkan pada suhu ruang. Setelah haksel kering maka dilakukan sortasi kering agar bersih dari pengotor. Simplisia kemudian dihaluskan hingga menjadi serbuk kasar. Serbuk kasar disimpan dalam wadah terhindar dari cahaya matahari.

B. Pembuatan Ekstrak Etanol Daun

C. *tomentosa* Valetton ex K. Heyne

Serbuk simplisia daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne ditimbang sebanyak 193,73 g, dimaserasi dengan pelarut etanol 96% hingga sekitar 1 cm di atas permukaan sampel selama 24 jam sambil sesekali dilakukan pengadukan, dilakukan remaserasi sebanyak 4x24 jam. Hasil maserasi dipisahkan dengan cara disaring menggunakan kertas Whatman No. 1 dan diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator*, selanjutnya diuapkan dengan *waterbath* hingga didapat ekstrak kental. (Utami *et al.*, 2012).

C. Pembuatan Fraksi *n*-heksana Daun

C. *tomentosa* Valetton ex K. Heyne

Ekstrak etanol kental sebanyak 10 g disuspensikan dalam akuades 40 mL (1:4) dan dihomogenkan. Campuran dimasukkan ke dalam corong pisah dan ditambahkan 40 mL (1:4) pelarut *n*-heksana, kemudian digojog dan didiamkan hingga terbentuk 2 lapisan. Lapisan bagian atas adalah fraksi *n*-heksana dan fraksi air berada pada lapisan bawah (Ambarsari, 2013). Proses fraksinasi dengan *n*-heksana dilakukan hingga

fraksinasi dinyatakan selesai. Fraksinasi ini dilakukan sebanyak 9 kali replikasi dan fraksi *n*-heksana yang diperoleh diuapkan sampai didapatkan fraksi kental.

D. Skrining Fitokimia

1. **Alkaloid:** Sebanyak 2 mL larutan fraksi *n*-heksana ditambahkan dengan HCl 2 N kemudian larutan dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi yang berbeda. Tabung pertama ditambahkan pereaksi Mayer sebanyak 3 tetes dan tabung kedua ditambahkan pereaksi Dragendorff sebanyak 3 tetes. Jika tabung 1 terbentuk endapan putih kuning dan pada tabung 2 terbentuk endapan jingga menunjukkan adanya alkaloid (Harborne, 2006).
2. **Flavonoid:** Sebanyak 2 tetes larutan fraksi *n*-heksana diteteskan pada kertas saring, kemudian dilewatkan pada tabung reaksi yang berisi ammonia. Perubahan warna kertas saring menjadi kuning atau jingga menandakan adanya flavonoid (Harborne, 2006).
3. **Terpenoid dan steroid:** Sebanyak 2 mL fraksi *n*-heksana ditambah pereaksi Lieberman Burchard. Hasil positif adanya terpenoid ditandai dengan adanya cincin kecoklatan atau violet, sedangkan adanya steroid ditandai dengan perubahan warna menjadi hijau kebiruan (Ikalinus *et al.*, 2015).
4. **Tanin:** Sebanyak 10 tetes fraksi *n*-heksana dari sampel ditambahkan 2 tetes FeCl₃ 1%.

Hasil positif apabila terjadi perubahan warna larutan menjadi biru tua atau hijau kehitaman (Kusumawati *et al.*, 2017).

5. **Saponin:** Sebanyak 5 tetes fraksi *n*-heksana dari sampel ditambahkan air panas dan dikocok selama 15 menit. jika terbentuk busa permanen memberikan indikasi adanya saponin (Kusumawati *et al.*, 2017).
6. **Antrakuinon:** Sebanyak 2 mL fraksi *n*-heksana dari sampel ditambah dengan 1 mL KOH-metanol 10% hasil positif jika larutan tersebut akan berubah warna menjadi merah (Kristanti *et al.*, 2008).

Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Fase diam yang digunakan pada penelitian ini adalah plat silika gel GF₂₅₄, dan fase gerak yang digunakan adalah *n*-heksana : etil asetat (7:3) v/v. Pengamatan dilakukan di bawah sinar UV 254 dan 366 sedangkan penampakan noda yang digunakan adalah sebagai berikut :

1. **Alkaloid:** Kromatogram disemprot dengan pereaksi Dragendorff. Apabila positif menghasilkan noda berwarna coklat atau jingga (Sani *et al.*, 2014).
2. **Flavonoid:** Kromatogram diberikan penampak noda yaitu uap ammonia. Apabila menimbulkan noda berwarna kuning (cepat memudar) maka mengandung flavonoid (Sani *et al.*, 2014).
3. **Steroid:** Kromatogram disemprot dengan penampak noda, yaitu Lieberman

burchard. Apabila muncul noda berwarna hijau-biru maka positif mengandung senyawa steroid (Yuda *et al.*, 2012)

4. **Terpenoid:** Kromatogram disemprot dengan penampak noda yaitu anisaldehyd asam sulfat. Jika menghasilkan warna ungu-merah atau ungu setelah penyemprotan pereaksi menunjukkan adanya terpenoid/steroid dalam sampel (Marliana, 2007).
5. **Antrakuinon:** Kromatogram disemprot dengan pereaksi semprot kalium hidroksida metanolik. Apabila memberikan warna violet merah maka hasil dikatakan positif mengandung senyawa antrakuinon (Wagner & Bland, 1996).

Pembuatan kurva baku hematin

Seri konsentrasi hematin dibuat dengan konsentrasi 250; 125; 62,5; 31,25; 15,625; 7,8125 dan 3,90625 μ M dalam lautan NaOH 0,1 M dari larutan hematin 1 mM (dalam larutan NaOH 0,2M). Masing-masing konsentrasi dibuat sebanyak 800 μ L. Masing-masing konsentrasi tersebut dimasukkan sebanyak 100 μ L ke dalam mikroplate 96 sumuran, dilakukan 3 kali replikasi. Pembacaan absorbansi menggunakan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm (Purwanto, 2011).

Pembuatan seri konsentrasi sampel

Stok larutan sampel dengan konsentrasi 20 mg/mL dibuat dengan ditimbang sebanyak 20 mg, dimasukkan ke dalam mikrotube 1,5

mL, ditambahkan DMSO 10% hingga 1 mL, lalu digojok dan divortex hingga homogen. Seri konsentrasi sampel dibuat dari konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL dengan pengenceran bertingkat menggunakan DMSO 10% (Ningsih, 2017).

Uji aktivitas penghambatan polimerisasi hem

Larutan hematin 1 mM sebanyak 200 μ L dimasukkan ke dalam mikrotube, ditambahkan bahan uji sebanyak 100 μ L dari berbagai tingkatan kadar, yaitu 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; dan 0,3125 mg/mL untuk fraksi n-heksana dan klorokuin difosfat. Larutan asam asetat glasial 100% sebanyak 100 μ L ditambahkan untuk memulai reaksi polimerisasi hem, lalu di-*vortex* dan diinkubasi pada suhu 37° C selama 24 jam. Kontrol negatif adalah larutan DMSO 10% untuk fraksi n-heksana dan akuades sebagai kontrol negatif untuk klorokuin difosfat. Setelah inkubasi berakhir mikrotube disentrifuse, supernatan dibuang dan endapan yang terbentuk dicuci dengan 400 μ L DMSO 100% kemudian divortex menggunakan *vortex mixer*. Pencucian dilakukan sebanyak 3 kali dengan cara disentrifuse berkecepatan 8000 rpm selama 10 menit. Endapan yang diperoleh ditambahkan dengan 400 μ L NaOH 0,1 M, di-*vortex* sampai larutan homogen, larutan dipipet sebanyak 100 μ L dan dimasukkan ke dalam mikroplate 96

sumuran, dilakukan 3 kali replikasi dan absorbansinya dibaca dengan ELISA *reader* pada panjang gelombang 405 nm. Nilai absorbansi yang diperoleh diplot ke persamaan garis regresi linear kurva baku sehingga dapat ditentukan konsentrasi β -hematin bahan uji pada setiap sumuran (Purwanto, 2011).

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

A. Ekstraksi dan Fraksinasi

Serbuk simplisia daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne sebanyak 193,73 gram yang telah dimaserasi menghasilkan ekstrak kental sebanyak 12,35 gram. Rendemen ekstrak etanol yang diperoleh yaitu 6,37%. Ekstrak kental etanol ditimbang sebanyak 10 gram kemudian difraksinasi dengan pelarut n-heksana. Fraksi n-heksana kental yang didapat sebesar 2,32 gram Rendemen fraksi n-heksana yang diperoleh sebesar 23,2 %.

B. Hasil Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia fraksi n-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne positif mengandung senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, dan antrakuinon, sedangkan alkaloid, tanin, dan saponin menunjukkan hasil negatif (Tabel 1). Penelitian ekstrak etanol daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne positif mengandung senyawa flavonoid, tanin, saponin, antrakuinon, dan terpenoid (Ningsih, 2017). Hal ini menunjukkan bahwa pelarut n-heksana menarik senyawa

yang bersifat non polar sesuai dengan sifat yang dimilikinya (Gritter et al., 1987).

Tabel 1. Hasil skrining fitokimia dari fraksi n-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex. K. Heyne

| Golongan | Senyawa | Jenis Pereaksi | Hasil |
|-------------|---------|-------------------|-------|
| Alkaloid | | Meyer | - |
| | | Dragendorff | - |
| Flavonoid | | Ammonia | + |
| | | Lieberman | + |
| Steroid | | Burchard | + |
| | | Lieberman | + |
| Terpenoid | | Burchard | + |
| | | | |
| Tanin | | FeCl ₃ | - |
| Saponin | | Tes busa | - |
| Antrakuinon | | KOH | + |

C. Hasil Identifikasi Kromatografi Lapis Tipis

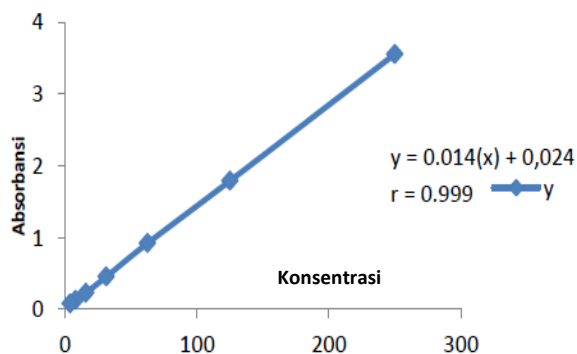
Identifikasi KLT dilakukan bertujuan untuk memperkuat hasil skrining fitokimia yang telah dilakukan. Berdasarkan hasil identifikasi KLT, fraksi n-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne positif mengandung senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, dan antrakuinon (Tabel 2). Hal ini menunjukkan kesesuaian hasil dengan pengujian pada skrining fitokimia yang telah dilakukan sebelumnya.

Table 2. Hasil identifikasi kromatografi lapis tipis dari fraksi n-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex. K. Heyne

| Senyawa | Penampak bercak | Warna Bercak | Kesimpulan |
|-------------|-----------------|--------------|--------------|
| Alkaloid | Dragendorff | - | (-) |
| Flavonoid | Uap ammonia | Jingga | (+) |
| Steroid | Lieberman | Hijau- | (+) kebiruan |
| | burchard | | |
| Terpenoid | Anisaldehyd- | Merah- | (-) ungu |
| | asam Sulfat | | |
| Antrakuinon | KOH- | Merah | (+) |
| | metanolik | | |

D. Penghambatan Polimerisasi Hem

Hasil absorbansi kurva baku hematin secara berturut-turut dari konsentrasi terbesar, yaitu 3,553; 1,791; 0,923; 0,458; 0,231; 0,134; dan 0,086. Absorbansi yang tinggi menandakan banyaknya hemozoin atau dalam hal ini kristal-hematin yang terbentuk (Arnida & Sutomo, 2017). Persamaan regresi yang didapatkan pada penelitian ini adalah $y = 0,014x + 0,024$. Syarat linieritas kurva baku jika nilai $r > 0,9970$ (Gandjar & Rohman, 2013). Berdasarkan syarat tersebut maka kurva baku pada penelitian ini telah memenuhi syarat (Gambar 1). Penentuan kadar β -hematin diperoleh dengan cara memasukkan data absorbansi masing-masing bahan uji dan kontrol ke dalam persamaan kurva baku hematin, dimana y adalah absorbansi dan x adalah kadar β -hematin.



Gambar 1. Kurva baku hematin

Kadar β -hematin yang diperoleh berbanding terbalik dengan konsentrasi fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne, yaitu semakin tinggi konsentrasi fraksi *n*-heksana, semakin rendah kadar β -hematin yang terbentuk (Tabel 3). Kadar β -hematin digunakan untuk menentukan persentase penghambatan polimerisasi hem.

Nilai persen penghambatan selanjutnya dianalisis probit untuk menentukan nilai IC_{50} pada setiap perlakuan. *Inhibition Concentration 50%* (IC_{50}) yaitu kadar bahan uji yang mampu menghambat polimerisasi hem hingga 50%.

Nilai IC_{50} berbanding terbalik dengan aktivitas penghambatan polimerisasi hem.

Semakin kecil nilai IC_{50} yang dimiliki maka semakin besar penghambatan polimerisasi hemnya (Tabel 3). Rerata IC_{50} pada fraksi *n*-heksana sebesar $0,196 \pm 0,009$ mg/mL dan pada klorokuin difosfat sebesar $0,214 \pm 0,012$ mg/mL. Nilai IC_{50} fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne lebih kecil dari pada nilai IC_{50} klorokuin difosfat. Berdasarkan literatur diketahui bahwa semakin kecil nilai IC_{50} menunjukkan semakin besar aktivitas penghambatan polimerisasi hem (Salenusca *et al.*, 2014). Nilai IC_{50} diuji *Independent Sample t-test* dengan tingkat kepercayaan 95%. Nilai signifikansi pada uji t tersebut sebesar 0,110 ($> 0,05$), berarti H_0 diterima artinya tidak ada perbedaan yang signifikan antara nilai IC_{50} fraksi *n*-heksana dengan klorokuin difosfat. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwa nilai IC_{50} fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne memiliki aktivitas yang sebanding dengan klorokuin difosfat dalam menghambat polimerisasi hem.

Tabel 3. Rerata kadar β -hematin, persen penghambatan, dan IC₅₀ dari bahan uji

| Bahan Uji | Konsentrasi (mg/mL) | Rerata Kadar β -Hematin (μ M) \pm SD | Rerata % Penghambatan \pm SD | IC ₅₀ (mg/mL) |
|--------------------------|---------------------|---|--------------------------------|--------------------------|
| Fraksi <i>n</i> -heksana | 20 | 2,238 \pm 0,11 | 98,268 \pm 0,084 | 0,196 \pm 0,009 |
| | 10 | 3,190 \pm 0,04 | 97,531 \pm 0,032 | |
| | 5 | 5,167 \pm 0,08 | 96,001 \pm 0,064 | |
| | 2,5 | 8,690 \pm 0,16 | 93,274 \pm 0,128 | |
| | 1,25 | 14,167 \pm 0,22 | 89,036 \pm 0,169 | |
| | 0,625 | 24,595 \pm 0,46 | 80,966 \pm 0,355 | |
| | 0,3125 | 64,190 \pm 1,40 | 50,322 \pm 1,087 | |
| | 20 | 2,310 \pm 0,109 | 98,170 \pm 0,086 | |
| Klorokuin | 10 | 3,476 \pm 0,149 | 97,246 \pm 0,118 | 0,214 \pm 0,012 |
| | 5 | 5,667 \pm 0,230 | 95,510 \pm 0,182 | |
| | 2,5 | 9,619 \pm 0,330 | 92,379 \pm 0,261 | |
| | 1,25 | 15,738 \pm 0,918 | 87,531 \pm 0,728 | |
| | 0,625 | 27,024 \pm 0,723 | 78,589 \pm 0,572 | |
| | 0,3125 | 64,452 \pm 1,940 | 48,934 \pm 1,537 | |

IV. KESIMPULAN

1. Fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne mengandung senyawa flavonoid, steroid, terpenoid, dan antrakuinon.
2. Persentase penghambatan polimerisasi hem fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne pada konsentrasi 20; 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125 mg/mL rerata secara berturut-turut yaitu 98,267; 97,530; 96,001; 93,274; 89,036; 80,965; 50,322%.
3. Fraksi *n*-heksana daun *C. tomentosa* Valetton ex K. Heyne memiliki aktivitas penghambatan polimerisasi

hem dengan IC₅₀ sebesar 0,196 \pm 0,009 mg/mL.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih atas segala kerjasamanya kepada Lia Rosyida, Siti Humairah, Silfia Rizki Maulida. Terima kasih kepada Kemenristekdikti melalui hibah PPT atas dukungan pembiayaan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ambarsari, M.A. 2013. Aktivitas Antibakteri Fraksi *n*-Heksan Ekstrak Etanol Daging Buah Sirsak (*Annona mucirata* L) terhadap *Pseudomonas*

- aeruginosa, *Staphylococcus aureus*, *Sligella sonnei* dan Serta Bioautografinya. *Naskah Publikasi Universitas Muhammadiyah Surakarta*, Surakarta.
- Arnida & Sutomo. 2017. In Vitro Antiplasmodial Activity of Ethanol Extract of Manuran (*Coptosapelta tomentosa* Valetton Ex K. Heyne) Roots. *RJPBCS*. **8** : 43-48
- 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.
- Gandjar, I. G. & Rohman, A. 2013. *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar, Yogyakarta.
- Gritter, R. J., J. M. Bobbits & A. E. Schwarting. 1987. *Introduction to Chromatography (Pengantar Kromatografi)*. Edisi ke-2, diterjemahkan oleh K. Padmawinata, Bandung : Penerbit ITB.
- Harborne, J.B. 2006. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Edisi ke-2. Penerbit ITB, Bandung.
- Hayati, E. K., A. Jannah, & R. Ningsih. 2012. Identifikasi Senyawa dan Aktivitas Malaria *In Vivo* Ekstrak Etil Asetat Tanman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) *Molekul*. **7**:20-32.
- Huy, N.T., A. Maeda, D.T. Uyen, D.T.X. Trang, M. Sasai, T. Shiono, T. Oida, S. Harada, & K. Kamei. 2007. Alcohols Induce β -hematin Formation Via The Dissociation of Aggregated Hem and Reduction in Interfacial Tension of the Solution. *Acta Tropica*. **101**: 130–138.
- Ikalinus, R., S.K. Widyastuti, & N.L.E. Setiasih. 2015. Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Kulit Batang Kelor (*Moringa oleifera*). *Indonesia Medicus Veterinus*. **4**(1): 71-79
- Kristanti, A. V., N. S. Aminah, M. Tanjung, & B. Kurniadi. 2008. *Buku Ajar Fitokimia*. Airlangga University Press, Surabaya.
- Kusumawati, E., A. Apriliana & Selvitawati. 2017. Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Dan Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Herba Meniran (*Phyllanthus Niruri* L.) Terhadap *Candida Albicans* Menggunakan Metode Difusi Cakram. *Jurnal Ilmiah Manuntung*. **3**(1): 1-6.
- Marliana, E. 2007. Analisis Senyawa Metabolit Sekunder dari Batang *Spstholobus ferrugineus* (Zoll & Moritzi) Benth yang berfungsi Sebagai Antioksidan. *Jurnal*

- Penelitian MIPA Universitas Mulawarman, Kalimantan Timur.*
- Ningsih, R.N.M. 2017. Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia dan Aktivitas Pengambatan Polimersasi Heme Ekstrak etanol Daun Manuran Asal Kota Baru Kalimantan Selatan. *Skripsi Program Studi Farmasi, Universitas Lambung Mangkurat, Banjarbaru.*
- Nurani, L.H., D. Utami, W. Widyaningsih, I. Narwanti, E. Nurwening, & Junina. 2014. Uji Aktivitas Penghambatan Polimerisasi Heme (1)N-(2-Nitrobenzil)-1,10- Fenantrolinium Iodida secara *In Vitro*. *Pharmaciana*. 4: 171-176.
- Purwanto. 2011. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Penghambat Polimerisasi Heme dari Fungi Endofit Tanaman *Artemisia annua L*. *Tesis*. Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Salenus, J., J. Wijaya, C. N. Labetubun, S. E. Belseran. 2014. Potensi Ekstrak Heksan Daun Kapur (*Harmsioplanax aculeatus*, Harms) Sebagai Obat Antimalaria. *Prosiding KIMIA FKIP, Universitas Pattimura*.
- Sani, R.N., F.C. Nisa, R.D. Andriani & J.M. Maligan. 2014. Analisis Rendemen Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Mikroalga Laut Tetraselmis Chuii. *Jurnal Pangan dan Agroindustri*. 2(2): 121-126
- Utami, W. S., Nuri, & Y. Armiyanti. 2012. Effect Tithonia Diversifolia ((*Hemley*) *A. Gray*) Ethanol Extract As Antimalarial On Mice Strain Balb / C Before And After Infected By *Plasmodium berghei*. *Jurnal Medika Planta*. 1:56-66.
- Wagner, H. & S. Bland. 1996. *Plant Drug Analysis; A Thin Layer Chromatography Atlas. 2nd Edition*. Springer. Berlin Heidelberg
- Yuda, P.E.S.K., E. Cahyaningsih & N.L.P.Y. Winariyanthi. 2017. Skrining Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Ekstrak Tanaman Patikan Kebo (*Euphorbia Hirta L.*). *Medicamento*. 3(2) : 61-70.