

IDENTIFIKASI EKSTRAK ETANOL DAUN BINAHONG (*BASELLA ALBA LINN*) DAN UJI STOTOKSIK DENGAN METODE *BRINE SHRIMP LETHALITY TEST* (BSLT)

Nelson¹, Yusnelti¹ dan H. Amanda^{1*}

¹ Program Studi Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Jambi
Corresponding author: hildaamanda01@yahoo.co.id

ABSTRAK: Indonesia merupakan negara yang memiliki spesies tanaman obat terbesar di dunia. Dari sekitar 40.000 spesies tanaman obat, sekitar 30.000 spesies tanaman berada di Indonesia. Sementara dari jumlah itu, sekitar 9.600 memiliki khasiat obat dan hanya sekitar 200 spesies yang sudah dimanfaatkan sebagai obat tradisional. Salah satu tanaman obat potensial ialah Bianhong (*Basella alba Linn*) Binahong tumbuh menjalar dan panjangnya dapat mencapai 5 meter, berbatang lunak berbentuk silindris dan pada ketiak daun terdapat seperti umbi yang bertekstur kasar. Daunnya tunggal dan mempunyai tangkai pendek, bersusun berselang-seling dan berbentuk jantung. Daun binahong dimaserasi dengan pelarut etanol lalu di fraksinasi dengan pelarut n-heksan, sehingga di dapat fraksi etanol dan fraksi n-heksan. Dari hasil pengujian fitokimia fraksi etanol positif tanin, terpenoid dan saponin sedangkan fraksi n-heksan positif terpenoi. Kedua fraksi tersebut dilakukan uji sitotoksik dengan metode dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didapat LC₅₀ fraksi etanol 40,7661 dan LC₅₀ fraksi n-heksan 273.145. dari hasil uji BSLT didapat bahwa fraksi etanol sangat toksik sehingga dapat menjadi potensi sebagai antikanker.

Kata Kunci: Binahong, *Basella alba Linn*, Sitotoksik, BSLT, Antikanker

ABSTRACT: Indonesia is a country that has the largest medicinal plant species in the world. From around 40,000 species of medicinal plants, around 30,000 species of plants are in Indonesia. While of that number, about 9,600 have medicinal properties and only around 200 species have been used as traditional medicine. One of the potential medicinal plants is Bianhong (*Basella alba Linn*) Binahong spreading and can reach 5 meters in length, cylindrical soft trunk and in the armpit there are like coarse-textured tubers. The leaves are single and have short stems, alternating and heart shaped. Binahong leaves were macerated with ethanol solvent and then fractionated with n-hexane solvent, so ethanol fraction and n-hexane fraction were obtained. From the results of phytochemical testing the positive ethanol fractions are tannins, terpenoids and saponins while the positive n-hexane fractions are terpenoi. Both of these fractions were cytotoxic by the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method obtained by LC₅₀ ethanol fraction 40.7661 and LC₅₀ fraction n-hexane 273.145. From the results of the BSLT test it was found that the ethanol fraction was very toxic so that it could be potential as an anticancer.

Keywords: Binahong, *Basella alba Linn*, Cytotoxic, BSLT, Anticancer

PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara dengan kekayaan *diversity* yang melimpah, salah satunya yaitu jenis tanaman yang tumbuh di tanah Indonesia. Ada sekitar 30.000 spesies tanaman dan 940 diantaranya merupakan tanaman yang sering kali digunakan sebagai bahan pengobatan. Kesadaran masyarakat untuk kembali ke alam dan juga karena relative aman dan murah, membuat tanaman obat menjadi primadona dalam pengobatan alternative. Sudah banyak sekali penelitian yang membahas tentang khasiat tanaman obat, sehingga menciptakan kondisi yang mendorong pengembangan obat tradisional (Hendrawati, 2009).

Salah satu tanaman obat yang cukup terkenal ialah Binahong (*Basella alba Lin*). Tanaman binahong (*Basella alba Lin*) adalah tanaman obat potensial yang dapat mengatasi berbagai jenis penyakit. Binahong tumbuh menjalar dan panjangnya dapat mencapai 5 meter, berbatang lunak berbentuk silindris dan pada ketiak daun terdapat seperti umbi yang bertekstur kasar. Daunnya tunggal dan mempunyai tangkai pendek, bersusun berselang-seling dan berbentuk jantung. Panjang daun antara 5-10 cm dan mempunyai lebar antara 3-7 cm. Seluruh bagian tanaman binahong dapat dimanfaatkan, mulai dari akar, batang, daun, umbi dan bunganya (Manoi, 2009).

Hasil fitokimia dari ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia*) menunjukkan bahwa daun

binahong mengandung metabolit skunder berupa alkaloid, flavonoid, steroid, dan saponin (Surbakti et al., 2018). Berdasarkan metabolit skunder tersebutlah binahong dapat dijadikan obat. Penyakit yang dapat disembuhkan dengan menggunakan tanaman ini adalah kerusakan ginjal, diabetes, pembengkakan jantung, muntah darah, tifus, stroke wasir, reumatik, pemulihan pasca operasi, pemulihan pasca melahirkan, menyembuhkan segala luka dalam dan khitanan, radang usus, melancarkan dan menormalkan peredaran dan tekanan darah, sembelit, sesak napas, sariawan berat, pusing-pusing, sakit perut, menurunkan panas tinggi, menyuburkan kandungan, maag, asam urat, keputihan, pembengkakan hati, meningkatkan vitalitas dan daya tahan tubuh, dan juga digunakan sebagai antikanker (Manoi, 2009).

Penyakit kanker merupakan penyakit yang menjadi salah satu ancaman utama terhadap kesehatan karena merupakan penyebab kematian kedua setelah penyakit jantung. Diindonesia sendiri kematian akibat kanker selalu meningkat setiap tahunnya. Pengobatan kanker tentu tidak lah murah, selain itu juga efek samping yang dapat membahayakan pasien. Sehingga diperlukan senyawa antikanker yang berasal dari alam (Apantaku, 2002).

Salah satu langkah awal dalam pengujian senyawa antikanker yaitu pengujian sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). BSLT merupakan salah satu metode yang banyak digunakan untuk pencarian senyawa antikanker baru yang berasal dari tanaman. Metode BSLT telah terbukti memiliki korelasi dengan aktivitas antikanker. Selain itu, metode ini juga mudah dikerjakan, murah, cepat, dan cukup akurat. Suatu ekstrak dinyatakan bersifat toksik menurut metode BSLT jika memiliki LC50 kurang dari 1000 µg/mL (Meyer et al., 1982).

Sehingga pada penelitian ini dilakukan pengujian sitotoksik dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap daun binahong (*Basella alba Lin*) merupakan salah satu spesies binahong yang cukup banyak tumbuh di Provinsi Jambi.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Daun Binahong (*Basella alba Linn*). Bahan kimia yang digunakan selama penelitian diantaranya n-heksana, etanol, DMSO, aquades, H₂SO₄ 2N, Perekasi Dragendorff, Perekasi Meyer, Perekasi Wagner, HCl pekat, serbuk Mg, HCl 2N, FeCl₃, pereaksi Liebermann-Burchad (asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat), garam non yodium, ragi, dan telur udang *Artemia Salina* Leach.

Alat yang digunakan selama penelitian diantaranya seperangkat alat *Rotary Evaporator*, pompa vakum, peralatan gelas (gelas ukur, erlenmeyer, labu ukur, gelas kimia), plat tetes, chamber, kaca arloji, inkubator, pipet

tetes, autoklaf, timbangan analitik, mikropipet, tabung reaksi, cawan petri, akuarium, pompa, mortal, alu botol kaca/vial, pipa kapiler, dan Bunsen.

Preparasi Sampel

Daun binahong (*Basella alba Linn*) diambil di Jl. Jambi - Muara Bulian, Mendalo Darat, Muara Bulian, Jambi, lalu dibersihkan sehingga bebas dari kotoran dan debu. Daun binahong yang telah bersih lalu dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun binahong yang telah kering dipotong kecil-kecil.

Ekstraksi Sampel

200 gram Daun binahong (*Basella alba Linn*) dimaserasi dengan 4L pelarut etanol selama 3x24 jam, lalu disaring sehingga didapat ekstrak etanol daun binahong (*Basella alba Linn*). Ekstrak yang didapat lalu dipekatkan dengan *rotary evaporator* hingga sebagian pelarut menguap.

Ekstrak etanol daun binahong (*Basella alba Linn*) difraksinasi dengan menggunakan n-heksan sehingga didapat 2 fraksi, yaitu fraksi etanol dan fraksi n-heksan. Fraksinasi ini bertujuan untuk menarik senyawa non-polar pada ekstrak etanol daun binahong (*Basella alba Linn*).

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia meliputi uji alkaloid, uji flavonoid, uji saponin, uji tanin, dan uji steroid dan triterpenoid.

Uji Alkaloid

Sebanyak 1 mL sampel dicampurkan dengan beberapa tetes asam sulfat 2N, kemudian dilakukan pengujian dengan tiga pereaksi alkaloid yaitu pereaksi Dragendorff, pereaksi Meyer dan pereaksi Wagner. Hasil uji dinyatakan positif bila terbentuk endapan merah hingga jingga pada pereaksi Dragendorff, dengan pereaksi Meyer terbentuk endapan putih kekuningan dengan pereaksi Wagner terbentuk endapan coklat (Harbone, 1987).

Uji Flavonoid

Sampel ditambahkan beberapa tetes HCl pekat kemudian dimasukkan serbuk Mg. Hasil positif dari pereaksi HCl dan serbuk Mg ini apabila terbentuknya buih dan perubahan warna larutan menjadi jingga (Harbone, 1987).

Uji Saponin

Saponin dapat melalui uji busa dalam air panas. Busa yang stabil yang dapat bertahan lama dan tidak hilang pada penambahan 1 tetes HCl 2N menunjukkan adanya saponin (Harbone, 1987).

Uji Tanin

Sampel dicampurkan dengan FeCl_3 kemudian campuran dihomogenkan. Apabila terbentuknya warna hitam kehijauan pada campuran maka positif mengandung tanin (Harbone, 1987).

Uji Steroid dan Triterpenoid

Sampel dicampurkan dengan asam asetat anhidrat dan asam sulfat pekat (pereaksi Liebermann-Burchard). Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Apabila terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid (Harbone, 1987).

Penyiapan Larva Artemia Salina Leach

Penetasan telur Artemia Salina Leach dilakukan dengan cara merendam sebanyak 30 mg telur Artemia Salina Leach dalam aquarium berisi air laut (aquades ditambah garam non yodium) dibawah cahaya lampu 25 watt. Telur Artemia Salina Leach akan menetas dan menjadi larva setelah 48 jam.

Pembuatan Konsentrasi Sampel Uji

Konsentrasi Larutan uji BSLT adalah 500 ppm, 100 ppm, 75 ppm, 50 ppm, dan 10 ppm.

Pelaksanaan Uji Toksisitas

Pada uji toksisitas disiapkan wadah untuk pengujian, untuk masing-masing konsentrasi ekstrak sampel membutuhkan 3 wadah dan 1 wadah sebagai kontrol untuk masing-masing pengulangan. Selanjutnya pada tiap konsentrasi larutan dimasukkan 10 ekor larva Artemia Salina Leach. Pengamatan dilakukan selama 24 jam terhadap kematian larva Artemia Salina Leach, dimana setiap konsentrasi dilakukan 3 pengulangan dan dibandingkan dengan kontrol.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sampel yang digunakan adalah bagian daun dari tumbuhan binahong (*Basela alba Linn*). Digunakan daun sebagai sampel penelitian ini dikarenakan pada umumnya daun memiliki ketersediaan senyawa metabolit sekunder yang tinggi. Keragaman golongan metabolit sekunder di dalam daun bermacam-macam mulai dari yang nonpolar seperti steroid, terpenoid dan alkaloid; semipolar seperti flavonoid; hingga senyawa polar seperti polifenol dan glikosida atau terpenoid terhidroksilasi (Saifudin, 2014).

Tahap preparasi sampel meliputi daun binahong segar dibersihkan dan dicuci untuk menghilangkan kotoran yang menempel, dan kemudian dipotong kecil-kecil untuk memperbesar luas permukaannya sehingga dapat memaksimalkan proses ekstraksi. Semakin kecil ukuran

partikel bahan, maka semakin besar % rendemen yang diperoleh karena bidang kontak antara bahan dan pelarut akan semakin luas (Antari *et al.*, 2015). Selanjutnya sampel daun dikeringkan selama beberapa hari untuk menghilangkan air. Proses pengeringan tanpa menggunakan sinar matahari ditujukan untuk mencegah senyawa tak tahan panas terdegradasi/rusak.

Berikutnya tahap ekstraksi sampel menggunakan metode ekstraksi tunggal, yaitu dengan cara melarutkan bahan yang akan diekstrak dengan satu jenis pelarut saja. Kelebihan dari metode ini yaitu lebih sederhana dan tidak memerlukan waktu yang lama (Sudarmadji *et al.*, 2007). Sebanyak 200 gram sampel daun binahong kering dimaserasi dengan 4 Liter pelarut etanol (polar) selama 3x24 jam. Digunakan etanol sebagai pelarut yaitu agar dapat melarutkan senyawa metabolit sekunder yang bersifat polar. Etanol sebagai pelarut dapat merusak membran sel pada daun binahong, etanol akan masuk ke rongga sel menembus dinding sel daun binahong melarutkan zat aktif sehingga terjadi perbedaan konsentrasi diluar dan diluar sel menyebabkan terjadinya difusi zat aktif yang ada dalam sel menuju luar sel (Atun, 2014).

Daun binahong yang telah dimaserasi lalu dipekatkan dengan *Vaccum rotary evaporator*, hal ini dilakukan agar didapat ekstrak kasar dari daun binahong. *Vaccum Rotary Evaporator* adalah alat yang berfungsi untuk memisahkan suatu larutan dari pelarutnya sehingga dihasilkan ekstrak dengan kandungan kimia tertentu sesuai yang diinginkan. Cairan yang ingin diuapkan biasanya ditempatkan dalam suatu labu yang kemudian dipanaskan dengan bantuan penangas, dan diputar. Uap cairan yang dihasilkan didinginkan oleh suatu pendingin (kondensor) dan ditampung pada suatu tempat (*receiver flask*). Kecepatan alat ini dalam melakukan evaporasi sangat cepat, terutama bila dibantu oleh vakum. Kelebihan lainnya dari alat ini adalah diperolehnya kembali pelarut yang diuapkan (Nugroho, *et al.* 1999). Pada penelitian ini *Vaccum Rotary Evaporator* diset pada suhu 50°C karena titik didih etanol (pelarut) berkisar antara 78,73°C.

Ekstrak kasar daun binahong (*Basela alba Linn*) difraksinasi menggunakan n-heksan untuk memisahkan senyawa non-polar, sehingga didapat 2 fraksi yaitu fraksi etanol dan fraksi n-heksan. Kedua fraksi tersebut dipekatkan kembali sehingga didapat ekstrak kering dari setiap fraksi.

Skrining fitokimia dilakukan untuk memberikan gambaran tentang golongan senyawa yang terkandung di dalam simplisia/ekstrak (Harborne, 1987). Skrining fitokimia yang dilakukan berupa uji flavonoid, tanin, steroid/triterpenoid, dragendorf, mayer dan saponin. Adapun hasil skrining fitokimianya adalah sebagai berikut:

Tabel 1 Skrining Fitokimia Fraksi Etanol Daun Binahong (*Basella alba Linn*)

| No | Senyawa Kimia | Hasil | Keterangan positif |
|----|-----------------------|-------|------------------------------|
| 1 | Flavonoid | - | Berbuih dan berwarna jingga. |
| 2 | Alkaloid (Dragendorf) | - | Endapan kemerahan. |
| 3 | Tanin | + | Hitam kehijauan. |
| 4 | Terpenoid | + | Berwarna hijau. |
| 5 | Alkaloid (Mayer) | - | Endapan putih. |
| 6 | Saponin | + | Busa stabil. |

Keterangan (+) Terdapat senyawa metabolit sekunder
(-) Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 1 diatas, dapat dilihat bahwa fraksi etanol daun binahong terdapat metabolit sekunder berupa terpenoid, tannin dan saponin. Hasil ini sedikit berbeda dari skrining yang dilakukan oleh (Surbakti *et al.*, 2018) menggunakan ekstrak etanol daun binahong (*Androdera cordifolia (Ten.) Steenis*) hasil skrining fitokimia yang didapat yaitu flavonoid, steroid dan saponin.

Dilakukan skrining fitokimia terhadap fraksi n-heksan dengan hasil sebagai berikut:

Tabel 2 Skrining Fitokimia Fraksi n-heksan Daun Binahong (*Basella alba Linn*)

| No | Senyawa Kimia | Hasil | Keterangan positif |
|----|-----------------------|-------|------------------------------|
| 1 | Flavonoid | - | Berbuih dan berwarna jingga. |
| 2 | Alkaloid (Dragendorf) | - | Endapan kemerahan. |
| 3 | Tanin | - | Hitam kehijauan. |
| 4 | Terpenoid | + | Berwarna hijau. |
| 5 | Alkaloid (Mayer) | - | Endapan putih. |
| 6 | Saponin | - | Busa stabil. |

Keterangan (+) Terdapat senyawa metabolit sekunder
(-) Tidak terdapat senyawa metabolit sekunder

Berdasarkan tabel 2 diatas, dapat dilihat bahwa fraksi etanol daun binahong terdapat metabolit sekunder berupa terpenoid.

Pengujian toksisitas terhadap ekstrak etanol binahong dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Pengujian ini merupakan uji pendahuluan terhadap aktivitas antikanker suatu sampel. Pada metode BSLT digunakan larva *Artemia salina* sebagai hewan uji. Fase larva digunakan karena pada saat tersebut *Artemia salina* membelah secara mitosis yang identik dengan sel kanker yang juga membelah secara mitosis. Ekstrak yang memiliki aktivitas toksisitas yang baik melalui metode BSLT akan memiliki potensi aktivitas antikanker yang baik.

Pengujian dilakukan terhadap fraksi etanol dan n-heksan daun binahong (*Basella alba Linn*). Masing-masing sampel memiliki variasi konsentrasi 500, 100, 75, 50, dan 10 ppm. Masing-masing pengujian diulangi

sebanyak tiga kali (triplo). Hasil pengujian BSLT terhadap sampel disajikan pada tabel berikut.

Tabel 3 Hasil uji toksisitas metode BSLT

| Sampel | Konsent rasi sampel (ppm) | Jumlah larva yang mati | | | Total larva | % Mortalitas | LC ₅₀ |
|-----------------|---------------------------|------------------------|---|---|-------------|--------------|------------------|
| | | 1 | 2 | 3 | | | |
| Fraksi etanol | 500 | 10 | 9 | 8 | 30 | 90,00% | 40,76 |
| | 100 | 8 | 8 | 8 | 30 | 80,00% | |
| | 75 | 6 | 8 | 7 | 30 | 70,00% | |
| | 50 | 6 | 6 | 6 | 30 | 60,00% | |
| | 10 | 0 | 2 | 2 | 30 | 13,33% | |
| Blanko | 0 | 0 | 0 | | | | |
| Fraksi n-heksan | 500 | 7 | 7 | 6 | 30 | 66,67% | 273,1 |
| | 100 | 5 | 2 | 3 | 30 | 33,33% | |
| | 75 | 3 | 2 | 2 | 30 | 23,33% | |
| | 50 | 2 | 1 | 1 | 30 | 13,33% | |
| | 10 | 1 | 0 | 1 | 30 | 6,67% | |
| Blanko | 0 | 0 | 0 | | | | |

Berdasarkan tabel 1, diperoleh bahwa fraksi etanol dan fraksi n-heksana memiliki nilai LC₅₀ masing-masing 40,7611 dan 273,145. Dari ketiga data tersebut, fraksi etanol hasil partisi memiliki nilai LC₅₀ terkecil yang menunjukkan tingkat toksisitas tertinggi terhadap larva *Artemia salina* diantara sampel yang lainnya. Meyer *et al* (1982), berpendapat bahwa suatu zat dikatakan aktif atau toksik bila memiliki nilai LC₅₀<1000 ppm untuk ekstrak dan ≤30 ppm untuk suatu senyawa murni. Berikut adalah kategori toksisitas berdasarkan konsentrasinya menurut Lestari *et al* (2015).

Tabel 4 Kategori toksisitas dan hubungannya dengan LC50

| Kategori | Nilai LC ₅₀ (ppm) |
|----------------------|------------------------------|
| Sangat amat toksik | ≤ 5 |
| Sangat toksik | 5-50 |
| Toksik | 50-500 |
| Toksik sedang | 500-600 |
| Tidak terlalu toksik | 500 - 1000 |
| Tidak toksik | ≥ 1000 |

Sumber : Lestari *et al.*, 2015

Nilai LC₅₀ diperoleh berdasarkan persamaan regresi linear antara log konsentrasi dan probit.

KESIMPULAN

Berdasarkan uji fitokimia yang dilakukan terhadap fraksi etanol dan fraksi n-heksan daun binahong (*Basella alba Linn*), didapat bahwa fraksi etanol positif terpenoid, saponin dan tanin sedangkan fraksi n-heksan positif

terpenoid. Berdasarkan pengujian toksisitas dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) didapat nilai LC50 fraksi etanol sebesar 40.7611 ppm sedangkan fraksi n-heksan 273.145 ppm sehingga dapat disimpulkan bahwa fraksi etanol memiliki tingkat toksisitas yang tinggi daripada fraksi n-heksan.

Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT).
Pharmakon Jurnal Ilmiah Farmasi. 7(3): 2302-2493.

DAFTAR PUSTAKA

- Antari, N.M.R.O., N.M. Wartini dan S. Mulyani. 2015. "Pengaruh Ukuran Partikel dan Lama Ekstraksi terhadap Karakteristik Ekstrak Warna Alami Buah Pandan (*Pandanus tectorius*)". *Jurnal Rekayasa dan Manajemen Agroindustri*. Vol 3(4) : 30-40.
- Apantaku, L.M. 2002, Breast-conseving surgery for breast cancer. *Am. Fam.Physician*. 66(12): 2271-2278.
- Atun, S. 2014. "Metode Isolasi dan Identifikasi Tuktur Senyawa Organik Bahan Alam". *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Brobudur*. Vol 8.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia : Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Penerbit ITB: Bandung. (terjemahan).
- Hendrawati A. R. S. 2009. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Kemangi (*Ocimum sanctum Linn.*) Terhadap *Artemia salina Leach* Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi: Universitas Diponegoro, Semarang*.
- Lestari, S.M., T. Himawan., A.L. Abadi dan R. Retnowati. 2015. Toxicity and Phytochemistry Test of Methanol Extract of Several Plants from Papua Using Brine SHrimp Lethalithy Test (BSLT). *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. Vol 7(4): 866-872.
- Manoi, F. 2009. *Binahong (Anredera cordifolia) Sebagai Obat*. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Jakarta.
- Meyer, B. N., Ferrigni, Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols dan Mclaughin. 1982. Brine Shrimp: A Cowenient General Bioassay for Active Plant Constituenls. *Planta Medica*. 45: 31-34.
- Nugroho, B. W., Dadang, & Prijono, D. 1999. *Pengembangan dan Pemanfaatan Insektisida Alami*. Pusat Kajian Pengendalian Hama Terpadu, IPB:Bogor.
- Saifudin, A. 2014. *Senyawa Alam Metabolit Sekunder: Teori, Konsep, dan Teknik Pemurnian, Ed.1, Cet. 1*. Deepublish. Yogyakarta.
- Sudarmadji, S., B. Haryono dan Suhardi. 2007. *Analisa Bahan Makanan dan Pertanian*. Liberty. Yogyakarta.
- Surbakti,A.A.S., Edwin, D.Q dan Widdhi.B. 2018. Skrining Fitokimia Dan Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Daun Binahong (*Andredera cordifolia(Ten.)*) Dengan