

## UJI FITOKIMIA DAN TOKSISITAS DARI EKSTRAK DAUN

### *Chisocheton* sp. (C.DC) HARMS

1

2

2

Junito , Dewa G. Katja dan Vanda S. Kamu

1

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado  
Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sam Ratulangi, Manado

### ABSTRAK

**Junito dkk.**, 2018. Skrining Fitokimia dan Uji Toksisitas dari Ekstrak Daun *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms Menggunakan Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*)

Tanaman genus *Chisocheton* memiliki aktivitas antimalaria, antibakteri dan sitotoksik, yang dapat digunakan sebagai komponen senyawa bioaktif. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui hasil skrining fitokimia dan toksisitas dari ekstrak n-heksana, etil asetat dan metanol. Metode yang digunakan untuk skrining fitokimia yaitu menggunakan metode dari Harbone dan untuk metode yang digunakan untuk uji toksisitas yaitu menggunakan metode Brine Shrimp Lethality Test dari Meyer. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa skrining fitokimia terhadap sampel ekstrak daun tumbuhan dari *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms menunjukkan bahwa sampel mengandung senyawa; alkaloid, saponin, steroid, flavonoid dan tanin. Konsentrasi ekstrak dalam media yang digunakan 50, 40, 30, 40, 20, 10 dan sebagai kontrol 0 ppm dengan masing-masing media diberikan 10 ekor larva dan pengulangan sebanyak dua kali. Kadar air yang terkandung dalam simplisia adalah 7.66%. Hasil uji ekstrak daun *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms bersifat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> 12.42 ppm untuk ekstrak n-heksana, LC<sub>50</sub> 23.75 ppm untuk ekstrak etil asetat, dan LC<sub>50</sub> 93.57 ppm untuk ekstrak metanol.

**Kata kunci:** Meliaceae, *Chisocheton*, Fitokimia, Toksisitas

### ABSTRACT

**Junito et al.**, 2018. Phytochemical Screening and Toxicity Test of *Chisocheton* sp. Leaf Extract (C.DC) Harms Using the BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) Method

The *Chisocheton* genus has antimalarial, antibacterial and cytotoxic activity, which can be used as a component of bioactive compounds. The purpose of this study was to determine the results of phytochemical screening and toxicity of n-hexane, ethyl acetate and methanol extract. The method used for phytochemical screening is using the method from Harbone and method for used the toxicity test using the Brine Shrimp Lethality Test method from Meyer. The results of this study indicate that phytochemical screening of plant leaf extract samples from *Chisocheton* sp. (C.DC) Harms indicate that the sample contains compounds; alkaloids, saponins, steroids, flavonoids and tannins. The concentration of extracts in the media used was 50, 40, 30, 40, 20, 10 and as a control 0 ppm with each media given 10 larvae and repetition twice. The water content contained in simplicia is 7.66%. The results of the *Chisocheton* sp. Leaf extract test. (C.DC) Harms are toxic with LC<sub>50</sub> value of 12.42 ppm for n-hexane extract, LC<sub>50</sub> 23.75 ppm for ethyl acetate extract, and LC<sub>50</sub> 93.57 ppm for methanol extract.

Keyword: Meliaceae, *Chisocheton*, Photochemicals, Toxicity

## PENDAHULUAN

Indonesia merupakan negara khatulistiwa yang memiliki iklim tropis dan subtropis, sehingga tumbuh keanekaragaman tumbuhan yang merupakan sumber senyawa aktif yang sangat bermanfaat, baik sebagai obat-obatan, maupun sebagai insektisida.

Jumlah tumbuhan berkhasiat obat di Indonesia diperkirakan sekitar 1.260 jenis tumbuhan (Noorhidayah dan Hajar, 2004). Meliaceae adalah pohon berukuran sedang yang dapat tumbuh hingga 21 m tingginya (Mabberly and Pannell, 1989). Tumbuhan ini telah dikenal

*Korespondensi dialamatkan kepada yang bersangkutan :*

*Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sam Ratulangi, Manado  
Phone :082395331954 -, E-mail : junitolamatoa@gmail.com*

sebagai penghasil senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas antimalaria, senyawa insektisida, antiviral, antioksidan, antikanker, antibakteri, antimikroba dan antiinflamasi (Heyne, 1987). Beberapa senyawa aktif yang berhasil diisolasi dari meliaceae, seperti azadirachtin (*A. indica*) yang bersifat insektisida alami dan sudah dipasarkan sebagai insektisida botani di Amerika Serikat dan India (Wong *et al.*, 2011; Parmar, 1995). *Chisocheton* merupakan salah satu genus dari famili Meliaceae. Tumbuhan ini tersebar luas di daerah tropis dan subtropis seperti di Indonesia, China, Papua Nugini, China Selatan, Thailand, Malaysia, Nepal, India, Bhutan dan Myanmar (Vossen dan Umali, 2002). Beberapa spesies tumbuhan ini telah dipergunakan secara tradisional sebagai obat pencuci perut, bahan obat dan kosmetika serta banyak dimanfaatkan sebagai racun pada ikan (Lim, 2008). Spesies *Chisocheton* diketahui menghasilkan senyawa bioaktif dengan

struktur molekul kompleks seperti erythrocarpine E dan chisomecine (Awang *et al.*, 2007; Najmuldeen *et al.*, 2012). Kandungan senyawa pada genus *Chisocheton siamensis* memiliki aktivitas antimalaria, antimikrobakteri dan sitotoksik (Maneerat *et al.*, 2008), *Chisocheton paniculatus* memiliki aktivitas antiinflamasi (Yang *et al.*, 2011) dan *Chisocheton ceramicus* memiliki aktivitas sitotoksik (Wong *et al.*, 2011). Menurut Harbone (1987) Analisis fitokimia dilakukan untuk menentukan ciri komponen bioaktif suatu ekstrak kasar yang mempunyai efek racun atau efek farmakologis lain yang bermanfaat bila diujikan dengan sistem biologi atau bioassay. Uji toksisitas dilakukan dengan mengamati kematian hewan percobaan dan respon kematian ini dianggap sebagai pengaruh senyawa yang diuji. Uji toksisitas dimaksudkan untuk memaparkan adanya efek toksik dan untuk meneliti batas keamanan dalam kaitannya dengan penggunaan senyawa yang ada dalam tumbuhan tersebut (Cassaret dan Doull's, 1975). Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) sering digunakan untuk praskrining terhadap senyawa aktif yang

terkandung dalam ekstrak tumbuhan karena murah, cepat, mudah dan dapat dipercaya (Meyer *et al.*, 1982). Di Maluku utara (Tidore) ditemukan satu spesies tumbuhan *Chisocheton*, namun setelah dilakukan observasi dan determinasi didapatkan spesies *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms. Berdasarkan penelusuran literatur belum ada kajian dan uji aktivitas dari ekstrak daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui hasil skrining fitokimia dan mengetahui nilai LC<sub>50</sub> dari ekstrak daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms.

## BAHAN DAN METODE

### Bahan dan alat

Bahan yang digunakan yaitu serbuk dari daun tumbuhan *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms (Hutan Tidore), metanol yang telah didistilasi, *n*-heksana yang telah didistilasi, etil asetat yang telah didistilasi. Etanol, serbuk magnesium, asam sulfat pekat, pereaksi Wagner, pereaksi Dragendrof, pereaksi Mayer, asam asetat klorida, air laut sintetik yang dibuat dengan menambahkan aquades dan garam non-iodium, larva *Artemia Salina* Leach dan aquades. anhidrat, asam sulfat, ammonia, kloroform, natrium klorida, asam klorida, besi(III). Alat yang digunakan gelas kimia, gelas ukur, botol vial, labu ukur, lampu 5 watt, aluminium foil, spatula, corong kaca, Kertas Whatman no 42, seperangkat alat distilasi, timbangan digital, pipet tetes, penangas listrik, cawan porselin, oven, ayakan 65 mesh dan blender.

### Preparasi sampel

Sampel daun tumbuhan *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms yang diperoleh terlebih dahulu dibersihkan dari kotoran yang menempel dan dikering-anginkan selama 5

o

hari pada suhu ruang (25 °C) sampai daun kering, selanjutnya diblender dan disaring dengan ayakan 65 mesh sehingga

diperoleh serbuk daun *Chisocheton*  
*sp* . (C.DC) Harms yang siap untuk  
dimaserasi.

4  
5

mL metanol kedalam erlenmeyer, dilakukan perlakuan yang sama pada ekstrak kental etil asetat dan ekstrak kental *n*-heksana.

### **Kadar air (AOAC, 1995)**

Sebanyak 2 g serbuk ditimbang secara teliti dalam cawan porselin yang telah dikeringkan dan diketahui bobotnya. Cawan kemudian dikeringkan dalam oven

o

pada suhu 105-110 °C selama tiga jam. Cawan dikeluarkan dan didinginkan dalam desikator, kemudian ditimbang. Pengeringan dilanjutkan lagi dan setiap setengah jam didinginkan dan ditimbang sampai diperoleh bobot yang konstan. Kadar air dihitung dengan persamaan berikut :

$$-( - )$$

Dimana : a = berat cawan kering (g)

b= berat sampel awal (g) c=  
berat cawan dan sampel

kering yang sudah konstan

(g)

Sebanyak 200 g serbuk daun dimaserasi dengan pelarut metanol, *n*-heksana, dan etil asetat masing-masing sebanyak 200 mL. Maserasi dilakukan sampai pelarut pada sampel menjadi bening. Hasil maserasi disaring menggunakan kertas saring Whatman no 42 dan filtrat yang diperoleh diuapkan menggunakan alat rangkaian distilasi sederhana untuk memperoleh ekstrak kental.

### **Skrining fitokimia (Harbone, 1996)**

Pembuatan larutan uji untuk skrining

fitokimia dilakukan dengan melarutkan 500 mg ekstrak kental metanol dalam 50

dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan 5 tetes etanol, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu ditambah dengan serbuk Mg 0,2 g dan 5 tetes HCl pekat. Jika menghasilkan warna kuning, orange, dan merah menandakan adanya flavonoid.

### **Alkaloid**

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan ditambah dengan 5 tetes amonia pekat. Setelah itu, disaring kemudian ditambah 2 mL asam sulfat 2N dan dikocok hingga memberi lapisan atas dan bawah. Lapisan dibawah diambil dan dipindahkan kedalam 3 tabung reaksi, pada tabung pertama ditambahkan 1 tetes Mayer, adanya alkaloid ditandai dengan terbentuknya endapan putih. Pada tabung kedua ditambah 1 tetes pereaksi Dragendorf dan terbentuknya endapan

jingga menandakan adanya alkaloid. Tabung ketiga ditambah 1 tetes pereaksi Wagner dan terbentuknya endapan Coklat menandakan adanya alkaloid

### **Steroid dan Triterpenoid**

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah dengan asam asetat anhidrat 1 tetes dan asam sulfat pekat 2 tetes. Jika terbentuk warna biru atau hijau menandakan adanya steroid. Jika terbentuk warna ungu atau jingga menandakan adanya triterpenoid.

### **Flavonoid**

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan

### Saponin

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi. Kemudian ditambah 2 mL aquades, lalu dikocok sampai homogen. Setelah itu, dipanaskan selama 2-3 menit. Dinginkan, setelah dingin kocok dengan kuat. Adanya busa yang stabil selama 30 detik menunjukkan sampel mengandung saponin.

### Tanin

Sebanyak 2 mL larutan uji dari masing-masing ekstrak diteteskan pada tabung reaksi. Kemudian ditambahkan dengan FeCl<sub>3</sub> 1% 3 tetes. Adanya tanin ditandai dengan terbentuknya warna biru tua atau hitam kehijauan.

### Uji Toksisitas BSLT (Meyer *et al.*, 1982)

1 g telur udang *Artemia* direndam dalam sintetik larutan air (dengan komposisi 20 g garam non-iodium dalam 1000 mL aquades), dimasukkan kedalam gelas piala besar. Suhu penetasan dan pH dikontrol. Suhu peneluran adalah 25 C dan pH diatur pada ± 6-7. Larva siap untuk tes setelah 48 jam kemudian.

Sebanyak 10 ekor larva *Artemia Salina* Leach yang sehat berumur 48 jam dimasukan ke dalam gelas uji yang berisi sintetik larutan garam. Dibuat larutan uji dengan menambahkan larutan ekstrak pada masing-masing gelas uji dengan

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Kadar Air

Berdasarkan data pada Tabel 1, menunjukkan bahwa kadar air pada daun *Chisocheton sp* (C.DC) Harms memiliki rata-rata 8,085%, hasil menunjukkan bahwa kadar air dibawah 10%. Persentase kadar air yang rendah (<10%) dapat mengurangi terjadinya pertumbuhan reaksi enzimatik yang dapat menyebabkan perubahan kandungan kimia.

**Tabel 1. Kadar air**

Pengujian	Kadar Air(%)	Rara-rata(%)
I	8.00	
I I	7.00	7.66
I I I .00	8	

konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dengan menghitung jumlah larva yang mati dari total larva yang dimasukan dalam gelas uji. Penghitungan LC<sub>50</sub> dengan menggunakan analisis probit dari data persen mortalitas, dengan selang kepercayaan 95% pada program SPSS.

## Ekstraksi

Sampel daun *Chisocheton sp* (C.DC) Harms dijadikan serbuk dalam proses ekstraksi, serbuk diperoleh dengan cara dihaluskan menggunakan blender selama dua kali, proses ini bertujuan agar memperkecil ukuran sampel, semakin kecil ukuran sampel maka semakin besar luas permukaan sehingga mempengaruhi proses maserasi secara optimal dan mendapatkan ekstrak yang maksimal, hasil proses ekstraksi maserasi serbuk daun *Chisocheton sp* (C.DC) Harms menggunakan pelarut n- dengan rendemen 7.49%, pelarut etil asetat dengan rendemen 10.26%, dan pelarut methanol. dengan rendemen 23.80%. Bisa dilihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Rendemen

Ekstrak	Rendemen (%)
n-Heksana	7.49
Etil Asetat	10.26
Metanol	23.80



Ekstraksi maserasi dilakukan dengan cara merendamkan sampel dalam pelarut *n*-heksana selama waktu tertentu dan suhu ruangan, proses ini dilakukan sampai warna pada pelarut berubah menjadi bening, kemudian sampel dikering anginkan sampai pelarut *n*-heksana pada sampel menguap, dan proses ini dilanjutkan pada pelarut etil asetat dan metanol. Ekstraksi maserasi ini dipilih karena merupakan metode yang mudah dilakukan. Menurut

Harbone (1987), Pelarut akan menembus ke dalam rongga sel yang mengandung senyawa metabolit, senyawa metabolit akan larut dan karena perbedaan konsentrasi antara larutan senyawa metabolit di dalam sel dengan yang di luar sel maka larutan yang terpekat didesak keluar. Peristiwa tersebut berulang sehingga terjadi keseimbangan konsentrasi antara larutan di luar sel dan di dalam sel.

**Fitokimia**

Tabel 3. Kandungan Fitokimia *Chisocheton sp* (C.DC) Harms Ekstrak n-heksana etil asetat metanol

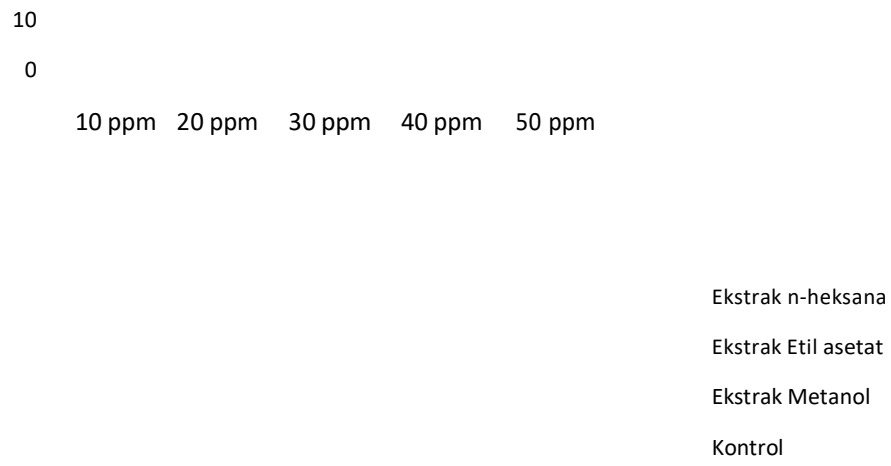
	Ekstrak	n-heksana	etil asetat	metanol
Alkaloid				
Mayer		-	+	-
Warner		+	+	-
Dragendorff		+	+	+
Flavonoid		-	-	+
Saponin		+	-	-
Steroid				-
Triterpenc				-
Tanin				+

Keterangan : + (konsentrasi tinggi dalam sampel), - (konsentrasi rendah dalam sampel)

**Uji Toksisitas BSLT**

100	40
90	30
80	20



**Gambar 1.** Persentase Kematian larva *Artemia salina* Leach dengan konsentrasi 10, 20, 30, 40 dan 50 ppm ekstrak etanol, etil asetat dan n-heksana daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms

Kemudian ekstrak *n*-heksana, etil asetat dan

Dari grafik kematian diatas dapat

dilihat persentase kematian larva dari ekstrak daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms pada konsentrasi 10 ppm yang paling tinggi adalah ekstrak *n*-heksana yaitu sebesar 45%, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 20% dan ekstrak metanol 0%. Pada konsentrasi 20 ppm yang paling tinggi adalah ekstrak *n*-heksana yaitu sebesar 65%, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 40% dan ekstrak metanol 0%. Pada konsentrasi 30 ppm yang paling tinggi adalah ekstrak *n*-heksana yaitu sebesar 75%, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 55% dan ekstrak metanol 5%. Pada konsentrasi 40 ppm yang paling tinggi adalah ekstrak *n*-heksana yaitu sebesar 85%, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 70% dan ekstrak metanol 10%, dan pada konsentrasi 50 ppm yang paling tinggi adalah ekstrak *n*-heksana yaitu sebesar 95%, sedangkan pada ekstrak etil asetat sebesar 85% dan ekstrak metanol 15%. Hal ini menunjukkan bahwa semakin tinggi konsentrasi larutan suatu ekstrak maka persentase kematian juga meningkat. Grafik diatas dapat dilihat bahwa ekstrak *n*-heksana mempunyai potensi daya bunuh larva paling besar, kemudian kedua pada ekstrak etil asetat, sedangkan ekstrak metanol mempunyai daya bunuh yang rendah.

---

~~**Tabel 4.** Nilai LC<sub>50</sub> uji toksisitas larva udang ekstrak daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms~~

Ekstrak	LC <sub>50</sub> (ppm)
<del><i>n</i>-Heksana</del>	<del>12,426</del>
Etil asetat	23,753
Metanol	93,573

Larutan sintetik garam dibuat terlebih dahulu dengan cara menimbang 20 g garam non iodium dilarutkan kedalam 1000 mL aquades, karena larva udang *Artemia s.* Leach ditemukan dipermukaan air dengan kisaran salinitas 10-20 g/L sampai dengan 180-220 g/L. Hal ini menyebabkan larva udang *Artemia* mudah untuk dibiakkan dan dipelajari dengan teliti.

metanol daun *Chisocheton sp* (C.DC) Harms dibuat menjadi 5 konsentrasi, yaitu konsentrasi 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm, 40 ppm, dan 50 ppm. Dimana untuk membuat konsentrasi larutan uji dilakukan pengenceran dari larutan stok 500 ppm dari masing-masing ekstrak. Untuk ekstrak *n*-heksana pada larutan stok ditambahkan tween 20 sebagai emulsifier sebanyak 10 $\mu$ L, penambahan ini bertujuan untuk melarutkan ekstrak *n*-heksana dalam aquades. Berdasarkan Tabel 4.6. Menunjukkan bahwa ekstrak *n*-heksana memiliki toksisitas tertinggi yang ditunjukkan dengan nilai LC<sub>50</sub> 12,426 diikuti dengan nilai ekstrak etil asetat LC<sub>50</sub> 23,753 dan nilai ekstrak metanol LC<sub>50</sub> 93,573.

Semakin besar atau tinggi suatu konsentrasi ekstrak semakin tinggi respon atau dampak yang ditimbulkan, yakni kematian pada hewan uji. Pendekatan uji toksisitas dalam penelitian ini menggunakan 2 jenis kontrol yakni kontrol negatif dan kontrol positif, kontrol negatif adalah larutan sintetik garam yang tanpa penambahan ekstrak, kontrol positif adalah larutan sintetik garam yang ditambahkan dengan ekstrak yang telah diencerkan. Organisme kontrol dan larutan uji dimasukkan dalam wadah uji tanpa pergantian larutan sintetik garam selama 24 jam.

Metode uji toksisitas dengan metode BSLT dengan hewan uji Larva *Artemia salina* Leach dikatakan bersifat toksik jika nilai LC<sub>50</sub> < 1000 ppm. LC<sub>50</sub> akut jika kematian hewan iju terjadi selama 6 jam paparan sedangkan LC<sub>50</sub> kronik jika kematian hewan uji terjadi paparan selama 24 jam karena dibutuhkan waktu yang lebih lama untuk kelarutan ekstrak. Efek toksik memberikan indikasi terganggunya proses pembentukan sel yang diasumsikan sebagai sel kanker (Anderson *et al.*, 1991).

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa Hasil uji Kualitatif melalui Skrining Fitokimia terhadap sampel ekstrak daun tumbuhan dari *Chisocheton sp* (C.DC) Harms menunjukkan bahwa pada sampel mengandung senyawa; Alkaloid, Saponin,

Steroid, Flavonoid dan Tanin. Ekstrak daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms bersifat toksik dengan nilai LC<sub>50</sub> 12.426 ppm untuk ekstrak *n*-heksana, LC<sub>50</sub> 23.753 ppm untuk ekstrak etil asetat, dan LC<sub>50</sub> 93.573 ppm untuk ekstrak metanol. Untuk ekstrak *n*-heksana memiliki nilai toksik tertinggi sebesar LC<sub>50</sub> 12.426 ppm. Dengan ekstrak *n*-heksana memiliki kandungan sitotoksik tertinggi. Dengan demikian dapat dikatakan bahwa ekstrak daun *Chisocheton sp.* (C.DC) Harms berpotensi sebagai senyawa bioaktif.

Dyer, S.D., Lauth, J.R., Morral, S.W., Herzog, R.R., & Cherry, D.S. 1997. *Chronic Toxicity Structure-Activity Relationship for Alkyl Sulphates. Environmental Toxicology*, 12(4), 295-303.

### DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, S.A. 1986. *Kimia Organik Bahan Alam*. Jakarta: Karnunika.
- Anderson, J.E., Goetz, C.M., & Mc Laughlin, J.L. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Natural Product Chemistry*, 2(3), 107-111.
- AOAC. 1995. *Official Methods of Analysis 16 Ed.* United State of America: Association of Official Analytical Chemist.
- Awang, K., Lim, C.S., Mohamad, K., Morita, H., Hirasawa, Y., Takeya, K., Thoison, O., & Hadi, A.H.A. 2007. Erythrocarpines A-E, new cytotoxic limonoids from *Chisocheton erythrocarpus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 15(17), 5997-6002.
- Casarett & Doull's. 1975. *The Basic Science of Poisons 7*. Kansas: University of Kansas Medical Center.
- Chong, S.L., Awang, K., Martin, M.T., Mokhtar M.R., Chan, G., Litaudon, M., Gueritte, F., & Mohamad, K. 2012. Malayanines A and B, two limonoids from *Chisocheton erythrocarpus* Hiern. *Tetrahedron Letter*, 53(40), 5355-5359.
- Cordell, G.A. 1981. Introduction to Alkaloid Biogenetic Approach. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 72(3), 328-328.

- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Mengekstrasi Tumbuhan Ed 2*, Bandung: ITB.
- Harborne, J.B. 1996. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*. Terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung: ITB.
- Heyne, K. 1987. *The useful Indonesian Plants Research and Development Agency*. Jakarta: Ministry of Forestry.
- Inada, A., Sukemawa, M., Murata, H., Nakanishi, T., Tokuda, H., Nishino, H., Iwashima, Darnaedi, D., & Murata, J. 1993. Phytochemical studies on Maleaceous Plant. Part VIII. Structures and Inhibitory Effects on Epstein-Barr Virus Activation of Triterpenoida from Leaves of *Chisocheton macrophyllus* King. *Chemical & Farmaceutical Bulletin*, 41(3), 617-619.
- Katja, D.G., Sonda, A.A., Huspa, D.H.P., Mayanti, T., & Supratman, U. 2015. 7-hidroksi-6-metoksi Kumarin (Skopoletin) dari Kulit Batang *Chisocheton celebicus* (Meliaceae). *Jurnal Kimia*, 9(2), 267-270.
- Kikuzaki, H., Hisamoto M., Hiroze, K., Akiyama, K., & Taniguchi, H. 2002. Antioxidants Properties of Ferulic Acid and Its Related Compound. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 50(7) : 2161-2168
- Kusmoro, J. 2018. Herbarium Laboratorium Taksonomi Tumbuhan. Bandung: Biologi FMIPA UNPAD.
- Lim, C.S. 2008. Chemical constituents of *Chisocheton erythrocarpus hiern*. Malaysia: Departement of Chemistry Faculty of Science University Malaya.
- Mabberley, D.J., & C.M. Pannell. 2007. *Meliaceae*. in: E. soepadmo, L.G. saw, R.C.k. Chung & R. kiew (eds.). Kuala Lumpur: Forest Research institute Malaysia.
- Mabberley, D.J., Pannell., & Sing, A.M. 1995. *Meliaceae Flora Malesiana. Spermatophyta*, 12(1), 1-407.
- Maneerat, W., Laphookhieo, S., Koysomboon, S., & Chantrapomma. 2008. Antimalarial, Antimicrobial and Cytotoxic limonoid from *Chisocheton siamensis*. *Phytomedicine*, 15(12), 1130-1135.

Marlina, S.D., Suryanti, V., & Suyono. 2005.

Skrining Fitkomia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz) Dalam Ekstrak Etanol. *Biofarmasi*, 3(1), 26-31.

Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobson, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J.L. 1982. Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(5), 31-34.

Mohamad, K., Hirasawa, Y., Lim, C.S., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Takeya, K., & Morita, H. 2008. Ceramicines A and walsogyne A novel limonoids from two species of meliaceae, *Tetrahedron letter*, 49(27), 4276-4278.

Mohamad, K., Hirasawa, Y., Litaudon, M., Awang, K., Hadi, A.H., Takeya, K., Ekasari, W., Widyawaruyanti, A., Zaini, N.C., & Morita, H. 2009. Ceramicines B-D, new antiplasmodial limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(2), 727-730.

Najmuldeen, I.A., Hadi, A.H.A., Awang, K., Mohamad, K., Ketuly, K.A., Mukhtar, M., Chong, S.S., Chan, G., Nafiah M.A., Weng, N.S., Shirota, O., Hosoya, T., Nugroho, A.E., & Morita, H. 2011. *Chisomicines* A-C, limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Journal of Natural Products*, 74(5), 1313-1317.

Noorhidayah dan Hajar, I. 2004. *Keanekaragaman Tumbuhan Berkhasiat Obat Sepanjang Broadwalk Sangkima Taman Nasional Kutai Kalimantan Timur*. Samarinda: Fakultas Kehutanan Unmul.

Nurlelasari., Muflihah, L.F., Wardoyo, M.M., Harneti, D., Puspa, H., & Awang, K.

2014. Senyawa 7-Hidroksi-6-Metoksi Kumarin yang Bersifat Sitotoksik dari Kulit Batang *Chisocheton macrophyllus* (Meliaceae). *Bionatura-Jurnal Ilmu-ilmu Hayati dan Fisik*, 16(1), 59-61.
- Parmar, B.S. 1995. *Result with commercial neem formulations produced in India*. In H. Schmutterer (ed), *The neem tree Azadirachta indica A. Juss and other Meliaceae plants*. Tokyo: Sources of unique natural products for integrate pest management.
- Phongmaykin, J., Kumamoto, T., Ishikawa, T., Suttisri, R., & Saifah, E. 2008. A New Sesquiterpene and Other Terpenoid Constituents of *Chisocheton penduliflorus*. *Archives of Pharmacal Research*, 31(1), 21-27.
- Robinson, T. 1991. *The Organic Constituents of Higher Plants 6 edition*. Boston: Departement of Biochemistry University of Massachusetts.
- Satyajit. 2007. *Kimia untuk Farmasi, Bahan Kimia Organik, Alam dan Umum*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Sudjadi. 1988. *Metode Pemisahan* Yogyakarta: Kanisius.
- Svehla, G. 1990. Buku Teks Analisis Anorganik Kualitatif Makro dan Semimikro. Edisi kelima. Penerjemah: Setiono, L. dan Pudjaatmaka, A.H. Jakarta: PT. Kalman Media Pusaka.
- Vossen, V.D.H.A.M., & Umali, B.E. 2002. *Plant resources of south-east Asia no. 14 vegetable oils and fats*. Bogor: Prosea Foundation.
- Wirasuta, I.M.A.D., and Niruri, R. 2017. *Toksikologi Umum*. Bali: FMIPA Unud.
- Wong, C.P., Shimada, M., Nagakura, Y., Nugroho, A.E., Hirasawa, Y., Kaneda, T., Awang, K., Hamid, A., Hadi, A., Mohamad, K., Shiro, M., & Morita, H. 2011. Ceramides E-1, New Limonoids from *Chisocheton ceramicus*. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin*, 59(3), 407-411.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B., & Kong, L.Y. 2009. Tetranortriterpenoids from *chisocheton paniculatus*. *Journal of Natural Products*, 72(11), 2014-2018.
- Yang, M.H., Wang, J.S., Luo, J.G., Wang, X.B., & Kong, L.Y. 2011. Chisopanins A-K, 11 New newprotolimonoids from *chisocheton paniculatus* and their anti-inflammatory activities. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 19(4), 1409-1417.