



MEDIA FARMASI

An Indonesian Pharmaceutical Journal

ISSN: 0854-3054 Volume 14 No. 1 Juni 2006

Media pendidikan, penelitian dan informasi ilmiah

Pembina :

Rektor USU
Dekan FMIPA USU

Penanggung Jawab :

Ketua Departemen Farmasi

Ketua Penyunting :

MP. Nasution, MPS., Ph.D., Apt

Wakil Ketua Penyunting :

Prof. Urip Harahap, Ph.D., Apt

Dewan Penyunting :

Prof. Sumanio HS Putra, Ph.D., Apt.
Ginda Haro, Ph.D., Apt.
Drs. Rasmadin Muktar, M.S., Apt.
Drs. Salim Usman, M.Si., Apt.
Drs. Ismail, M.Si., Apt.
Dra. Saodah, M.Sc., Apt.
Dra. Masfria, M.S., Apt.

Penyunting Pelaksana :

MP. Nasution, MPS., Ph.D., Apt.
Karsono, Ph.D., Apt.
Drs. Wiryanto, M.S., Apt.

Diterbitkan oleh :

Departemen Farmasi
FMIPA USU Medan

Alamat Penerbit/Redaksi :

Departemen Farmasi FMIPA USU
Jalan Bioteknologi No. 1
Kampus USU, Medan 20155
Telp./Fax: 061-8223558
E-mail: sumadio@karet.usu.ac.id

AKREDITASI DIRJEN DIKTI NO. 49/DIKTI/KEP/2003

Pembuatan membran alginat yang mengandung povidon iodum dan efcknya terhadap penyembuhan luka pada marmut. Anayanti Arianto

Pembuatan dan karakterisasi kapsul alginat tipe matriks yang tahan terhadap asam lambung. Hakim Bangun, Pengarapen, Timbul, Christine

Profil disolusi mikrokapsul klaritromisin menggunakan amilopektin-PEG 4000. Elfi, Salman, Deasi

Kajian tentang penetapan kadar dimenhidrinat secara spektrofotometri sinar tampak dengan menggunakan reaksi warna Parri. Muchlisyam

Penetapan kadar Pb (timbal) pada beberapa buah-buahan yang dijual di beberapa pinggir jalan di Yogyakarta dengan spektrofotometer serapan atom. Zainul dan Sumantri

Kajian toksisitas subkronis ekstrak etanol daun *Eugenia cumini* Merr. Pada mencit putih jantan. Helmi, Margaretha, Netty

Uji aktivitas antibakteri dari ekstrak etanol daun dan bunga kenanga (*Cananga odorata* (Lam) Hook. f. & Thoms) terhadap beberapa bakteri. Masfria

Pemanfaatan ekstrak herba dari akar kucing-kucingan (*Acalypha indica* L) sebagai antibakteri. Nazliniwaty

Uji daya antibakteri ekstrak dan minyak atsiri buah kemukus (*Piper cubeba* L.) Terhadap penyebab infeksi saluran kemih secara *in vitro*. Saleha Salbi

Akumulasi gopipol dari kultur kalus *Gossypium hirsutum* L. Pada tingkat konsentrasi sukrosa yang berbeda. Suci Rahayu

Uji *Brine-shrimp* dan pengaruh ekstrak metanol daun tumbuhan pradep *Psychotria stipulacea* Wall (Familia; Rubiaceae) terhadap mikroba. Dwi, Munir, Nani, Tata

UJI *Brine-shrimp* DAN PENGARUH EKSTRAK METANOL DAUN TUMBUHAN PRADEP (*Psychotria stipulacea* Wall (Familia: Rubiaceae)) TERHADAP MIKROBA

Oleh:

Dwi Suryanto¹, Tata Bintara Kelana², Erman Munir¹, dan Nona Nani

¹Departemen Biologi, FMIPA USU. Jln. Bioteknologi No. 1, Kampus USU, Medan 20155.

²Kopertis Wilayah I Dpk. UMA. Jln. Kolam No. 1, Medan 20233.

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian uji ekstrak metanol daun tumbuhan pradep *Psychotria stipulacea* Wall terhadap *brine-shrimp* (*Artemia salina*) untuk mengetahui LC₅₀ dan pengaruh ekstrak terhadap mikroba, seperti bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan *Serratia marcescens*, bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus* sp., dan jamur *Candida albicans*. Untuk mengetahui kandungan senyawa dalam daun dilakukan uji pendahuluan fitokimia. Uji pendahuluan fitokimia menunjukkan bahwa daun pradep mengandung alkaloida dan fenolik, tetapi tidak mengandung flavonoida, saponin, dan kumarin. Hasil uji terhadap *brine-shrimp* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun pradep memiliki LC₅₀ sebesar 975,24 µg/ml. Hasil uji pengaruh ekstrak terhadap mikroba uji menunjukkan bahwa ekstrak lebih mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *Serratia marcescens* dan gram positif *Staphylococcus aureus* dibandingkan dengan gram negatif *Escherichia coli*, gram positif *Bacillus* sp., dan jamur *Candida albicans*. Secara umum, penghambatan pertumbuhan bakteri mulai terjadi pada konsentrasi 1%. Konsentrasi ekstrak yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan jamur lebih tinggi dibandingkan konsentrasi untuk menghambat pertumbuhan bakteri, yaitu 15%.

Kata kunci: *Psychotria stipulacea*, ekstrak daun, uji aktivitas dan toksisitas.

Pendahuluan

Dua sistem pengobatan yang berbeda, yakni pengobatan modern dan tradisional, merupakan kebutuhan masyarakat baik di kota maupun di desa. Pengobatan tradisional masih tetap digunakan oleh sebahagian masyarakat menunjukkan bahwa budaya-budaya leluhur masih tetap terpelihara. Pengobatan tradisional bagi masyarakat di desa merupakan alternatif pertama. Pengobatan modern digunakan sebagai alternatif kedua apabila pengobatan tradisional tidak berhasil menyembuhkan penyakit. Sebaliknya masyarakat perkotaan menjadikan pengobatan modern sebagai alternatif pertama dan pengobatan tradisional sebagai alternatif kedua (Siodjang, *et al.*, 1993).

Pengobatan alternatif sekarang banyak digunakan untuk mengendalikan berbagai jenis penyakit. Salah satunya berupa penggunaan ekstrak alami tumbuhan (Jaiswal, *et al.*, 1994). Penggunaan ekstrak tumbuhan telah berlangsung selama ribuan tahun terutama di desa untuk mengatasi masalah kesehatan sehari-hari (Sardjono, 1989). Agar peranan obat tradisional, khususnya tumbuhan berkhasiat obat dalam pelayanan kesehatan dapat ditingkatkan, perlu didorong upaya pengenalan, penelitian, pengujian, dan pengembangan khasiat dan keamanan suatu tumbuhan (Hembing, *et al.*, 1993).

Perbedaan asal tumbuhan dan cara pembuatan ramuan mengakibatkan perbedaan jumlah kandungan obat. Hal ini menyebabkan efektivitas khusus ramuan berbeda-beda, oleh karena itu perlu dilakukan isolasi zat-zat aktif yang ada dalam ekstrak atau rebusan obat tersebut sehingga diperoleh zat kimianya (Widodo, 2004). Senyawa kimia yang bermanfaat obat dari tumbuhan

merupakan hasil dari metabolit sekunder, yaitu hasil samping proses metabolisme, seperti alkaloida, steroida/terpenoida, flavonoida, fenolik, kumarin, kuinon, lignin, dan glikosida. Fungsi metabolit sekunder pada organisme sangat bervariasi, antara lain sebagai pelindung atau pertahanan diri terhadap serangan dan gangguan yang ada di sekitarnya, dan sebagai antibiotika (Tamin dan Arbain, 1995).

Metabolit sekunder bila dibanding dengan metabolit primer penyebarannya lebih terbatas dan terdapat terutama pada tumbuhan dan mikroba serta memiliki karakteristik untuk setiap genus, spesies, atau strain tertentu. Metabolit sekunder dibentuk melalui jalur khusus di luar jalur metabolit primer. Metabolit sekunder tidak bersifat esensial untuk kehidupan, meski penting bagi organisme yang menghasilkannya. Namun demikian, sebagian besar peran dan kepentingannya masih belum diketahui dengan jelas (Herbert, 1981).

Penggunaan tumbuhan obat di Indonesia masih berdasarkan kebiasaan yang turun temurun, belum didasari penelitian farmakologi dan percobaan klinik (Sardjono, 1989). Masyarakat yang tinggal di sekitar kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat, Sumatera Utara yang banyak didominasi oleh suku Karo, telah mengenal dan sekaligus memanfaatkan beberapa jenis tumbuhan yang berpotensi sebagai obat. Tumbuhan tersebut antara lain *Psychotria stipulacea* Wall (Familia: Rubiaceae) yang dikenal dengan nama daerah daun pradep dimanfaatkan sebagai obat sariawan dan obat sakit pinggang (Mumpuni, 2004).

Pengujian ekstrak tumbuhan tersebut sebagai obat belum diujikan secara ilmiah, misalnya dengan melihat pengaruhnya terhadap *brine-shrimp* (*Artemia salina*), bakteri, dan jamur. Oleh karenanya perlu dilakukan upaya penelitian dan pengujian lebih lanjut melalui uji toksisitas dengan *brine-shrimp* (*A. salina*), dan secara mikrobiologis terhadap beberapa jenis bakteri dan jamur penyebab penyakit untuk membuktikan tumbuhan tersebut benar berpotensi sebagai obat.

Bahan dan Metode

Pengambilan sampel tumbuhan

Sampel tumbuhan berupa daun yang digunakan untuk penelitian ini berasal dari spesies *Psychotria stipulacea* yang dikoleksi dari hutan Taman Nasional Gunung Leuser (TNGL) Tangkahan Kabupaten Langkat Sumatera Utara Medan. Sampel daun segar dibawa ke laboratorium. Perendaman dilakukan sebelum daun diproses lebih lanjut agar sampel daun tetap segar.

Pengeringan sampel tumbuhan

Daun diletakkan masing-masing pada tempat yang telah disediakan. Satu persatu daun-daun tersebut dicuci bersih (daun-daun yang rusak atau busuk tidak ikut dipergunakan). Sampel daun yang telah dicuci bersih dipotong kecil-kecil agar mudah dikeringkan. Setelah sampel daun dipotong, dilakukan pengeringan dengan memasukkan masing-masing jenis sampel daun ke dalam oven dengan suhu 30°- 40°C selama 24 jam.

Pembuatan ekstrak metanol tumbuhan obat

Sampel daun kering dimasukkan ke dalam wadah, dimaserasi dengan metanol sebagai pelarut kemudian ditutup rapat. Sampel dibiarkan selama 5 hari terlindungi dari cahaya. Pengadukan dilakukan setiap hari. Setelah 5 hari, campuran tersebut diserkai dan disaring hingga diperoleh maserat. Maserat yang diperoleh dari masing-masing campuran diuapkan dengan menggunakan rotavapor. Ekstrak kental yang diperoleh dimasukkan ke dalam botol vial steril dan dilanjutkan dengan proses pengeringan menggunakan desikator. Masing-masing ekstrak yang sudah kering sebagian dilarutkan dengan dimetilsulfoksida (DMSO). Pengujian antimikroba larutan ekstrak dilakukan pada konsentrasi (g/v) 1%, 5%, 10%, 15%, dan 20%.

Uji pendahuluan fitokimia

Keberadaan alkaloida dalam daun dilakukan dengan pereaksi Mayer. Sekitar 4 g contoh dipotong-potong dan dihaluskan dengan sedikit pasir dan 4 ml kloroform. Hasil gerusan ditambahkan kloroform-amoniak 0,05 N (\pm 5 ml) sambil digerus beberapa saat. Ekstrak kloroform-amoniak disaring dengan kapas dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi lalu ditambahkan asam sulfat 2 N (10-20 tetes).

Tabung dikocok perlahan dengan cara membalik tabung reaksi dan dibiarkan sejenak. Lapisan asam dipipet ke dalam dua tabung reaksi kecil dan diuji dengan pereaksi Mayer. Senyawa alkaloida dapat dilihat dengan terbentuknya endapan (Culvenor dan Fitzgerald, 1963). Pemeriksaan fenolik dilakukan dengan menggunakan besi (III) klorida. Warna biru atau biru ungu mengindikasikan adanya senyawa ini (Harborne, 1987).

Pemeriksaan flavonoida dilakukan dengan cara mendidihkan potongan daun segar dengan api. Air rebusan diambil selagi masih panas, kemudian dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan direaksikan dengan HCl sebanyak 0,5 volume air dan beberapa butir serbuk magnesium. Munculnya warna oranye sampai merah mengindikasikan adanya flavonoida (Harborne, 1987).

Pemeriksaan saponin dilakukan menggunakan air rebusan contoh dalam tabung reaksi yang dikocok kuat beberapa saat. Adanya saponin ditandai dengan terbentuknya busa permanen kurang lebih 15 menit dan tidak hilang dengan penambahan satu tetes asam klorida (Harborne, 1987).

Pemeriksaan kumarin memakai plat kromatografi lapis tipis. Noda contoh yang ditotolkan dan dielusi dengan pelarut organik diamati fluoresensinya di bawah lampu UV 365 nm. Noda diolesi larutan NaOH 10% dalam metanol, kemudian diamati kembali dengan lampu UV 365 nm. Adanya kumarin ditandai fluoresensi biru terang (Feigl, 1960).

Uji daya hambat pertumbuhan mikroba

Biakan-biakan bakteri uji yang digunakan (*Escherichia coli*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus*, dan *Bacillus* sp.) dalam penelitian ini diambil dari Laboratorium Mikrobiologi, FMIPA USU, Medan. Biakan jamur yang dipakai (*Candida albicans*) diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi, Fakultas Kedokteran, USU, Medan. Sebanyak 1-2 ose masing-masing biakan murni bakteri dan jamur uji yang telah dikultur disuspensikan dengan

menggunakan larutan NaCl 0,85% sampai diperoleh kekeruhan yang sama dengan standard McFarland (setara dengan 1×10^8 CFU/ml). Suspensi biakan uji diusapkan secara merata dengan menggunakan kapas lidi steril pada permukaan media *Nutrient Agar* (NA) untuk bakteri dan media *Potato Dextrose Agar* (PDA) untuk jamur uji dalam cawan petri. Biakan dibiarkan selama 15 menit.

Sebanyak 6 buah cakram kosong (Oxoid, Inggris) ditetesi masing-masing 10 μ l ekstrak. Cakram yang berisi ekstrak diletakkan pada suspensi sebaran biakan dalam cawan petri dengan menggunakan pinset steril sambil menekan sedikit pada permukaan media usapan agar menempel.

Biakan lalu diinkubasi pada suhu 30°C selama 48 jam. Diameter zona hambatan yang terbentuk setelah ekstrak berdifusi diukur dengan menggunakan mistar *antibacterial zone gauge for Kirby-Bauer methods of susceptibility testing* dalam satuan mm (Cappuccino dan Sherman, 1983). Sebagai pembanding digunakan cakram yang berisi antibiotika kloramfenikol (30 μ g/ml) dan penisilin (10 μ g/ml) (Oxoid, Inggris) untuk uji terhadap bakteri dan antibiotika nistatin (100 μ g/ml) untuk uji terhadap jamur.

Uji *brine-shrimp* (*A. salina*)

Kista *A. salina* ditetaskan dalam bejana yang sudah diisi air laut. Bejana terbagi dua bagian yang saling berhubungan, dengan bagian terang dan bagian gelap. Bejana dilengkapi dengan alat aerasi. Kista dimasukkan ke dalam bagian yang gelap dan dibiarkan menetas. Setelah 48 jam hewan uji siap untuk digunakan.

Larutan induk ekstrak daun untuk setiap uji dibuat dengan melarutkan 20 mg contoh dalam 2 ml metanol. Larutan uji 1000 ppm dibuat dengan memipet larutan induk sebanyak 500 μ l, sedangkan larutan uji 100 ppm dan 10 ppm dibuat dengan memipet 50 μ l dan 5 μ l dari larutan induk. Masing-masing larutan uji dimasukkan ke dalam vial. Vial larutan uji selanjutnya dimasukkan ke dalam desikator sampai larutan uji kering.

Masing-masing konsentrasi dibuat ulangan sebanyak 3 kali (3 vial) dan 1 vial untuk kontrol. Ke dalam setiap vial ditambahkan dimetilsulfoksida sebanyak 50 μ l dan ditambahkan air laut kurang lebih 2 ml. Sebanyak 10 ekor larva udang *A. salina* dimasukkan ke dalam vial dan volumenya dicukupkan sampai 5 ml dengan air laut. Kematian anak udang diamati setelah 24 jam. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan program Finney untuk menentukan LC_{50} .

Hasil dan Pembahasan

Uji pendahuluan fitokimia

Hasil pemeriksaan pendahuluan kandungan metabolit sekunder dari daun pradep memperlihatkan adanya kandungan senyawa alkaloida dan fenolik. Uji metabolit sekunder lainnya seperti flavonoida, saponin, dan kumarin menunjukkan bahwa senyawa ini tidak terdeteksi dalam daun pradep (Tabel 1).

Tabel 1. Kandungan beberapa senyawa metabolit sekunder dalam ekstrak metanol daun pradep *P. stipulacea*.

Golongan senyawa	Pereaksi	Hasil uji
Alkaloida	Mayer	+
Fenolik	FeCl ₃	+
Flavonoida	Mg-HCl	-
Saponin	Tes busa	-
Kumarin	10% NaOH dalam MeOH	-

Uji daya hambat pertumbuhan mikroba

Hasil uji pengaruh ekstrak metanol daun pradep terhadap bakteri *E. coli*, *Se. marcescens*, *Bacillus* sp., *S. aureus*, dan jamur *C. albicans* menunjukkan adanya aktivitas antimikroba (Tabel 2). Zona hambatan yang tegas terlihat pada semua perlakuan konsentrasi.

Tabel 2. Diameter zona hambat (cm) ekstrak metanol daun pradep *P. stipulacea* dan antibiotika.

Mikroba uji	Konsentrasi ekstrak					Antibiotika		
	1%	5%	10%	15%	20%	Penisilin	Kloramfenikol	Nistatin
<i>E. coli</i>	7.42	9.11	9.88	12.93	14.13	6.95	21.84	-
<i>Se. marcescens</i>	9.30	13.00	14.78	16.85	19.10	36.88	25.53	-
<i>Bacillus</i> sp.	7.95	8.50	9.08	13.45	14.48	9.55	28.90	-
<i>S. aureus</i>	10.50	11.45	13.23	18.15	18.48	28.03	28.61	-
<i>C. albicans</i>	?	?	?	10.92	11.97	-	-	23.16

Kemampuan menghambat ekstrak tumbuhan pradep terhadap bakteri gram positif (*Bacillus* sp. dan *S. aureus*) dan gram negatif (*E. coli* dan *Se. marcescens*) mempunyai kecenderungan yang sama meski kemampuan menghambat terbesar terjadi pada *Se. marcescens* dan yang paling rendah terjadi pada *E. coli*.

Pengujian pada biakan bakteri menunjukkan bahwa ekstrak daun pradep pada konsentrasi 1% sudah mulai terlihat menghambat pertumbuhan, tetapi tidak pada jamur. Peningkatan konsentrasi menghasilkan daya hambat yang semakin besar. Pengujian pada jamur memperlihatkan bahwa diperlukan konsentrasi yang lebih besar untuk dapat mulai menghambat pertumbuhan.

Penghambatan baru mulai terlihat pada konsentrasi ekstrak 15%. Pemanfaatan anggota lain dari suku Rubiaceae untuk penyembuhan penyakit kulit dan inflamatori dilakukan masyarakat India (Jain dan Basal, 2003). Gentry (1993) menyebutkan bahwa anggota suku Rubiaceae merupakan salah satu sumber obat etnis.

Secara umum antibiotika yang digunakan sebagai pembanding yaitu penisilin, kloramfenikol, dan nistatin menunjukkan kemampuan yang lebih baik pada bakteri dan jamur. Meskipun

demikian semua perlakuan ekstrak pada *E. coli* dan perlakuan ekstrak 15% dan 20% pada *Bacillus* sp. menunjukkan kemampuan ekstrak menghambat pertumbuhan mikroba lebih baik daripada antibiotika yang diberikan sebagai perlakuan kontrol (Tabel 3).

Tabel 3. Rasio zona hambat ekstrak daun pradep *P. stipulacea* dengan beberapa antibiotika pembanding.

Mikroba uji	Antibiotika	Kadar ekstrak				
		1%	5%	10%	15%	20%
<i>E. coli</i>	Penisilin	1.07 *	1.31 *	1.42 *	1.86 *	2.03 *
	Kloramfenikol	0.34	0.42	0.45	0.59	0.65
<i>Bacillus</i> sp.	Penisilin	0.83	0.89	0.95	1.41 *	1.52 *
	Kloramfenikol	0.28	0.29	0.31	0.47	0.50
<i>S. aureus</i>	Penisilin	0.37	0.41	0.47	0.65	0.66
	Kloramfenikol	0.37	0.40	0.46	0.63	0.65
<i>S. marcescens</i>	Penisilin	0.25	0.35	0.40	0.46	0.52
	Kloramfenikol	0.36	0.51	0.58	0.66	0.75
<i>C. albicans</i>	Nistatin	-	-	-	0.47	0.52

Keterangan: * = rasio > 1

Uji *brine-shrimp* (*A. salina*)

Uji *brine-shrimp* menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun pradep tidak cukup toksik terhadap larva *A. salina* (Tabel 4). Berdasarkan hasil uji *brine-shrimp* ekstrak daun pradep mempunyai $LC_{50} = 975.24$ ppm. Uji ini biasanya digunakan sebagai uji pendugaan awal atas kemampuan suatu senyawa menghambat pertumbuhan sel. Hasil ini masih dianggap baik untuk melihat kemampuan suatu senyawa dalam menghambat pertumbuhan sel.

Tabel 4. Uji toksisitas ekstrak daun pradep terhadap larva *A. salina*.

Perlakuan (ppm)	Jumlah larva <i>A. salina</i> mati (ekor)
Kontrol	0
10	3
100	4
1000	5

Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak metanol daun pradep *P. stipulacea* mengandung alkaloida dan fenolik, tetapi tidak mengandung flavonoida, saponin, dan kumarin. Ekstrak metanol daun pradep memberikan hambatan pertumbuhan yang bervariasi pada bakteri *E. coli*, *Se. marcescens*, *S. aureus*, *Bacillus* sp., dan jamur *C. albicans*.

Ekstrak metanol daun tumbuhan ini lebih mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram negatif *Se. marcescens* dan bakteri gram positif *S. aureus* daripada bakteri gram negatif *E. coli*, bakteri gram positif *Bacillus* sp., dan jamur *C. albicans*. Konsentrasi terkecil untuk dapat

menghambat pertumbuhan bakteri uji sebesar 1%, sedang untuk jamur dibutuhkan konsentrasi yang lebih besar, yaitu sekitar 15%. Nilai LC_{50} ekstrak metanol daun pradep *P. stipulacea* adalah 975.24 ppm.

DAFTAR PUSTAKA

- Cappucino, J.G., dan Sherman, N. (1983). *Microbiology a Laboratory Manual*. Addison-Wesley Publishing Co. Hal. 81-83, 371-377.
- Culvenor, C.C.J., dan Fitzgerald, J. S. (1963). A Field Method for Alkaloid Screening of Plants. *J Pharm. Sci.* **52**: 303-304.
- Feigl, F. (1960). *Spot Test in Organic Analysis*. Edisi ke-8 Japan: Elseiver Publishing Co. Hal. 464-466.
- Gentry, A.H. (1993). Tropical forest biodiversity and the potential for new medicine plants. In Kinghoin, A.D., Baladrin M.P. (ed). Human medicinal agents from plants. Washington DC: *American Chemical Society*, Symposium Series No. 534. Hal. 13-34
- Harborne, J.B. (1987). *Metode Fitokimia*. Terbitan Kedua. Bandung: ITB. Hal. 4-19.
- Heming, W.K., Setiawan, D., Agustinus, S.W., Thomas, Y., dan Bambang, W. (1993). *Tanaman Obat Berkhasiat di Indonesia*. Edisi kedua. Jakarta: Penerbit Pustaka Kartini. Hal. 11, 71-73.
- Herbert, R.B. (1981). *Biosintesis Metabolit Sekunder*. Penerjemah Ir. Bambang Srigandono, MSc. Edisi ke-2. Semarang: Penerbit IKIP-Semarang Press. Hal. 1-2.
- Jain, A., dan Basal, E. (2003). Inhibition of Propionibacterium acnes-induced mediators of inflammation by Indian herbs. *Phytomedicine*. **10**: 34-38.
- Jaiswal, A.K., Sail, K.B., dan Satya, B.A. (1994). Anxiolitik Activity of *Azadirachta indica* Leaf Ekstrak in Rats. *Indian .J Exp. Biology*. **31**: 47-56.
- Mumpuni, M. (2004). *Inventarisasi Tumbuhan Obat Di Kawasan Hutan Tangkahan Taman Nasional Gunung Leuser Kabupaten Langkat*. Skripsi S-1. Medan: FMIPA USU.
- Sardjono, O. (1989). *Penggunaan Obat Tradisional Secara Rasional*. Jakarta: Penerbit Majalah Cermin Dunia Kedokteran. Hal. 3-4.
- Siodjang, B.H., Nadjemuddin SmH.L., Nur, A.S. (1993). *Pengobatan Tradisional Pada Masyarakat Pedesaan Daerah Sulawesi Tengah*. Penerbit Departemen Pendidikan dan Kebudayaan, Direktorat Sejarah dan Nilai Tradisional, Proyek Penelitian Pengkajian dan Pembinaan Nilai-Nilai Budaya. Hal. 1-2.

- Tamin, R., dan Arbain, D. (1995). *Biodiversity dan Survey Etnobotani*. Makalah Lokakarya Isolasi Senyawa Berkhasiat. Padang: Kerjasama HEDS-FMIPA Universitas ANDALAS. Hal. 35-38.
- Tampubolon, O.T. (1995). *Tumbuhan Obat Bagi Pecinta Alam*. Cetakan kedua. Jakarta: Bhratara. Hal. 1.
- Widodo, R. (2004). *Panduan Keluarga Memilih dan Menggunakan Obat*. Editor Mastiah S, Mulyani N, dan Yasin M.N. Cetakan pertama. Yogyakarta: Penerbit Kreasi Wacana. Hal. 23, 45-56.