

## Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak Metanol Daun Ketepeng Cina (*Cassia alata* Linn)

### Isolation and Identification of Secondary Metabolites Compound of Methanol Extract of Seven Golden Candlestick (*Cassia alata* Linn)

<sup>1)</sup> Oktaviani Emlis Sesa, <sup>2)</sup> Taty Sulastry, <sup>3)</sup> Muharram

<sup>1, 2, 3)</sup> Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam  
Universitas Negeri Makassar, Jl. Dg Tata Raya Makassar, Makassar 90224  
Email fiani.sesa@gmail.com

#### ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa metabolitsekunder yang terdapat dalam ekstrak metanol daun ketepeng cina (*Cassia alata* Linn). Penelitian ini dilakukan melalui beberapa tahap yaitu preparasi sampel, maserasi dengan metanol, partisi dengan n-heksan, evaporasi ekstrak metanol, fraksinasi, pemurnian, dan identifikasi. Senyawa yang diperoleh berbentuk Kristal berwarna kuning, dan memberikan hasil positif alkaloid pada pereaksi Meyer dan Wagner yang ditandai dengan perubahan warna dari kuning menjadi orange dan endapan putih. Identifikasi senyawa menggunakan spektrofotometer IR mengindikasikan adanya gugus N-H ( $3421,72\text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $2954,95$ ;  $2924,09$ ;  $2852,72\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1707,00$ ;  $1627,92\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1278,81\text{ cm}^{-1}$ ), dan C-N ( $1203,58\text{ cm}^{-1}$ ).

**Kata kunci:** Isolasi, *Cassia alata* Linn, metabolit sekunder, alkaloid

#### ABSTRACT

This research aimed to isolate and identify the secondary metabolites compound from methanol extract of seven golden candlestick (*Cassia alata* Linn). This research was carried out in several steps, i.e preparation of sample, maceration with methanol, partition with n-hexane, evaporation of methanol extract, fractination, purification, and identification. The result obtained was yellow crystal, and gave positive alkaloids to the Meyer and Wagner test was marked with colour change from yellow to be orange and white precipitate . Identification of compound by using IR spectrofotometer indicated group N-H ( $3421,72\text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $2954,95$ ;  $2924,09$ ;  $2852,72\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1707,00$ ;  $1627,92\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1278,81\text{ cm}^{-1}$ ), and C-N ( $1203,58\text{ cm}^{-1}$ ).

**Keywords:** Isolation, *Cassia alata* Linn, secondary metabolites, alkaloid

#### PENDAHULUAN

Tumbuh-tumbuhan mempunyai kedudukan dan peranan yang amat penting dalam kehidupan manusia. Hampir lima dekade terakhir ini timbul ketertarikan yang kuat dalam meneliti tumbuhan sebagai sumber obat-obatan. Ini didasarkan pada

beberapa alasan. Pertama, adanya gerakan revolusi hijau yang didasari keyakinan bahwa pengobatan dengan tumbuhan lebih aman dan dapat mengurangi efek samping pada tubuh manusia dibandingkan dengan obat-obatan sintetis. Kedua, adanya fakta bahwa banyak obat-obatan penting

yang digunakan sekarang berasal dari tumbuhan. Diperkirakan sekitar 30.000 spesies tumbuhan ditemukan di dalam hutan hujan tropika, sekitar 1.260 spesies diantaranya berkhasiat sebagai obat (DepKes RI. 1989).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi untuk diteliti adalah ketepeng cina (*Cassia alata* L.). Menurut Syamsuhidayat dan Ria (1991) dalam Hujjatusnaini (2008), daun ketepeng cina berbentuk jorong sampai bulat telur sungsang, merupakan daun majemuk menyirip genap yang berpasang-pasangan sebanya 5 – 12 baris, mempunyai anak daun yang kaku dengan panjang 5 – 15 cm, lebar 2,5 – 9 cm, ujung daunnya tumpul dengan pangkal daun runcing serta tepi daun rata. Pertulangan daunnya menyirip dengan tangkai anak daun yang pendek dengan panjang  $\pm 2$  cm dan berwarna hijau

Selama ini ketepeng cina banyak dimanfaatkan secara tradisional, antara lain adalah sebagai antiparasit, laksana, kurap, kudis, panu, eksem, malaria, sembelit, radang kulit bertukak, sifilis, herpes, influenza dan bronchitis. Ketepeng cina dilaporkan memiliki potensi untuk merangsang respon imun. Masyarakat menggunakan daun ketepeng cina secara tradisional dengan cara digosokkan pada kulit yang sakit atau ditumbuk sampai lumat lalu ditempelkan pada kulit yang sakit. (Kusmardi et al, 2007).

Beberapa senyawa yang telah berhasil diisolasi dari genus *Cassia* adalah senyawa golongan stilbenoid, antrakuinon dan flavonoid. Hasil penelitian yang telah dilaporkan memperlihatkan bahwa senyawa-senyawa yang telah diisolasi dari

beberapa spesies dari genus *Cassia* tersebut mempunyai beberapa keaktifan biologis yang menarik (Kristanti, A.N., et al, 2006).

Tanaman johar (*Cassia siamea* Lamk.) secara empirik digunakan oleh sebagian masyarakat Indonesia sebagai obat malaria) dan oleh sebagian masyarakat di daerah Aceh digunakan juga untuk mengobati penyakit kuning (hepatitis). Penelitian pendahuluan telah dilakukan oleh beberapa peneliti, menunjukkan bahwa kandungan kimia daun johar adalah alkaloida, flavonoida, tanin galat, steroidaltriterpen, K, Ca, Mg dan Fe (Wahjodi, et al, 1994).

Berdasarkan uraian dari segi manfaat dan kemotaksonomi yang menarik dari daun ketepeng cina, sehingga tujuan dari penelitian ini yaitu mengidentifikasi jenis senyawa metabolit sekunder ekstrak methanol daun ketepeng cina.

## METODE PENELITIAN

### A. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu blender, baskom, neraca analitik, bejana maserasi, evaporator, corong Buchner, kolom kromatografi cair vakum, kolom flash, labu Erlenmeyer berbagai ukuran, gelas ukur, corong biasa, tabung reaksi, gelas kimia, pipet tetes, plat tetes, pipa kapiler, botol semprot, botol vial, batang pengaduk, lampu UV (panjang gelombang 254 nm dan 365 nm), penangas air, oven, chamber dan spektrofotometer FTIR. Bahan-bahan yang digunakan adalah n-heksana, metanol, etil-asetat, kloroform, aquadest, beberapa reagen seperti pereaksi Liebermann-Buchard,  $\text{FeCl}_3$ , Dragendorff, dan Wagner, silika gel

G 60, pelat KLT aluminium berlapis silika gel 60 GF<sub>254</sub>, aluminium foil dan kertas saring.

## B. Prosedur Kerja

### 1. Persiapan Bahan dan Ekstraksi

Sampel berupa daun ketepeng cina dikeringkan dengan cara diangin-anginkan. Daun yang telah kering kemudian dihaluskan. Sebanyak 3 kilogram serbuk halus daun ketepeng cina dimaserasi dengan metanol selama 3 x 24 jam. Ekstrak dievaporasi. Selanjutnya dilakukan uji pendahuluan terhadap ekstrak kental yang diperoleh dengan berbagai pereaksi diantaranya pereaksi Liebermann-Burchard (terpenoid dan steroid), FeCl<sub>3</sub> (flavonoid), Dragendroff (alkaloid), dan Wagner (alkaloid). Ekstrak kental yang diperoleh dipartisi dengan pelarut n-heksana menggunakan corong pisah sehingga diperoleh ekstrak n-heksana dan ekstrak metanol. Ekstrak metanol yang diperoleh diuji dengan Liebermann-Burchard, FeCl<sub>3</sub>, Dragendroff, dan Wagner.

### 2. Fraksinasi

Sebelum difraksinasi, ekstrak kental metanol dianalisis dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan eluen-eluen yang sesuai pada berbagai perbandingan untuk mengetahui jenis pelarut dan perbandingan yang sesuai pada kromatografi kolom cair vakum. Ekstrak kental yang terdiri dari beberapa komponen tersebut difraksinasi dengan metode kromatografi kolom cair vakum (KKCV) menggunakan silika gel 60 H Merck dan silika gel G 60 (230 –

400 mesh) sebagai fasa diam, sedangkan eluennya menggunakan eluen dari hasil KLT. Hasil fraksinasi di KLT dengan eluen yang sama, kemudian yang sama nilai *R<sub>f</sub>*-nya digabungkan.

Selanjutnya fraksi gabungan difraksinasi dengan kromatografi kolom flash (KKF). Tujuan dari kromatografi kolom flash adalah untuk memisahkan senyawa yang diperoleh yang berasal dari fraksinasi kromatografi kolom cair vakum sehingga lebih murni. Fraksi-fraksi yang diperoleh dianalisis menggunakan KLT. Fraksi-fraksi yang mempunyai nilai *R<sub>f</sub>* yang sama digabung kemudian diuapkan hingga diperoleh padatan.

### 3. Pemurnian

Komponen padatan yang diperoleh dikristalisasi atau direkristalisasi. Kemurnian senyawa yang diperoleh ditentukan dengan melakukan KLT sistem tiga eluen dengan eluen n-heksana : etil asetat, n-heksana : kloroform, etil asetat : kloroform dan uji titik leleh. Jika titik leleh senyawa menunjukkan trayek titik leleh yang tajam, maka senyawa tersebut telah murni.

### 4. Identifikasi

Kristal diuji menggunakan pereaksi Liebermann-Burchard, FeCl<sub>3</sub>, Wagner dan Dragendroff untuk mengetahui golongan senyawa metabolit sekunder yang diperoleh dan identifikasi lebih lanjut dilakukan uji spektroskopi dengan menggunakan spektrofotometer inframerah untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa tersebut.

**Tabel 1.** Hasil Uji Golongan Ekstrak Methanol

Pereaksi	Perubahan warna yang terjadi	Ket
Wagner	Hijau pekat → jingga	(+) Alkaloid
Meyer	Hijau pekat → endapan putih	(+) Alkaloid
FeCl <sub>3</sub> 1%	Hijau pekat → hitam pekat	(+) Flavonoid
Lieberman-Burchard	Hijau pekat → hijau	(+) Steroid

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### A. Preparasi sampel dan ekstraksi

Daun ketepeng cina yang telah dibersihkan dikeringkan dengan cara diangin-anginkan pada suhu kamar. Daun ketepeng cina yang telah kering dihaluskan dengan menggunakan blender dengan tujuan untuk memperluas permukaan dari daun ketepeng cina. Serbuk halus daun ketepeng cina sebanyak 3 kg dimaserasi dengan menggunakan metanol selama 3x24 jam untuk menarik senyawa metabolit sekunder yang ada pada daun ketepeng cina dan volume total metanol yang digunakan adalah 22 liter.

Maserat yang diperoleh dari proses maserasi sebanyak 12 liter. Maserat yang diperoleh kemudian disaring dengan corong buchner dengan menggunakan kertas saring whatman. Maserat yang telah disaring dievaporasi dengan tujuan untuk menguapkan pelarutnya (metanol) sehingga diperoleh ekstrak kental metanol sebanyak 700 mL.

### B. Uji golongan

Hasil uji golongan terhadap ekstrak kental yang diperoleh menggunakan pereaksi meyer, Lieberman-Burchard, besi (III) klorida (FeCl<sub>3</sub>), Wagner yaitu positif mengandung alkaloid, flavonoid, dan steroid.

Ekstrak kental metanol sebanyak 700 ml selanjutnya diekstraksi cair-cair dengan menggunakan 3 liter n-heksana. Selanjutnya ekstrak metanol di evaporasi. Kemudian dilakukan uji golongan terhadap ekstrak kental metanol (tabel 4.2). Ekstrak kental metanol diuapkan pelarutnya pada suhu kamar sehingga di peroleh ekstrak sebanyak 20 gram.

**Tabel 2.** Hasil Uji Golongan Ekstrak Metanol setelah Dipartisi dengan n-Heksana

Pereaksi	Perubahan warna yang terjadi	Ket
Wagner	Coklat pekat → Endapan coklat	(+) Alkaloid
Meyer	Coklat pekat → Endapan kuning	(+) Alkaloid
FeCl <sub>3</sub> 1%	Coklat pekat → Hijau pekat	(+) Flavonoid
Lieberman-Burchard	Coklat pekat → Hijau kecoklatan	(+) Steroid

### C. Fraksinasi dan Pemurnian

Sebanyak 5 gram ekstrak kental metanol difraksinasi dengan KKC.V. Sebelum dilakukan KKC.V terlebih dahulu dilakukan KLT untuk mengetahui jenis eluen yang akan digunakan pada saat KKC.V. Berdasarkan hasil KLT, diperoleh bahwa eluen n-heksana: etil asetat

dengan perbandingan (2:8) menunjukkan pola pemisahan noda yang baik dan Rf 0,3. Fraksinasi dilakukan dengan menggunakan fasa diam berupa silika gel G 60 dan menggunakan fasa gerak berupa eluen yang ditingkatkan keplarannya secara bergradien dimulai dari n-heksana 100%, n-heksana : etil asetat dan n-heksana : kloroform dengan perbandingan (19:1) sampai perbandingan (1:9). Hasil KKCv diperoleh sebanyak 60 fraksifraksi-fraksi dan diidentifikasi menggunakan KLT menggunakan eluen yang sama dengan perbandingan (9:1), (8:2), dan (7:3), (6:4), (5:5). Hasil fraksinasi dengan KKCv dapat di lihat dilampiran IVa. Fraksi-fraksi yang memiliki profil noda yang sama digabung sehingga diperoleh fraksi gabungan sebanyak 20 fraksi. Fraksi L berupa isolat berbentuk yang berwarna kuning dengan berat 59,2 mg. Isolat kemudian difraksinasi lebih lanjut dengan menggunakan KKF. Sebelum dilakukan KKF terlebih dahulu dilakukan KLT untuk menentukan eluen yang akan digunakan pada proses KKF. Berdasarkan hasil KLT diperoleh bahwa eluen n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 6:4 memiliki pemisahan paling baik. Sampel yang telah dipacking didalam kolom dielusi beberapa kali dengan eluen n-heksana : etil asetat (6:4) sehingga diperoleh sebanyak 39 fraksi. Fraksi-fraksi yang diperoleh kemudian di KLT untuk melihat kesamaan profil nodanya.

Pelarut dari fraksi-fraksi tersebut dibiarkan menguap hingga diperoleh padatan. Fraksi yang memiliki profil noda yang sama digabung sehingga diperoleh sebanyak 13 fraksi.

Selanjutnya dilakukan KLT terhadap fraksi gabungan yang diperoleh, dan pelarut dari masing-masing fraksi dibiarkan menguap hingga diperoleh padatan. Fraksi gabungan L4 berupa isolat berbentuk kristal berwarna kuning dengan berat 32 mg. Isolat tersebut direkristalisasi untuk memisahkan isolat dari pengotornya.

Proses rekristalisasi dilakukan dengan menggunakan pelarut yang dapat melarutkan pengotor dari isolat yang diperoleh dan pelarut yang digunakan adalah n-heksana. Proses rekristalisasi telah dilakukan secara berulang kali menggunakan n-heksana, lalu campuran n-heksana dengan etil asetat namun pada kromatogram hasil KLT masih terdapat tiga noda dengan berat 11 mg.

Hasil pemisahan L4, 2 isolat lainnya yang memiliki isolat lain hasil yang sama digabung dengan isolat yang bermassa 11 mg sehingga total massa isolat 21 mg. Fraksi gabungan L4 dengan massa 21 mg dikromatografi kolom flash lebih lanjut untuk memperoleh kristal yang murni. Fraksi gabungan L4 dianalisis KLT untuk mendapatkan eluen yang cocok pada KKF. Eluen yang menunjukkan kromatogram yang baik yaitu n-heksana-etil asetat (6:4). Sampel *dipacking* di dalam kolom dielusi beberapa kali dengan eluen n-heksana 100 %, lalu n-heksana : etil asetat (9:1) kemudian ditingkatkan keplarannya hingga n-heksana : etil asetat (5:5), dan diperoleh sebanyak 59 fraksi. Pelarut dari fraksi-fraksi dibiarkan menguap. Hasil KKF isolat murni berbentuk serbuk berwarna kuning dengan berat 6,2 mg.

#### D. Uji Kemurnian

Isolat yang diperoleh diuji kemurniannya dengan metode tiga sistem eluen dan uji titik leleh. Pada metode tiga sistem eluen kemurnian isolat yang diperoleh ditandai dengan munculnya noda tunggal pada setiap plat KLT. Adapun tiga jenis eluen yang digunakan yaitu n-heksana : kloroform (2:8) dengan Rf 0,3; n-heksana : etil asetat (7,5:2,5) dengan Rf 0,5; dan etil asetat : kloroform (3:7) dengan Rf 0,7 dan hasil yang diperoleh berupa noda tunggal seperti yang terlihat pada lampiran IIIf. Sedangkan tidak dilakukan uji titik leleh karena berat isolat 4,2 mg dan dipersiapkan untuk diidentifikasi

#### E. Identifikasi

##### 1. Uji golongan

Uji golongan dilakukan dengan menggunakan pereaksi Wagner, Meyer,  $\text{FeCl}_3$  1%, dan Lieberman-Burchard. Hasil uji golongan dapat dilihat pada tabel 3.

**Tabel 3.** Hasil Uji Golongan Isolat Murni

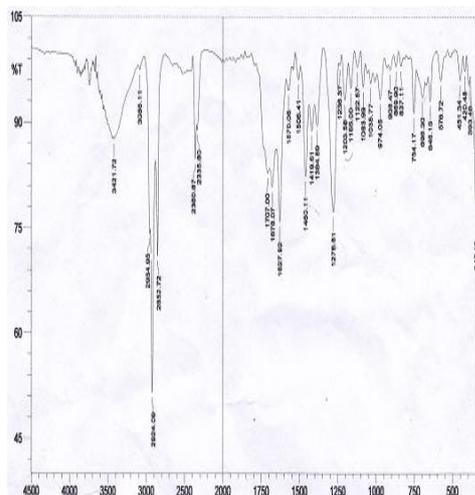
Pereaksi	Hasil	Keterangan
Wagner	Kuning → jingga Kuning	(+) alkaloid
Meyer	→ endapan putih	(+) Alkaloid
$\text{FeCl}_3$ 1%	Kuning → kuning	(-) Flavonoid
Lieberman- Burchard	Kuning → kuning	(-) Steroid

Hasil uji golongan yang diperoleh menunjukkan bahwa isolat murni merupakan senyawa golongan alkaloid.

##### 2. Uji Spektroskopi

Identifikasi isolat dilakukan dengan analisis spektroskopi infra merah (IR) Shimadzu Prestige-21 dengan pellet KBr pada rentang bilangan gelombang 4500–500  $\text{cm}^{-1}$  yang bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi dari senyawa yang diperoleh.

Berdasarkan analisis spektrum IR dari isolat fraksi L4\*1, kemungkinan terdapat beberapa gugus fungsi seperti N-H uluran pada daerah serapan bilangan gelombang 3421  $\text{cm}^{-1}$  memiliki intensitas sedang. Serapan ini didukung oleh munculnya serapan dengan intensitas lemah pada bilangan gelombang 1203,58  $\text{cm}^{-1}$  yang diidentifikasi sebagai gugus C-N. Adanya pita tajam dengan intensitas kuat pada serapan bilangan gelombang 2954  $\text{cm}^{-1}$ , 2924  $\text{cm}^{-1}$ , dan 2852  $\text{cm}^{-1}$  merupakan uluran C-H alifatik, hal diperkuat oleh serapan tajam dan sedang bilangan gelombang 1364  $\text{cm}^{-1}$ , dan 1460  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan C-H alifatik tekukan, dan didukung oleh serapan tajam dan lemah pada bilangan gelombang 974  $\text{cm}^{-1}$ , dan 754  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan vibrasi tekukan C-H aromatik. Gugus karbonil C=O diindikasikan oleh serapan yang tajam . bilangan gelombang 1627  $\text{cm}^{-1}$ , dan 1707  $\text{cm}^{-1}$  yang didukung oleh adanya C-O tekuk yang ditemukan di daerah serapan bilangan gelombang 1278,81  $\text{cm}^{-1}$ . Interpretasi data spektrum IR (bilangan gelombang, bentuk pita, intensitas, dan gugus fungsi) dapat dilihat pada Tabel 4 dan Gambar 1 berikut.



**Gambar 1.** Spektrum Infra Merah Isolat L4\*1

**Tabel 4.** Serapan IR Isolat Murni Dari Ekstrak Metanol Daun *C. alata* Linn dengan Kemungkinan Gugus Fungsinya

Posisi serapan ( $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$ )	Karakteristik serapan	Bentuk Pita	Intensitas
3421,72	Regang N-H (lit. 3000-3500 $\text{cm}^{-1}$ *)	Melebar	Sedang
2954,95; 2924,09; 2852,72	Regang C-H alifatik (lit. 2700-3000 $\text{cm}^{-1}$ **)	Tajam	Kuat
1707,00; 1627,92	Regang C=O (lit. 1540-1870 $\text{cm}^{-1}$ *)	Tajam	Sedang
1278,81	Tekuk C-O (lit. 1000-1300 $\text{cm}^{-1}$ *)	Tajam	Sedang
1364,89; 1460,11	Tekuk C-H alifatik (lit. 1300-1475 $\text{cm}^{-1}$ *)	Tajam	Sedang

1203,58	Regang C-N (lit. 1020-1250 $\text{cm}^{-1}$ **)	Tajam	Lemah
974,05; 754,17	Tekuk C-H aromatik (lit. 650-1000 $\text{cm}^{-1}$ **)	Tajam	Lemah

Sumber : \* Creswell, dkk (1982)

\*\*Silverstein, dkk (1984)

Berdasarkan analisis data spektrum IR dapat diusulkan bahwa isolat fraksi L4\*1 ekstrak metanol daun ketepeng cina merupakan senyawa dari golongan alkaloid yang mempunyai gugus fungsi N-H pada serapan 3421  $\text{cm}^{-1}$  yang merupakan ciri khas dari alkaloid. Adanya serapan 2954  $\text{cm}^{-1}$ , 2924  $\text{cm}^{-1}$ , dan 2852  $\text{cm}^{-1}$  yang memiliki intensitas tajam dan kuat yang diduga C-H alifatik. Serapan 1627  $\text{cm}^{-1}$ , dan 1707  $\text{cm}^{-1}$  diduga gugus karbonil (C=O). Alkaloid biasanya berupa senyawa padat, berbentuk kristal tidak berwarna (berberina dan serpentina berwarna kuning) dan hanya sedikit yang berupa cairan pada suhu kamar.

## KESIMPULAN DAN SARAN

### A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian, diperoleh senyawa hasil isolasi dari ekstrak metanol daun ketepeng cina yang diidentifikasi sebagai senyawa golongan alkaloid yang bersifat polar. Hal ini didukung oleh data uji golongan yang ditunjukkan dengan reaksi positif antara isolat murni dengan pereaksi Meyer dan Wagner yang ditandai dengan perubahan

warna dari kuning menjadi orange dan endapan putih, dan uji spektroskopi IR yang mengindikasikan adanya gugus N-H ( $3421,72\text{ cm}^{-1}$ ), C-H ( $2954,95$ ;  $2924,09$ ;  $2852,72\text{ cm}^{-1}$ ), C=C ( $1570,06$ ;  $1506,41\text{ cm}^{-1}$ ), C=O ( $1707,00$ ;  $1627,92\text{ cm}^{-1}$ ), C-O ( $1278,81\text{ cm}^{-1}$ ), dan C-N ( $1203,58\text{ cm}^{-1}$ ).

### B. Saran

Adapun hal-hal yang disarankan berkaitan dengan penyempurnaan penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Diharapkan ada penelitian lebih lanjut dengan melakukan analisa yang lebih lengkap meliputi GC-MS, H-NMR serta C-NMR untuk dapat menduga struktur senyawa secara lebih tepat terhadap senyawa yang telah diisolasi.
2. Diharapkan mempelajari aktivitas biologi senyawa alkaloid yang diperoleh agar potensinya dapat lebih diketahui.

### DAFTAR PUSTAKA

- Creswell, *et al.* 1982. *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Bandung : ITB
- Silvestein, *et al.* 1984. *Penyidikan Spektrometik Senyawa Organic Edisi Ke-4*. Jakarta : Erlangga
- Kristanti A N., *et al.* *Isolasi Senyawa Antrakuinon dari Cassia Multijuga (Leguminosae)*. Surabaya : C UNAIR
- Kusmardi, *et al.*, 2006. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Johar (Cassia Siamea Lamk.) Terhadap Peningkatan Aktivitas dan Kapasitas Fagositosis Sel Makrofag*. Jurnal Kesehatan. Vol 10: 89-93.
- DepKes RI. 1989. *Hematologi*. Jakarta : Departemen Kesehatan RI
- Wahjodi, B., dkk. 1994. *Penelitian Toksisitas Subkronik Infus Daun Johar (Cassia Siamea Lamk) Tikus Putih*. Jakarta : Pusat Penelitian dan Pengembangan Fannasi, Badan Litbangkes