

KARAKTERISASI EKSTRAK DAUN CANTIGI (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.)

ANA YULYANA, HENDIG WINARNO, KOSASIH

Program Magister Ilmu Kefarmasian, Fakultas Farmasi,
Universitas Pancasila, Jakarta Selatan

ABSTRAK

Cantigi (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.) banyak tumbuh di sekitar kawah gunung berapi namun belum banyak informasi yang terkuak. Tujuan penelitian: Melakukan karakterisasi ekstrak daun Cantigi yang diekstraksi secara maserasi menggunakan pelarut n-heksan, etilasetat, dan etanol 95%; penapisan fitokimia ekstrak; uji aktivitas sitotoksik ekstrak; fraksinasi ekstrak dengan kromatografi kolom; uji sitotoksik fraksi; pembuatan profil GC/MS fraksi teraktif. Hasil penelitian: Hasil penapisan fitokimia menunjukkan positif untuk flavonoid, steroid, tannin, dan triterpenoid. Aktivitas sitotoksik pada sel leukemia L1210 (IC_{50}) 12,67; 8,29; dan 10,42 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Fraksinasi ekstrak teraktif etilasetat (Kromatografi kolom: Fase diam silika gel 60, fase gerak kloroform:metanol 10:1, 8:1, dan 4:1) diperoleh 4 fraksi. Aktivitas sitotoksik (IC_{50}) Fraksi 1-4 adalah 3,62; 1,69; 2,98; dan 2,96 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Karakterisasi fraksi F2 dengan GC/MS menunjukkan 15 senyawa. Simpulan: Aktivitas sitotoksik fraksi ekstrak etilasetat (F2) lebih tinggi dibandingkan non-fraksi ekstrak etilasetat dan ini belum pernah dilaporkan sebelumnya.

Kata kunci: Karakterisasi, *Vaccinium varingiaefolium*, sitotoksik, sel Leukemia L1210

ABSTRACT

Cantigi (*Vaccinium varingiaefolium* Miq.) grows abundantly close to craters but has very little information. Research purposes: Characterizing the leaves extracts made by maceration using n-hexane, ethylacetate, and 95% ethanol; extracts phytochemical screening; cytotoxic activity testing against leukemia L1210 cell lines; extract fractionating using a column chromatography; cytotoxic activity testing of fractionated extract; and profiling GC/MS. Results: Phytochemical screening were positive for flavonoid, steroid, tannin, and triterpenoid. Cytotoxic activities of extracts (IC_{50}) 12,67; 8,29; and 10,42 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Fractionation of the ethylacetate extract (the column chromatography: stationary phase of silika gel 60, eluents of chloroform:methanol of 10:1, 8:1, and 4:1) resulted in 4 fractions with cytotoxic activities (IC_{50}) were 3,62; 1,69; 2,98; and 2,96 $\mu\text{g}/\text{mL}$, respectively. Characterization of the F2 fraction using GC/MS showed 15 chemical compounds. Conclusion: The cytotoxic activity of the F2 fraction of ethylacetate extract was higher than that of unfractionated ethylacetate one and no report from previous studies.

Key words: Characterization, *Vaccinium varingiaefolium*, cytotoxic, Leukemia L1210 cell lines

PENDAHULUAN

Dataran tinggi sekitar kawah gunung berapi di sekitar Bandung seperti Tangkuban Perahu (Bandung Utara), Papandayan dan Patuha (Bandung Selatan) didominasi oleh tumbuhan *Vaccinium varingiaeefolium* Miq.^(1,2,3) Tumbuhan ini termasuk dalam genus Ericaceae yang mempunyai nama daerah Manis Rejo (Jawa), Cantigi (Sunda) dan Delima Montak (Kalimantan Timur) dan masih kerabat dekat *bilberry*, *huckleberry*, *blueberry*, *cranberry* yang telah banyak diteliti dan dimanfaatkan. Secara empiris, daunnya telah digunakan untuk perawatan kecantikan dan kebugaran. Daun dan buahnya mengandung antosianin yang berfungsi sebagai antioksidan. Penelitian yang pernah dilakukan sebagai antifidan, mengandung aglikon antosianin sianidin dan peonidin, ditemukan 34 senyawa kimia yang mudah menguap (terpenoid (80%) dan metil benzoate (18%).^(4,5,6)

Kanker merupakan penyebab kematian ketiga di negara berkembang setelah kardiovaskular dan infeksi. Menurut WHO, jumlahnya akan menjadi 11,4 juta pada tahun 2030. Pencegahan kanker dapat dilakukan dengan mengurangi faktor risiko terjadinya kanker tersebut. Dalam perkembangan di bidang kesehatan telah ditemukan obat-obat antikanker dan kemoterapi, namun biayanya mahal. Hal ini mendorong masyarakat melakukan pengobatan menggunakan bahan alam.^(7,8) Melihat besarnya potensi tumbuhan ini sebagai tanaman obat, maka perlu dilakukan karakterisasi ekstrak Cantigi lebih lanjut.

BAHAN DAN METODE

BAHAN

Cantigi (*Vaccinium varingiaeefolium* Miq.) diperoleh dari kawasan sekitar kawah gunung Tangkuban Parahu, Bandung Utara,

dideterminasi di Herbarium Bogoriense, Bidang Botani, Pusat Penelitian Biologi, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia, Cibinong. Bagian dari tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun muda segar dari tumbuhan tersebut. Bahan kimia yang digunakan adalah n-heksan, etilasetat, metanol, etanol teknis yang telah didestilasi, metanol p.a., kloroform p.a., DMSO p.a., silika gel (mesh 70-230), *sephadex*, lempeng KLT, H₂SO₄ 10% (penampak noda KLT), *aquadest*, *aquabidest*, asam klorida p.a., asam borat, asam oksalat, asam asetat glasial p.a., asam sulfat p.a., benzen p.a., besi (III) klorida, aluminium klorida, etanol p.a., aseton p.a., asetat anhidrida p.a., natrium hidroksida, kalium dihidrogen fosfat, kalium ferisianida, asam trikloroasetat, dietil eter p.a., serbuk magnesium, serbuk seng, anisaldehid, gelatin, natrium klorida, natrium sulfat anhidrat, Mayer LP, Dragendorff LP, Bouchardat LP, Molisch LP, sel leukemia L1210 dalam medium RPMI-1640, agar-agar, tryphan blue, *celite* 545, dan lempeng silika GF245.

ALAT

Alat yang digunakan adalah blender, timbangan analitik, peralatan maserasi, penguap putar (*rotary evaporator*), peralatan kromatografi kolom, vial dan botol penampung berbagai ukuran, spektrofotometer UV-Vis, alat-alat gelas, pipet mikro, GC/MS, oven, inkubator dan lemari pendingin.

METODE

Pengumpulan dan Penyediaan Bahan Penelitian.

Tumbuhan diperoleh dari kawasan sekitar kawah gunung Tangkuban Parahu, Bandung Utara. Daun *Vaccinium varingiaeefolium* Miq yang digunakan adalah daun segar dari tumbuhan, diseleksi, dicuci, dikeringkan,

dihaluskan dengan blender, diayak hingga didapat serbuk simplisia, lalu disimpan dalam wadah bersih, kering dan terlindung dari cahaya.⁽⁹⁾

Pembuatan Ekstrak.

Sebanyak 500 g serbuk simplisia kering dimaserasi dengan 5 L pelarut *n*-heksan selama 24 jam. Maserasi dilakukan sebanyak 2 kali. Hasil maserasi disaring, filtrat dipekatkan dengan *rotary evaporator* pada suhu lebih kurang 45°C sampai diperoleh ekstrak kental *n*-heksan. Ampas *n*-heksan dimaserasi kembali berturut turut dengan pelarut etilasetat dan etanol 95%. Ekstrak dikeringkan hingga diperoleh ekstrak kering *n*-heksan, etil asetat, dan etanol; ditimbang dan dihitung rendemennya terhadap berat simplisia awal.⁽¹⁰⁾

Penapisan Fitokimia.

Pada simplisia dan ekstrak dilakukan pemeriksaan kandungan kimia menggunakan beberapa perekasi kimia antara lain preaksi untuk alkaloid, flavonoid, gula, triterpenoid atau steroid, antrakuinon, saponin dan tanin.^(11,12)

Uji Sitotoksik Ekstrak terhadap Sel Leukemia L1210.

Pengujian sitotoksik mengikuti metode MTT.⁽¹³⁾ Nilai IC₅₀ yaitu konsentrasi zat uji yang dapat menghambat perkembangbiakan sel (*in vitro*) sebanyak 50%, sedangkan LC₅₀ adalah konsentrasi zat yang membunuh 50% dari populasi larva yang diuji (*in vivo*). Menurut American National Cancer Institute, suatu ekstrak dikatakan memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel kanker apabila memiliki nilai IC₅₀ < 30 µg/ml.⁽¹⁴⁾

Fraksinasi Ekstrak Etilasetat (Teraktif) Menggunakan Kromatografi Kolom.

Ekstrak paling aktif difraksinasi dengan kromatografi kolom dengan adsorben silika gel 60 (70-230 mesh). Kolom dibersihkan, dipasang pada statif, dibilas menggunakan aseton, dan dikeringkan dari sisa aseton. Kolom diberi kapas, diisi adsorben silica gel 60 (70-230 mesh) sebanyak kurang lebih 30 kali bobot sampel yang disuspensikan homogen ke dalam eluen (*n*-heksan). Proses pemisahan setiap fraksi dilakukan dengan sistem pengelusi sistem landaian (gradien) dengan eluen *n*-heksan, *n*-heksan : etil asetat (80:1, 50:1, 30:1, 20:1, 10:1; 5:1, 3:1, 1:1), etil asetat, etil asetat : methanol (10:1; 5:1, 3:1, 1:1), dan metanol. Fraksi-fraksi diuji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel leukemia L1210. Metode merupakan modifikasi.^(13,15)

Uji Analisis Sitotoksik Fraksi Etilasetat terhadap Sel Leukemia L1210.

Pengujian aktivitas sitotoksik dilakukan pada fraksi-fraksi dari sampel kontrol yang dibuat dengan variasi konsentrasi yang lebih kecil yaitu 1, 2, 4, 8, dan 16 µg/ml karena senyawa terkandung setelah fraksinasi jenisnya lebih sedikit dan tidak saling menurunkan efektifitas dari fungsi senyawa tersebut sehingga daya sitotoksiknya lebih besar terhadap sel leukemia L1210 dibandingkan dengan ekstrak paling aktifnya. Media yang telah mengandung suspensi sel kanker dimasukkan ke dalam *multi well plate tissue's* sebanyak 1000 µL. Percobaan dilakukan seperti pada uji sitotoksik terhadap ekstrak.⁽¹³⁾

Analisis Fraksi-2 dengan GC/MS.

Interpretasi kandungan senyawa berdasarkan bank data pada GC/MS.⁽¹⁰⁾

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gambar 1 memperlihatkan morfologi tumbuhan Cantigi. Simplisia dibuat dari daun muda yang berwarna merah. Dari proses ekstraksi dengan masing-masing pelarut diperoleh rendemen dengan bobot 1,49% (ekstrak *n*-heksan), 2,51% (ekstrak etilasetat) dan

7,87% (ekstrak etanol) (Tabel 1). Hal ini menunjukkan bahwa mayoritas ekstrak bersifat polar disebabkan pelarut etanol bersifat polar. Namun demikian karena etanol bersifat sebagai pelarut universal maka dalam ekstrak etanol kemungkinan tidak hanya senyawa polar saja yang tertarik, tetapi juga senyawa semi polar.



Gambar 1. Morfologi daun Cantigi. Daun segar (kiri) dan daun kering (kanan)

Tabel 1. Hasil ekstraksi *n*-heksan, etilasetat dan etanol simplisia daun Cantigi

No.	Ekstrak	Warna	Bobot Ekstrak (gram)		Rata-rata	Rendemen (%)
			Simplo	Duplo		
1.	<i>n</i> -Heksan	Hijau tua	3,8521	3,5936	3,72	1,49
2.	Etil Asetat	Hijau	5,1486	7,4198	6,28	2,51
3.	Etanol 95%	Merah tua	18,8605	20,4877	19,67	7,87

Penapisan fitokimia dilakukan untuk mengetahui golongan senyawa (*class of compound*) yang terkandung didalam simplisia dan ekstrak etil asetat yang diperoleh dari daun Cantigi (*V. varingiaeefolium*(Bl.) Miq.). Hasil penapisan fitokimia pada ekstrak etilasetat menunjukkan adanya kelompok senyawa flavonoid, steroid, tanin dan triterpenoid, yang mana kandungan komponen senyawanya relatif sama dengan simplisianya, kecuali saponin. Hal tersebut mungkin saponin mengalami degradasi selama pengeringan (evaporasi). Banyaknya senyawa juga mungkin dikarenakan etilasetat merupakan pelarut semi polar sehingga jenis senyawa yang dapat terdistribusi

banyak. Hasil uji penapisan fitokimia ditampilkan pada Tabel 2. Hasil ini memiliki kemiripan dengan penelitian sebelumnya.⁽¹⁶⁾

Konfirmasi sifat sitotoksik dilakukan menggunakan sel leukemia L1210 terhadap ekstrak *n*-heksan, etilasetat dan etanol dari daun Cantigi. Uji ini bertujuan untuk mengetahui ekstrak mana yang memiliki potensi sebagai antikanker yang ditunjukan dengan nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$. Hasil uji sitotoksik ditunjukkan pada Tabel 3. Dari hasil uji aktivitas sitotoksik terhadap ketiga ekstrak daun Cantigi kontrol menunjukkan bahwa ekstrak-ekstrak tersebut memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel leukemia L1210, hal ini ditunjukan dari nilai $IC_{50} <$

30 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Ekstrak etilasetat merupakan ekstrak paling aktif dengan nilai IC_{50} terkecil yaitu 8,29 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Ekstrak etilasetat ditetapkan sebagai ekstrak teraktif yang selanjutnya difraksinasi dengan kromatografi kolom. Setelah fraksinasi, identifikasi dengan KLT, penggabungan dan pemekatan diperoleh 4 fraksi (Gambar 2).

Uji aktivitas sitotoksik untuk fraksi F1–4 bertujuan untuk mengetahui

fraksi mana yang paling aktif memiliki potensi sebagai antikanker sekaligus membandingkannya dengan ekstrak yang tidak difraksinasi. Hasil uji aktivitas sitotoksik fraksi F1-F4 tersebut (Tabel 4) menunjukkan aktivitas sitotoksiknya lebih baik dibandingkan ekstrak etilasetat yang tidak difraksinasi semua memiliki nilai $\text{IC}_{50} < 30 \mu\text{g}/\text{mL}$. Fraksi F2 merupakan fraksi paling aktif dengan nilai IC_{50} 1,68 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

Tabel 2. Hasil penapisan fitokimia simplisia dan ekstrak etilasetat.

No	Kandungan Senyawa	Simplisia	Ekstrak Etilasetat	Metode Analisis
1	Alkaloid	-	-	Visualisasi Warna
2	Flavonoid	+	+	
3	Quinon	-	-	
4	Saponin	+	-	
5	Steroid	+	+	
6.	Tanin	+	+	
7.	Triterpenoid	+	+	

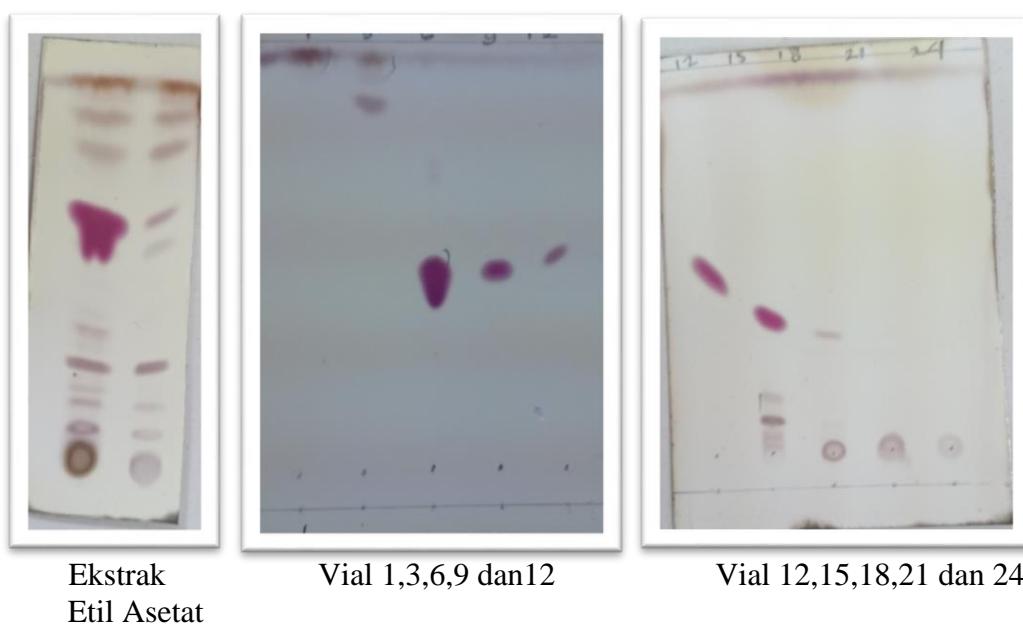
Keterangan: Flavonoid (+), terbentuk warna kuning jingga. Tanin (+), terbentuk warna kehitaman. Saponin (+), terbentuk buih stabil. Triterpenoid (+), terbentuk warna merah/ungu. Steroid (+), terbentuk warna hijau/biru.

Tabel 3. Hasil uji sitotoksik ekstrak *n*-heksan, etilasetat dan etanol daun Cantigi terhadap sel leukemia L1210

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Persamaan regresi	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Doxorubicin	K-; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,32	$y = 0,418x + 5,363$	0,14
Ekstrak <i>n</i> -Heksan	K-,5, 10, 20, 40, 80	$y = 1,069x + 3,820$	12,67
Ekstrak Etil asetat	K-,5, 10, 20, 40, 80	$y = 0,883x + 4,188$	8,29
Ekstrak Etanol	K-,5, 10, 20, 40, 80	$y = 0,840x + 4,144$	10,42

Tabel 4. Hasil uji sitotoksik fraksi ekstrak etilasetat daun Cantigi dan control terhadap sel leukemia L1210

Sampel	Konsentrasi ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	Persamaan regresi	Nilai IC_{50} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)
Doxorubicin	K-; 0,02; 0,04; 0,08; 0,16; 0,32	$y = 0,418x + 5,363$	0,14
Fraksi 1	K-,1, 2, 4, 8, 16	$y = 0,607x + 4,66$	3,62
Fraksi 2	K-,1, 2, 4, 8, 16	$y = 0,538x + 4,878$	1,69
Fraksi 3	K-,1, 2, 4, 8, 16	$y = 0,637x + 4,698$	2,98
Fraksi 4	K-,1, 2, 4, 8, 16	$y = 0,597x + 4,718$	2,96

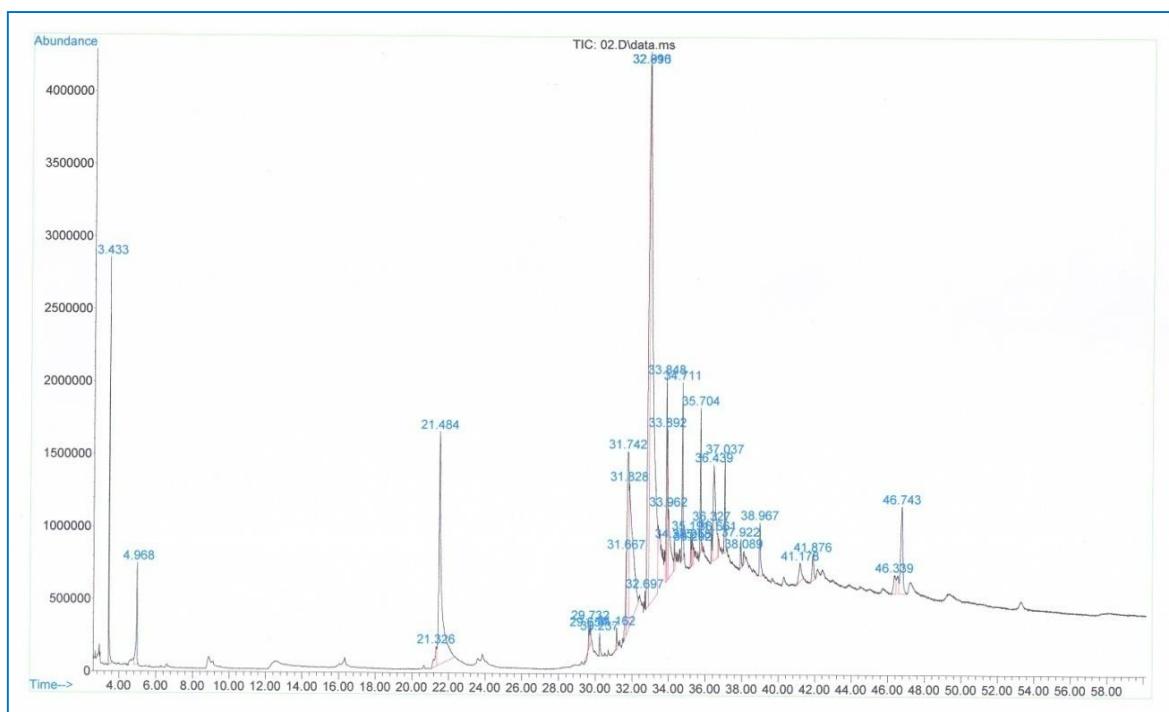


Gambar 2. Profil KLT fraksi ekstrak etilasetat.

Keterangan: Fase diam: silica gel GF 254. Fase gerak: Fraksi 1 (Vial 1-4) kloroform:metanol = 10:1. Fraksi 2 (Vial 5-13) kloroform:metanol = 10:1. Fraksi 3 (Vial 14-17) kloroform:metanol = 8:1. Fraksi 4 (Vial 18-24) kloroform:metanol = 4:1. Penampak bercak; serum sulfat 1 % dalam asam sulfat 10 %

Tabel 5. Hasil analisis komponen senyawa kimia fraksi F2 ekstrak etilasetat daun Cantigi dengan GC/MS

No.	Waktu Retensi (menit)	Quality (%)	Senyawa	Kandungan (%)
1.	3,45	91	<i>Ethanol, 2-Butoxy</i>	2,43
2.	4,97	99	<i>Cyclohexene, 1-Methyl-4-(1-Methylethenyl)</i>	1,39
3.	21,49	96	<i>Phenol, 2,4-bis(1,1-dimethylethyl)</i>	10,75
4.	31,74	96	<i>n-Hexadecanoic acid</i>	5,68
5.	31,83	98	<i>Hexadecanoic acid</i>	8,79
6.	32,89	98	<i>9,12-Octadecadienoic acid</i>	42,88
7.	33,850	94	<i>Nonadecyl pentafluoropropionate</i>	2,23
8.	33,89	99	<i>Hexadecanoic acid, bis(2-ethylhe) ester</i>	1,86
9.	33,96	95	<i>Cyclopentadecane</i>	2,62
10.	34,71	94	<i>Cyclopentae, (4-octyldodecyl)</i>	2,17
11.	35,70	96	<i>1-Docosene</i>	1,64
12.	36,44	93	<i>Behenic alcohol</i>	3,82
13.	37,04	94	<i>1-Tricosene</i>	1,43
14.	38,97	96	<i>1-Nonadecene</i>	1,17
15.	46,74	83	<i>6H, 16H, 31H-5,9:15, 19-Dimethano-10, 14-Methano-26, 30-Nitrilo-5H, 25H-Dibenzo [B,S] [1,21,4,8,14,18]dioxatetraazacyclooctacosine -34, 36-Dione 7,8,17,18-Tetrahydro-35-methoxy-1,3,21,23-tetramethyl</i>	3,25



Gambar 3. Profil kromatogram GC/MS fraksi F2 ekstrak etilasetat.

Untuk mengetahui komponen senyawa kimia apa saja yang terkandung dalam fraksi F2, maka selanjutnya dilakukan pengujian menggunakan GC/MS.^(12,22) Profil GC/MS pada Gambar 6. Dan Tabel 5. Dari bank data pada GC/MS didapatkan 15 senyawa (Tabel 5) dan kromatogramnya dapat dilihat pada Gambar 3. Informasi ini belum pernah dilaporkan sebelumnya.

SIMPULAN

Fraksi F2 menurut GC/MS mengandung 15 senyawa. Aktivitas sitotoksik ekstrak etilasetat daun Cantigi terhadap sel leukemia L1210 lebih kuat dibandingkan ekstrak etanol 95% dan ekstrak n-heksan, dan aktivitas sitotoksik fraksi ekstrak etilasetat (F2) lebih tinggi dibandingkan ekstrak etilasetat yang tidak difraksinasi. Informasi ini belum pernah dilaporkan sebelumnya.

DAFTAR PUSTAKA

1. Van Steenis CGGJ. 2010. Flora Pegunungan Jawa. Cibinong: Pusat penelitian Biologi, LIPI, Bogor, Indonesia; 2010: 71b:17-8.
2. Choesin, D.N., Sri Amnah, S., and Taufikurahman. 2001. Ecological aspects of *Vaccinium varingiaeefolium* growing in a stressed volcanic environment. Available from <http://2001.botanyconference.org/section3/abstracts/47.shtml> [accessed 6 January 2012].
3. Endah Sulistyawati. 2006. Revealing Biodiversity and its Threat in Mount Papandayan - West Java, Indonesia. Final Report. Rufford Small Grant. ITB.
4. Hermawan W. 2009. Aktivitas Antifidan Ekstrak Daun Cantigi. Jurnal Bionatura, Vol. 11, No. 2, 137-145.
5. Sadiyah ER, Kodir RA. 2012. Studi Awal Kandungan Antosianin pada Buah Cantigi Ungu yang Berpotensi

- sebagai Suplemen Antioksidan. Prosiding SnaPP. 2012.
6. Forney CF, Javorek SK, Jordan MA, and Van der Kloet SP. 2012. Floral volatile composition of four species of *Vaccinium*. *Botany* 90:5, 2012.
 7. Pariman. 2012. Guided Imagery (Sebuah Pendekatan Psikosintesis) untuk Penurunan Depresi pada Penderita Kanker, Fakultas Psikologi, Universitas Diponegoro, Semarang.
 8. Muaja AD, dkk. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT dan Analisis Kandungan Fitokimia Ekstrak Daun Soyogik (*Saurauia bracteosa* DC) dengan Metode Soxhletasi. *Jurnal MIPA Unsrat Online* (2) 115-118.
 9. Anonim. Keputusan Menteri Kesehatan Republik Indonesia Nomor: 261/Menkes/ SK/IV/2009 tentang Farmakope Herbal Indonesia. Jakarta:Depkes RI; 2009.
 10. Riris ID. Isolasi dan elusidasi struktur kimia senyawa flavonoid sebagai inhibitor enzim a-glukosidase dari ekstrak etanol kulit batang Raru (*Vatica pauciflora* Blume) [disertasi]. Medan: Jurusan Kimia Universitas Sumatra Utara; 2013.
 11. Harborne JB. Metode fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis tumbuhan. Cetakan kedua. Penerjemah: Padmawinata, K. dan I. Soediro. Bandung: Penerbit ITB Bandung; 1996.
 12. Tiwari P, et al. 2011. Phytochemical screening and Extraction: A Review. Internationale Pharmaceutica sciencia, Vol. 1(1), 2011, pp. 98-106.
 13. Katrin E, Winarno H. Aktivitas sitotoksik fraksi-fraksi ekstrak etil asetat kulit batang mahkota dewa [*Phaleria Macrocarpa* (Scheff.) Boerl] terhadap sel kanker manusia. http://mot.farmasi.ugm.ac.id/files/97Ermin%20Katrin_mahkota%20dewa%20fix.pdf
 14. Suda S, Masilamani S. Characterization of cytotoxic compound from marine sediment derived actinomycete *Streptomyces avidinii* strain SU4. *Asian Pac J Trop Biomed* 2012; 2(10): 770-773.
 15. Pasaribu SP, Erwin, Istianti P. Isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid dari daun tumbuhan kerehau (*Callicarpa longifolia* Lam.) *Jurnal Kimia Mulawarman Volume 11 Nomor 2;* 2014.
 16. Setiawati PW. Studi makroskopis, mikroskopis dan skrining fitokimia daun dan batang *Vaccinium varingiaeefolium* (Blume) Miq. [Skripsi]. Surabaya: Jurusan Kimia Universitas Airlangga; 2008.