

KOMPONEN KIMIA MINYAK ATSIRIDAUN TIGA JENIS PIPERACEAE

[Chemical Compounds of Essential Oil on Three Piperaceae Species]

Yuliasri Jamal

Bidang Botani-Puslit Biologi, LIPI

Jl. Ir.H. Juanda 18 Bogor.16122

E-mail: Phytoch@indo.net.id

ABSTRACT

Chemical analysis of leaves essential oil on three *Piper* species, *P. malamiri*, *P. baccatum* and *P. majusculum* was conducted using gas chromatography and mass spectrometry (GCMS) method. Chromatogram result showed 52, 56 and 47 peaks on leaves essential oil of *P. malamiri*, *P. baccatum* and *P. majusculum* respectively. Based on the peaks, it is known that isocaryofilene is the major, common and as the highest component found in the three essential oils, beside several other major components.

Kata kunci/ Key words: *Piper malamiri*, *Piper baccatum*, *Piper majusculum*, minyak atsiri/ essential oil, isocaryofilene.

PENDAHULUAN

Piperaceae merupakan salah satu famili tumbuhan penghasil minyak atsiri. Minyak atsiri daun sirih (*Piper betle*) dilaporkan mengandung substansi kimia berkhasiat sebagai antisепtik dan juga terbukti aktif menghambat pertumbuhan beberapa jenis bakteri patogen. *P. cubeba* yang mengandung kubebin dan asam kubebat bermanfaat sebagai karminatif. Jenis lain seperti *P. longum* biasa digunakan sebagai penghangat tubuh dan juga bersifat sebagai antihepatotoksik. Penelitian lain membuktikan bahwa *P. methysticum* yang dikenal dengan nama Wati atau Kava-kava memberikan efek narkotik dan bersifat sedatif (Agusta, 1998).

Nakatani et al. (1986) berhasil mengidentifikasi 5 senyawa fenol amida dari *P. nigrum*, 7 senyawa dari *P. retrofactum* dan 2 senyawa dari *P. baccatum*. Semua senyawa fenol amida terbukti mempunyai aktivitas yang signifikan sebagai antioksidan yang lebih efektif dibanding senyawa alpha-tocopherol. Salah satu senyawa amida yaitu feruperina memiliki aktivitas antioksidan yang setara dengan sintetik antioksidan butylated hydroxyanisole (BHA) dan butylated hydroxytoluene (BHT).

Buah *P. longum* digunakan secara tradisionil untuk mengobati kejang usus telah dilakukan terhadap *caecal amoebiasis* pada tikus percobaan. Ekstrak etanol dan fraksi n-butanol pada konsentrasi 1000 ppm secara *in vitro* memperlihatkan aktivitas sebagai

amoebisidal, sementara fraksi kloroform juga memperlihatkan aktivitas yang sama pada konsentrasi 500 ppm. Etanol ekstrak dan senyawa murni piperina dari *P. longum* mampu mengobati 90% dan 40% tikus yang terjangkit *caecal amoebiasis* (Ghoshal, 1996).

Pada percobaan ini dilakukan ekstraksi minyak atsiri daun tiga jenis *Piper* yaitu *P. malamiri*, *P. baccatum* dan *P. majusculum* untuk mengetahui komponen kimianya masing-masing.

BAHAN DAN CARA KERJA

Bahan

Bahan penelitian terdiri dari daun 3 jenis *Piper* yaitu *P. malamiri*, *P. baccatum* dan *P. majusculum* yang dikoleksi dari Kebun Raya Purwodadi, Malang, Jawa Timur pada bulan Juni 2000. Identifikasi sampel tumbuhan dilakukan di Herbarium Bogoriense- Pusat Penelitian Biologi-LIPI, Bogor.

Percobaan

Masing-masing daun dari 3 jenis *Piper* ini, dikeringkan di bawah sinar matahari kemudian digiling halus. Berturut-turut ditimbang serbuk daun dari *P. malamiri* sebanyak 150 g, *P. baccatum* sebanyak 230 g serta *P. majusculum* seberat 325 g. Ekstraksi minyak atsiri dilakukan secara distilasi air selama lebih kurang 4 jam. Minyak atsiri yang dihasilkan ditampung untuk kemudian dibebas-airkan dengan menambahkan natrium sulfat anhidrat. Minyak

atsiri bebas air kemudian ditimbang untuk mengetahui kadar masing-masing.

Analisis minyak atsiri dilakukan dengan menggunakan metoda kombinasi antara Gas Kromatografi dan Spektrometri Massa (GCMS) yang merupakan sistem *electron impact*, Shimadzu QP-5000, Japan dengan volume injeksi 0,1 ml. Analisis GCMS dilakukan dengan menggunakan kolom DB-10 (p+25 m, j = 0.25 mm, J&W Scientific, USA). Sebagai gas pembawa digunakan helium dengan kecepatan aliran 10 ml/menit, tekanan kolom sebesar 35 kPa. Suhu kolom diatur dari 50°C sampai 200°C dengan kenaikan suhu 3°C/menit. Suhu detektor (quadrupol) diprogram konstan pada 270°C dengan energi 1,25 kV. Kromatogram yang dihasilkan, diidentifikasi masing-masing puncaknya dengan memanfaatkan referensi spektrum massa autentik National Institute Standard of Technology (NIST).

HASIL

Minyak atsiri daun *Piper malamiri*

Prosentase minyak atsiri yang dihasilkan relatif kecil yaitu 0,011% yang memiliki bau spesifik serta berwarna kuning bening. Dari hasil analisis GCMS terdeteksi sejumlah 52 puncak (Tabel 1); sembilan puncak diantaranya tidak bisa diidentifikasi yaitu puncak-puncak 6, 29, 35, 36, 39, 48, 50,51 dan 52. Lima belas senyawa merupakan komponen utama (kadar > 1%) dari minyak atsiri daun *P. malamiri*, komponen-komponennya adalah a-Pinen, Kamfena, D-Limonena, Sabinena, puncak ke 6, b-Linalool, a-Kopaena, b-Elemen, Isokariofilena, a-Kariofilena, 4aR (1a,7a,8ab) dekahidro 4a-metil-1-metilen-7-(metiletenil) naftalena, 1S-(1a,7a,8ab) 1,2,3,5,6,7,8a oktahidro 1-4 dimetil-7-(1-metiletenil) azulena, (1S-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1-(1-metiletil) naftalena, Kariofilena oksida tipe **1&2**.

Minyak atsiri daun *Piper baccatum*

Sama hahiy dengan daun *P. malamiri*, hasil distilasi daun *P. baccatum* juga menghasilkan hanya 0,01% minyak atsiri yang berwarna kuning muda serta

berbau tajam. Kromatogram hasil analisis GCMS menunjukkan adanya 56 puncak (Tabel 1) yang mewakili 24 senyawa yang merupakan komponen utama (kadar > 1 %) serta 32 komponen minor lainnya. Sebelas diantara 56 komponen tidak teridentifikasi yang merupakan puncak-puncak 31,35,37,45,47,48,49, 52,53,54 dan 56. Dua-pulu empat komponen utama yang terkandung dalam minyak atsiri daun *P. baccatum* adalah kamfena, 1,2-dihidro-1,1,6-trimetil-naftalena, a-kopaena, Isokariofilena, a-kariofilena, kopaena tipe 1, (+)-aromadendrena, (1a,4aa,8aa) 1,2,4a,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1-(1-metiletil) naftalena, kopaena tipe 2, (-)-a-kopaena, b-bisabolena, 3,3,7,7-tetrametil-5-(2-metil-1-propenil)-trisiklo 4.1.0.02.4 heptana, (1S-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1-(1-metiletil) naftalena, kalamena, kariofilen oksida, d-kadinol, ent. spatulenol, ledol, sedreanol, 2-oktasiklopropena-1-heptanol dan 4 komponen yang tidak teridentifikasi yaitu puncak 37, 45, 48 dan 54.

Minyak atsiri daun *Piper majusculum*

Agak berbeda dengan kedua minyak atsiri yang telah disebutkan di atas, kadar minyak atsiri daun *P. majusculum* sedikit lebih tinggi (0,043%). Minyak atsiri ini memiliki bau spesifik serta berwarna kuning terang. Diperoleh 47 senyawa kimia (Tabel 1) hasil dari analisis GCMS minyak atsiri daun *P. majusculum*. Delapan belas senyawa yang merupakan komponen utama adalah 1,2-dihidro-1,1,6-trimetil-naftalena, a-kubebena, b-elemen, isokariofilena, kariofilena, a-amorfena, 4aR-(4aa,7a,8ab)-dekahidro-4a-metil-1-metilen-7-(1-metiletenil)-naftalena, kopaena tipe 1, (+)-aromadendrena, (1S-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1-(1-metiletil) naftalena, kopaena tipe 2, 1aR(1aa,4ab,7a,7ab,7ba) dekahidro 1,1,7,trimetil-4-metilen 1-H-sikloprope azulena, kalamena, (-)-spatulenol, kariofilen oksida, d-kadinol, nerolidol,cis-(+) dan asam heksadekanoat. Tidak semua puncak kromatogram yang diperoleh minyak atsiri daun *P. majusculum* dapat diidentifikasi, antara lain adalah puncak-puncak 34, 35, 37, 41 dan 42

Tabel 1. Komponen kimia m. atsiri daun 3 jenis Piperaceae

Nama komponen (1)	Formula (2)	B.Molekul (3)	<i>P. malamiri</i> % (4)	<i>P. baccatum</i> % (5)	<i>P. majusculum</i> % (6)
ct-i'inena	c ₁₀ H ₁₆	136	15.48	0.52	-
Kamfena	C ₁₁ H ₁₈	136	2.2	1.22	-
3-Karena	C _m H _{iii}	136	-	-	0.41
p-Pinena	C _m H _{iii}	136	0.89	-	-
D-Limonena	C ₁₀ H ₁₆	136	4.11	-	-
Sabinena	c _{in} H _{i6}	136	3.21	-	-
Osimena tipe 1	C _M H _{if}	136	-	0.09	0.14
y-Terpinena	C ₁₀ H ₁₆	136	0.27	-	-
Osimena tipe 2	C _{i1} H _{if}	136	-	-	0.26
Eukaliptol	c ₁₀ H ₁₀ b	154	-	-	0.13
Linalool	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.1	0.84
p-Linalool	C(H) ₁₀ O	154	1.5	-	-
1-2-Kamfanol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	-	0.08	-
a-Terpineol	c _{in} H _{i6} o	154	-	-	0.2
4-Metil-1-(1-metiletil)3-sikloheksen-1-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	154	0.13	-	-
n-Dekanol	C ₁₁ H ₂₂ O	158	0.09	-	-
1,2-dihidro-1,1,6-trimetilnaftalena	C ₁₃ H ₂₆	172	-	1.07	1.34
(E)-3-Tridesen-1-ina	c ₁₃ H ₂₂	178	-	-	0.09
Dodekanal	C ₁₂ H ₂₄ O	184	-	-	0.05
Elemisina	C _M H ₂₂	190	0.28	-	-
(E,E)-12-metil-1,5,9,11-tridekatetraena	c ₁₄ H ₂₂	190	-	0.64	-
2-Undekanon	C _n H ₂₆ O	198	0.09	-	-
6,10-dimetil-2-undekanon	C ₁₁ H ₂₆)	198	-	0.42	0.55
o-Kubebena tipe 1	C _p H _{,4}	204	0.82	0.83	1.66
p-Kubebena	C _{,H} , ₄	204	-	0.35	-
Longisiklena			0.6	-	-
a-Kopaena	C _{,H} 24	204	7.69	2.19	-
p-Bourbonena	C _{,H} , ₄	204	0.09	0.19	0.52
p-Elemenina tipe 1	C _{,H} , ₄	204	1.18	0.84	,, 1.95
Isokariofilena	C ₁₅ H ₂₄	204	17.7	17.69	19.95
Kariofilena	C ₂₂ H ₂₄	204	0.2	-	9.04
a-Kariofilena	C _{,H} , ₄	204	17.53	2.47	-
a-Amorfena	C _{,H} , ₄	204	0.04	-	3.02
IaR(laa,4a,4ap,7ba)	c ₁₅ H ₂₄	204	0.26	0.16	0.41
Ia _{2,3,4,4a,5,6,7b} oktahidro-1,1,4,7-tetrametil-IH-sikloprop e azulena					
4aR-(4aa7o.8ap)-dekahidro-4a-metil-1 -metilen-7-(1 -metiletilenil)-naftalena	c ₁₅ H ₂₄	204	-	-	7.53
Kopaena tipe 1	C _n H _{,4}	204	0.67	1.76	7.61
(+)-Aromadendrena	C _{,H} , ₄	204	-	1.01	1.72
(IS-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1- (1-metiletil) naftalena tipe 2	c ₁₅ H ₂₄	204	3.37	0.18	-
a-Kubebena tipe 2	c ₁₅ H ₂₄	204	0.3	0.1	-

Lanjutan Tabel 1....

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
(10,430,830) 1,2,43,5,6,88 heksahidro 4,7 dimetil 1(1-metiletil) naftalena	C ₁₅ H ₂₄	204	0.96	2.24	-
(IS-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1-(1-metiletil) naftalena tipe 1	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.49	10.87
Kopaenatipe2 (-)-o-Kopaena	C ₁₅ H ₂₄	204	0.11	2.04	1.25
B-Bisabolena	C ₁₅ H ₂₄	204	-	3.26	-
Germakrena B tipe 1	C ₁₅ H ₂₄	204	0.11	3.67	-
laR(laa,7a,7aa,7ba) la,2,3,5,6,7,7a,7b oktahidro 1,1,7,7a tetrametil- 1H siklopropa a naftalena	C ₁₅ H ₂₄	204	0.23	-	0.48
Germakrena B tipe 2 3,3,7,7-tetrametil-5-(2-metil-1-propenil)-trisiklo 4.1.0.02.4 heptana	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.47	-
(IS-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1-(1-metiletil) naftalena tipe 3	C ₁₅ H ₂₄	204	-	5.21	-
Aglaiena B-Elemenina tipe 2	C ₁₅ H ₂₄	204	-	4.5	-
P-Elemenina, (-)-	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.64
Levo-p-Elemenina	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.7
laR(laa,4ap,7a,7ap,7ba) dekahidro 1,1,7 trimetil-4-metilen 1-H sikloprope azulena tipe 1	C ₁₅ H ₂₄	204	0.86	0.14	1.23
Eremofilena o-Farnesena tipe 1	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.99	-
o-Farnesena tipe 1 laR(laa,4ap,7a,7ap,7ba)	C ₁₅ H ₂₄	204	-	-	0.88
dekahidro 1,1,7 trimetil-4-metilen 1-H sikloprope azulena tipe 2	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.25	-
(IS-cis)-1,2,3,5,6,8a-heksahidro-4,7-dimetil-1-(1-metiletil)-naftalena tipe 1	C ₁₅ H ₂₄	204	-	0.19	-
Kopaena type 3 p-Sedrena	C ₁₅ H ₂₄	204	0.32	-	-
lar (laa,4p,4ap,7a,7ap,7ba) dekahidro 1,1,4,7-tetrametil 1-H sikloprope azulen-4-ol	C ₁₅ H ₂₄	204	0.47	-	-
Patculana Kalamenena	C ₁₅ H ₂₄	206	-	0.42	1.03
4aR (1 a,7 _a 8ap) dekahidro 4a-raetil-1 -metilen-7-(metiletenil) naftalena	C ₁₅ H ₂₄ O	220	5.69	-	0.4
1S-(1 _a 7 _a 8ap) 1,2,3,5,6,7,8a oktahidro 1-4 dimetil-7-(1-metiletenil)	C ₁₅ H ₂₄ O	220	4.49	-	1.84
(-)Spatulolenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	-	0.42	1-77

Lanjutan Tabel 1. ...

(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)
Kariofilen oksida tipe 1	C ₁₈ H ₂₄ O	220	1.82	10.28	2.62
p-Kariofilena	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.16	-	-
Kariofilen oksida tipe 2	C ₁₅ H ₂₄ O	220	1.47	-	-
3,3,7,7 Tetrametil-5-(2-metil-1-propenil) trisiklo 4.1.0.02.4 heptana	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.06	-	-
S-Kadinol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	0.67	3.09	2.19
Ent. Spatulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	220	-	6.99	-
Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.08	-	0.26
D-Nerolidol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	0.84	0.21
Nerolidol,cis-(+)	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.08	-	12.1
3,7,11-trimetil-, S-(Z)-1,6,10-dodekatrien-3-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	-	0.88
Eleraol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	0.45	-	-
Ledol	C ₁₈ H ₂₆ O	222	-	2.34	-
Sedreanol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	2.03	-
(Z)-(S)-(+)-3,7,11-trimetil-1,6,10-dodekatrien-3-ol	C ₁₅ H ₂₆ O	222	-	-	0.15
Asam tridekanoat metil ester	C ₁₄ H ₂₈ O ₂	228	-	0.37	-
T etradesil-oksirana	C ₁₆ H ₃₂ O	240	-	-	0.83
Asam heksadekanoat	C ₁₆ H ₃₂ O ₂	256	-	-	1.26
2-Oktasiklopropena-1-heptanol	C ₁₈ H ₁₄ O	266	-	3.53	0.66
Asam heksadekanoat metil ester	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	270	-	-	0.13
Tidak teridentifikasi	-	-	1.7	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.07	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.1	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.07	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.23	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.05	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.07	, -	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.09	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	0.26	-	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.94	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.19	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	1.08	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.64	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.24	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	2.08	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.6	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	1.3	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.65	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	3.36	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	0.81	-
Tidak teridentifikasi	-	-	-	-	0.12
Tidak teridentifikasi	-	-	-	-	0.1
Tidak teridentifikasi	-	-	-	-	0.27
Tidak teridentifikasi	-	-	-	-	0.37
Tidak teridentifikasi	-	-	-	-	0.12

Tabel 2. Prosentase masing-masing golongan senyawa minyak atsiri tiga jenis *Piper*

Golongan senyawa	<i>P. malamiri</i>	<i>P. baccatum</i>	<i>P. majusculum</i>
Monoterpena	26,17	1,83	0,81
Monoterpena alkohol	1,72	0,18	1,17
Seskiterpena	53,79	53,34	69,71
Seskiterpena alkohol	14,97	26,24	20,18
Lain-lain (termasuk yang tidak teridentifikasi)	3,35	18,41	8,13

PEMBAHASAN

Bila ditinjau dari golongan senyawa yang terkandung dalam minyak atsiri daun *P. malamiri* (Tabel 2), dapat dibagi atas monoterpena (26,17%), monoterpena alkohol (1,72%), seskiterpena (53,79%), seskiterpena alkohol (14,97%) serta lain-lain senyawa termasuk yang tidak teridentifikasi sebesar 3,35%. Senyawa isokariofilena dan a-kariofilena merupakan dua komponen tertinggi yang termasuk senyawa golongan seskiterpena masing-masing 17,70% dan 17,53%, di samping senyawa a-pinena dari golongan monoterpena yang juga cukup tinggi prosentasenya (15,49%).

Senyawa-senyawa kimia yang terkandung dalam minyak atsiri daun *P. baccatum* secara garis besar dapat diklasifikasikan dalam beberapa golongan antara lain monoterpena (1.83%), monoterpena alkohol (0.18%), seskiterpena (53.34%), seskiterpena alkohol (26,26%) serta lain-lain senyawa termasuk senyawa-senyawa yang tidak teridentifikasi (18.41%). Sama halnya dengan minyak atsiri daun *P. malamiri*, komponen kimia pada daun *P. baccatum* juga didominasi oleh senyawa dari golongan seskiterpena.

Senyawa dari golongan seskiterpena mendominasi komponen kimia yang terkandung dalam minyak atsiri daun *P. majusculum* yaitu sebesar 69.71 % diikuti berturut-turut senyawa dari golongan seskiterpen alkohol (20.18%), lain-lain senyawa termasuk yang tidak teridentifikasi (8.13%), serta golongan monoterpena dan monoterpen alkohol (1.98%).

Apabila dilihat dari segi senyawa-senyawa yang merupakan komponen utama, minyak atsiri dari tiga jenis Piperaceae ini mempunyai beberapa kesamaan, yaitu mengandung senyawa isokariofilena dengan prosentase yang tidak jauh berbeda di samping merupakan komponen utama dengan kadar paling tinggi.

Senyawa isokariofilena mempunyai begitu banyak aktivitas biologis yang sangat bermanfaat seperti, anti-bakterial, anti-inflamasi, anti-asthma, anti-tumor, pestisida, anti-jerawat dan lain-lain. Di samping isokariofilena, senyawa-senyawa kariofilena beserta turunannya seperti a-kariofilena dan kariofilen oksida memang terlihat cukup dominan dalam minyak atsiri ke tiga jenis *Piper* yang dianalisis.

Komponen utama lainnya dari ke tiga jenis minyak atsiri di atas antara lain senyawa kopaena yang dilaporkan memiliki sifat sebagai karminatif. Begitu juga dengan senyawa nerolidol yang terbukti mempunyai daya hambat terhadap enzim aldose reduktase juga bersifat anti-bakterial, anti-fidan dan anti-alergi.

KESIMPULAN

Ke tiga jenis minyak atsiri dari famili Piperaceae, *P. malamiri*, *P. baccatum* dan *P. majusculum*, masing-masing mengandung senyawa isokariofilena, yang merupakan komponen utama dengan prosentase yang paling tinggi bila dibandingkan dengan komponen-komponen utama lainnya. Komponen utama lainnya yang juga terdapat dalam ke tiga minyak atsiri adalah kariofilen oksida dengan kadar tertinggi pada minyak atsiri *P. baccatum*. Di samping itu, *P. malamiri* juga mengandung komponen utama lainnya dengan kadar yang cukup tinggi seperti a-kariofilena, a-pinena dan a-kopaena. Dapat dilihat bahwa minyak atsiri *P. majusculum* juga mengandung senyawa nerolidol, cis-(+), (ls-cis) 1,2,3,5,6,8a heksahidro 4,7 dimetil-1- (1-metiletil) naftalena dan kariofilena dengan prosentase yang cukup tinggi. Beberapa komponen-komponen utama yang telah disebutkan di atas pada umumnya mempunyai fungsi yang bermanfaat baik untuk kesehatan maupun kebutuhan lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Agusta A, Jamal Y and Chairul.** 1998. Analisis Komponen Kimia Daun Wati (*Piper methysticum* Forst.). *Berita Biologi*, 4(2,3),53-59.
- Ghoshal S, Prasad BN, and Lakshmi.** 1996. Antiamoebic Activity of *Piper longum* Fruits Against Entamoeba histolytica in vitro and in vivo. *J. Ethnopharmacol* 50(3),167-70.
- Nakatani, N, Inatani R, Ohta H and Nishioka A.** 1986. Chemical constituents of peppers (*Piper spp.*) and application to food preservation: Naturally occurring antioxidative compounds. *Environ Health Perspect* 67,135-42.
- Windholz M, Budavari S, Strumsos YL and Fertig MN.** 1996. *The Merck Index and Encyclopedia of Chemicals and drugs*, 12 TH, Merck & Co. Rahway, New York, USA.