Identification and Characterization of Compound of Mulberry (Morus alba L.) Leaf Extract

Subehan Lallo¹, Hamdayani L A², Besse Hardianti², Rizki Asmawati Bahar²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Hasanuddin, Kampus UNHAS Tamalanrea ²Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar, Perintis Kemerdekaan Street Km 13,7 Daya Makassar-Indonesia

Artikel info

Diterima: 12 Nov 2017 Direvisi: 23 Des 2017 Disetujui: 24 Des 201

Keyword Identification Marker compound *Morus alba* L.

ABSTRACT

Mulberry (*Morus alba* L.) is commonly use in the cultivation of silkworms and medicinal plants in Indonesia. Traditionally, the leave are used to decrease arterial blood pressure. This study has been carried out the identification and characterization of compounds that isolated from the *M. alba* leaves collected from South Sulawesi. Extraction was done by maceration of their leaves using ethanol 0%, separation and purification using chromatography method. The results of the stationary phase column chromatography with silica gel with the mobile phase n-hexane:ethyl acetate in a gradient system obtained fractions with the fraction showed clear spot at TLC was continued for isolation. The isolated compound was analyzed with IR and UV-VIS spectrophotometry. Analysis of IR spectrum indicated the presence of an O-H (2285 to 2385 cm⁻¹), C-H (2854 to 2954 cm⁻¹) and the C=C (1521 to 1577 cm⁻¹), these isolates indicate the presence of flavanoid compounds and their functional group at wavenumber 1336; 3421; and 968-1273 cm⁻¹ indicated the presence of C-N; N-H; and C-O functional groups, respectively. These data also indicated the possibility of alkaloids. In addition characterization with UV sprectrum showed absorption at a wavelength of 239 and 413 nm, they indicated the presence of flavonoid group.

Identifikasi dan Karakterisasi Senyawa Aktif Ekstrak Daun Murbei (Morus alba L.)

ABSTRAK

Kata kunci Identifikasi Senyawa penanda *Morus alba* L. Murbei (*Morus alba* L.) di Indonesia dikenal sebagai tanaman yang digunakan sebagai makanan ulat sutra dan juga dimanfaatkan sebagai bahan obat tradisional. Secara tradisional, daunnya digunakan untuk menurunkan tekanan darah arteri. Pada penelitian ini telah dilakukan identifikasi dan karakterisasi isolat dari ekstrak daun *M. alba* dari Sulawesi Selatan. Daun *M. alba* diekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut etanol. Pemisahan dan pemurnian dilaksanakan dengan menggunakan metode kromatografi. Hasil kromatografi kolom dengan fase diam silika gel dan fase gerak n-heksan : etil asetat dengan berbagai perbandingan diperoleh sebagai fraksi dan fraksi dengan tampilan noda pada KLT terbaik selanjutnya di KLTP untuk mendapatkan isolat yang kemudian dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer IR dan UV-Vis. Hasil analisis IR menunjukkan adanya gugus O-H (2285-2385 cm⁻¹), C-H (2854-2954 cm⁻¹) dan C=C (1521-1577 cm⁻¹) yang merupakan suatu ciri dari senyawa flavonoid dan adanya gugus C-N (1336 cm⁻¹), N-H (3421 cm⁻¹), C-O (968-1273 cm⁻¹) yang merupakan suatu ciri dari senyawa alkaloid. Selain itu, serapan UV pada panjang gelombang 239 nm dan 413 nm menunjukkan ciri serapan khas untuk golongan senyawa flavonoid.

PENDAHULUAN

Penggunaan obat-obatan dari bahan alam merupakan salah satu cara bagi masyarakat Indonesia untuk mempertahankan kesehatannya yang dilakukan sejak jaman dahulu. Upaya pemanfaatan bahanbahan terutama yang berasal dari tumbuhan yang ada disekitarnya untuk dijadikan sebagai obat menjadi sangat penting untuk pertahanan dan kelangsungan hidupnya. Sebagian digunakan untuk menjaga kesehatan untuk tetap normal dan lainnya digunakan untuk menanggulangi penyakit yang mereka hadapi (Agoes, 2010).

Salah satu tumbuhan berkhasiat obat dan sering digunakan oleh masyarakat Indonesia yaitu tanaman murbei (Morus alba L.). Daun dari tanaman ini juga digunakan sebagai makanan untuk ulat sutra di Kab. Soppeng, Provinsi Sulawesi Selatan. Selain itu M. alba juga banyak digunakan sebagai tanaman obat antara lain yaitu karminatif, diaforetik, diuretik, antipiretik, palpitasi, hipotensif, diabetes melitus, laksatif, vertigo, kolesterol tinggi, dermatitis, elephantiasis, hepatitis, antitusif, febris, dan plasmodium malariae. Sari buah M. alba mengandung senyawa antioksidan, sehingga bermanfaat untuk kesehatan. Selain tumbuh liar di hutan, juga banyak terdapat di halaman dan dikebun sebagai tanaman buah-buahan serta banyak digunakan untuk pengembangbiakan ulat sutera. Secara tradisional daunnya digunakan untuk menurunkan tekanan darah arteri (Mohammadi dan Naik, 2008; Wang et al., 2013).

Daun M. alba telah pernah dipalorkan oleh peneliti sebelumnya mengandung ekdisteron, inokosteron, beta-sitosterol, morasetin, iso-quersetin, skopoletin, skopolin, α,β-hexenal, cis-lamda-heksenol, benzaildehid, eugenol, linalool, benzil alkohol, trigonelin, kolin, adenin, asam amino, tembaga, zink, vitamin (A, B1, C dan karoten), asam klorogenik, asam fumarat, asam folat, dan asam formiltetrahidrofolik. Bagian ranting mengandung tanin dan vitamin A. Buahnya mengandung isoquersetin, sakarida, asam linoleat, asam stearat, asam oleat, dan vitamin (karoten, B1, B2 dan C). Kulit akar telah dilaporkan mengandung senyawa aktif derivat flavon mulberin, mulberokromen, sikomulberin, siklomulberokromen, morusin dan mulberrofuran A, juga beberapa penelitian melaporkan adanya kandungan asam betulinik, skopoletin, α-amirin,



Gambar 1 Tanaman M. alba

β-amirin, *undecaprenyl* dan *dodocaprenyl*. Sedangkan biji mengandung urease (Agoes, 2010; Ferlinahayati, 2012).

Penentuan senyawa yang terkandung dalam suatu tumbuhan obat dapat dilakukan dengan berbagai cara seperti metode kimiawi ataupun dengan teknik spektroskopi. Sebelum dilakukan penentuan tentunya dilakukan isolasi terhadap senyawa yang terkandung dan dilanjutkan dengan mengkarakterisasi sifat fisika dan kimiawi senyawa tersebut dengan berbagai metode. Isolasi senyawa kimia dari tumbuhan obat adalah proses pemisahan senyawa yang bercampur sehingga menghasilkan senyawa tunggal yang murni. Sedangkan karakterisasi yaitu metode yang digunakan untuk menentukan karakterisasi senyawa hasil isolasi (Hunawa, 2014).

Berdasarkan hal tersebut maka telah dilakukan penelitian untuk mengidentifikasi, mengisolasi dan mengkarakterisasi kandungan senyawa dari ekstrak daun *M. alba*. Diharapkan senyawa kimia yang terkandung dalam daun tanaman ini dapat memberikan kontribusi langsung terhadap perkembangan dan penemuan obat baru di Indonesia yang juga dapat digunakan sebagai senyawa identitas marker tanaman tersebut sehingga pemalsuan produk dapat diantisipasi dengan memberikan perlindungan bagi pengguna (masyarakat). Kebenaran ilmiah khasiat produk dapat dilakukan dengan penetapan senyawa penanda dari hasil identifikasi senyawa aktif tanaman tersebut.

METODE PENELITIAN

Bahan yang digunakan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu aquadest, etanol 70%, eter, etil asetat, $FeCl_3$, HCl, H_2SO_4 , lempeng KLT 60 F254 ukuran 20x20 cm No Seri 1.055554.0001 (KgaA, 64271 Darmstadt, Germany), kertas saring, lempeng KLTP 60 F254 ukuran 20x20 cm No Seri 1.057115.0001 (KgaA, 64271 Darmstadt, Jerman).

Pengambilan dan penyiapan sampel

Sampel daun *M. alba* diperoleh dari desa Ta'juncu, Kecamatan Donri-Donri, Kabupaten Soppeng, Provinsi Sulawesi Selatan. Sampel yang telah dikumpulkan, dibersihkan, dicuci dengan air mengalir hingga bersih dan ditimbang. Kemudian sampel dirajang dan dikeringkan dalam ruangan yang terlindung dari sinar matahari langsung, setelah kering sampel dipotongpotong kecil lalu ditimbang dan selanjutnya dilakukan proses ekstraksi.

Pembuatan ekstrak

Simplisia kering sebanyak 2 kg dimaserasi dengan menggunakan etanol sebanyak 15 L. Simplisia dimasukkan kedalam wadah maserasi kemudian ditambahkan pelarut secukupnya untuk proses pembasahan lalu didiamkan ± 15-30 menit. Sisa pelarut ditambahkan hingga simplisia terendam sempurna kemudian didiamkan ditempat yang terlindung dari cahaya matahari selama 3 hari dan diaduk setiap 12 jam sekali lalu disaring. Residu dimaserasi kembali (remaserasi) dengan perlakuan yang sama seperti sebelumnya sebanyak satu kali. Filtrat dikumpulkan kemudian dipekatkan dengan evaporator (Buchi) hingga diperoleh ekstrak kental.

Analisis fitokimia

Uji saponin

Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol 70% kemudian ditambahkan 10 mL air hangat lalu dikocok selama 30 menit. Dilihat busa dan diukur berapa cm busa yang terbentuk. Dibiarkan selama 10 menit dan jika busanya tidak hilang ditambahkan HCl pekat. Apabila masih terdapat busa yang konstan maka menunjukkan hasil yang positif (Sudjadi, 1986).

Uji flavonoid

Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol 70% kemudian ditambahkan serbuk Mg sebanyak 0,5 mg lalu ditambahkan HCl pekat 3 tetes. Endapan merah menunjukkan senyawa flavon, endapan merah tua menunjukkan senyawa flavonol/flavonon, dan endapan hijau menunjukkan senyawa glikosida/aglikon (Sudjadi, 1986).

Uji alkaloid

Sebanyak 2 g ekstrak daun *M. alba* dimasukkan kedalam tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol 70%, kemudian ditambahkan 5 tetes HCl 2 N dan dipanaskan. Setelah itu ditambahkan NaCl dan disaring lalu ditambahkan 5 tetes HCl 2 N. Dipipet 2 mL dan dimasukkan kedalam tabung 3 reaksi, masing-masing tabung reaksi ditambahkan pereaksi Dragendorf, pereaksi Mayer, dan pereaksi Wagner. Untuk pereaksi Dragendorf endapan merah/jingga menunjukkan positif senyawa alkaloid. Pada pereaksi Mayer endapan putih menunjukkan positif senyawa alkaloid dan pada pereaksi Wagner endapan coklat menunjukkan hasil yang positif (Sudjadi, 1986).

Uji terpenoid/steroid

Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol 70%, kemudian ditambahkan eter sebanyak 5 tetes hingga terbentuk 2 lapisan larutan air dan etanol. Lapisan bagian atas (larut etanol) dipisahkan dan diuapkan dalam plat tetes lalu ditambahkan H₂SO₄. Endapan warna hijau kehitaman menunjukkan hasil yang positif (Sudjadi, 1986).

Uji tanin

Sebanyak 2 g ekstrak dimasukkan dalam tabung reaksi dan diencerkan dengan etanol 70% kemudian ditambahkan 2 mL air. Setelah itu ditambahkan 3 tetes FeCl₃ Endapan warna hijau kehitaman menunjukkan hasil yang positif (Sudjadi, 1986).

Proses pemisahan

Kromatografi lapis tipis (KLT) (Sastrohamidjoja, 2007)

Pengaktifan lempeng dilakukan pada suhu 115°C selama 15 menit. Selanjutnya dilakukan orientasi eluen menggunakan eluen n-heksan : etil asetat dengan perbandingan (9 : 1), (8 : 2), (7 : 3), dan (5 : 5) lalu dimasukkan ke dalam chamber dan dielusi. Dilakukan pengamatan pada penampakan noda dengan menggunakan UV 254 dan 366 nm.

Kromatografi kolom

Seperangkat alat kromatografi kolom disiapkan. Dalam tabung kolom dimasukkan silika gel sebanyak 450 g dengan pelarut n-heksan sedikit demi sedikit dengan menggunakan metode basah (bubur silika gel) dan dialiri dengan n-heksan hingga mampat.

Ekstrak sebanyak 10 g dimasukkan ke dalam tabung kolom dan dimasukkan sedikit silika gel kering di atasnya. Dielusi dengan menggunakan eluen etil asetat : n-heksan dengan menggunakan variasi gradient yaitu mulai dari 1:9, 2:8, 3:7, 4:6, 5:5, 6:4, 7:3, 8:2, 9:1, dan 10:0 dengan tiap variasi sebanyak 600 mL. Hasil yang diperoleh ditampung dalam wadah kemudian masingmasing fraksi dilanjutkan pada KLT dan dielusi dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (7:3), fraksi dikelompokkan berdasarkan nilai Rf-nya.

Isolasi dan pemurnian

Fraksi yang telah terpilih kemudian dilanjutkan dengan proses KLT preparatif (KLTP) dengan menggunakan fase diam silika dan fase gerak n-heksan : etil asetat (8 : 2). Selanjutnya isolat yang diperoleh dilakukan pengujian untuk memastikan kemurnian senyawa tersebut.

Karakterisasi isolat

Karakterisasi isolat yang dilakukan dengan menggunakan alat spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

ANALISIS DATA

Hasil spektrofotometri FT-IR dan UV-Vis dianalisis dibandingkan dengan pustaka acuan dan dinyatakan dalam bentuk dekskriptif.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tahapan penelitian ini meliputi preparasi sampel, ekstraksi komponen zat aktif, pemisahan senyawa aktif menggunakan kromatografi kolom yang dilanjutkan dengan kromatografi lapis tipis preparatif dan karakterisasi senyawa menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan FT-IR.

Simplisia daun M. alba (2 kg) yang diekstraksi dengan metode maserasi diperoleh ekstrak kental sebanyak 64,09 g (rendamen= 3,20%). Adapun tujuan dilakukan remaserasi yaitu untuk melarutkan zat aktif yang belum terekstraksi pada maserasi pertama sehingga didapatkan zat aktif yang lebih banyak. Ekstraksi merupakan proses penarikan senyawa dari simplisia. Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini adalah metode maserasi. Metode maserasi dipilih karena dianggap aman, karena resiko kehilangan ataupun kerusakan zat aktif selama proses ekstraksi karena pengaruh panas dapat diminimalisir pada metode ini. Selain itu metode maserasi juga merupakan metode yang paling sederhana dan paling mudah dilakukan jika dibandingkan dengan metode ekstraksi lainnya. Namun kelemahan dari metode ini adalah lamanya kontak antara pelarut dengan simplisia memungkinkan terjadinya reaksi antar senyawa yg ada dalam simplisia membentuk senyawa artifak yang diproduksi tidak melalui proses metabolisme (Saifuddin et al., 2011)

Ekstrak kental yang diperoleh dilakukan uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan kimianya. Pengujian ini dilakukan dengan meliputi uji alkaloid, flavonoid, terpenoid dan steroid, saponin dan tanin yang merupakan golongan senyawa yang umum terdapat dalam tanaman yang merupakan metabolik sekunder yang paling banyak dilaporkan memiliki

Tabel 1 Hasil pengujian identifikasi golongan senyawa yang terkandung dalam ekstrak etanol M. alba

Senyawa	Pereaksi	Menurut Literatur	Hasil
Alkaloid	Ekstrak + HCl 2 N + Dragendorf	Endapan merah/jingga	+
	Ekstrak + HCl 2 N + Mayer	Endapan putih	-
	Ekstrak + HCl 2 N + Wagner	Endapan coklat	+
Flavonoid	Ekstrak + serbuk Mg + HCl p	Endapan merah tua	+
Saponin	Ekstrak + air hangat + HCl p	Berbusa	-
Terpenoid	Liebermann Buchard	Endapan hijau	+
Steroid	Liebermann Buchard	Hijau	+
Tanin	Ekstrak + air hangat + FeCl ₃	Endapan hijau kehitaman	+

aktivitas biologi. Hasil pengujian tersebut diperoleh bahwa ekstrak etanol daun *M. alba* mengandung senyawa golongan alkaloid, flavonoid, steroid dan tanin (Tabel 1).

Orientasi eluen dilakukan dengan menggunakan lempeng KLT yang telah diaktifkan terlebih dahulu selama 15 menit pada suhu 115°C. Dilarutkan ekstrak etanol daun murbei dan ditotol pada lempeng KLT kemudian dielusi dengan menggunakan eluen n-heksan: etil asetat dengan perbandingan (8:2), (5:5), dan (7:3) kemudian dilakukan pengamatan dengan penampakan noda dengan menggunakan sinar UV 254 dan 365 nm. Hasil kromatografi kolom dengan fase diam silica gel dan fase gerak n-heksan : etil asetat dengan menggunakan perbandingan berturut-turut sesuai tingkat kepolaran (10% = 1:9, 20% = 2:8, 30% = 3:7, 40% = 4:6, 50% = 5:5, 60% = 6:4, 70% = 7:3, 80% =8:2, 90% = 9:1 dan 100% = 0) hasil fraksi ditampung ke dalam vial dan diperoleh sebanyak 57 buah vial. Dilakukan orientasi fraksi pada vial 1, 10, 20, 30, 40, 50 dan 57 dengan perbandingan eluen n-heksan : etil asetat 5:5, 1;9, dan 8:2, fraksi nomor 1, 10, 40, dan 50 dengan perbandingan eluen 8:2. Setelah itu, dilakukan penggabungan fraksi yaitu nomor 1-6, 12-15, 16-22, 23-30, dan 31-35, kemudian dilakukan KLT pada fraksi nomor 1, 10, 40 dan 50 dengan perbandingan eluen 8:2. Dilakukan tahapan selanjutnya yaitu KLTP dengan fraksi yang dipilih yaitu fraksi No 10 dan diperoleh 4 pita namun yang dikerok hanya pada pita nomor tiga kemudian dilarutkan dengan etil asetat. Setelah itu dilanjutkan dengan pengukuran spektrofotometer FT-IR dan spektrofotometer UV-Vis.

Isolat yang diperoleh selanjutnya dikarakterisasi menggunakan FT-IR. Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 742 dan 798 cm⁻¹ mengidentifikasikan adanya gugus alkena dan aromatik. Data spektra pada frekuensi 968, 1074, 1112, dan 1273 cm⁻¹ mengidentifikasikan adanya gugus C-O dan spektra pada frekuensi 1336 cm⁻¹ mengidentifikasikan adanya gugus C-N (Silverstein, 2014).

Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 1377 dan 1462 cm⁻¹, hal ini mengidentifikasikan adanya gugus C-H karena absorbsi alkana terjadi pada bilangan gelombang 1350-1470 cm⁻¹. Data spectra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 1521, 1539 dan 1577 cm⁻¹, hal ini mengidentifikasikan adanya gugus C=C karena absorbsi cincin aromatik terjadi pada bilangan gelombang 1500-1600 cm⁻¹ (Silverstein,

2014) dan 1450-1600 cm⁻¹ (Fessenden, 1999). Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 1656 cm⁻¹, hal ini mengidentifikasikan adanya gugus C=C karena absorbsi alkena terjadi pada bilangan gelombang 1640-1680 cm⁻¹ (Silverstein, 2014). Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 2285, dan 2385 cm⁻¹, hal ini mengidentifikasikan adanya gugus O-H karena absorbsi (fenol, alkohol (ikatan H)) terjadi pada bilangan gelombang 2000-3600 cm⁻¹. Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 2854, 2921 dan 2954 cm⁻¹, hal ini mengidentifikasikan adanya gugus C-H karena absorbsi alkana terjadi pada bilangan gelombang 2850-2960 cm⁻¹ (Silverstein, 2014). Data spektra menunjukkan adanya serapan pada frekuensi 3421 cm⁻¹, hal ini mengidentifikasikan adanya gugus N-H karena absorbsi amin terjadi pada bilangan gelombang 3310 cm⁻¹ (Silverstein, 2014).

Hasil yang diperoleh dengan adanya gugus fungsi O-H, C-H, C-O dan C=C dapat disimpulkan isolat ini mengandung senyawa flavonoid, adanya gugus fungsi O-H, C=O, C-O, C=C aromatic dan C-H alifatik yang mendukung bahwa isolatnya positif suatu senyawa flavonoid dan adanya gugus fungsi N-H, dan C-N dapat disimpulkan mengandung senyawa alkaloid.

Spektrum yang tampak terdapat 2 pita yang dihasilkan oleh isolat. Serapan yang muncul pada panjang gelombang 239 dan 413 nm merupakan ciri senyawa flavonoid yang umumnya memiliki dua daerah serapan karena resonans elektron pada gugus benzoil dan *cinnamoyl* yang punya absorpsi pada panjang gelombang 240-285 nm dan 300-400 nm (Silverstein, 2014).

KESIMPULAN

Isolat ekstrak etanol daun *M. Alba* mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid dengan gugus fungsi utama O-H, C-H, C-O dan C=C, serta serapan UV pada panjang gelombang 239 dan 413 nm. Diharapkan agar dilakukan penelitian lebih lanjut menggunakan spektrofotometer *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) dan spektrofotometer Massa (GC-MS) untuk mengetahui karakteristik yang lebih detail dari isolat.

DAFTAR PUSTAKA

Agoes A. Tanaman obat Indonesia Buku 3. Salemba medika. 2010. Jakarta

Ferlinahayati E H. Senyawa morusin dari tumbuhan murbei hitam (*M. nigra*). Jurnal Penelitian Sains. 2012:15(2); 15214-15270

Tabel 1 Interpretasi hasil spektro IR

No.	Bilangan gelombang isolat (cm ⁻¹)	Pustaka Silverstein (cm ⁻¹)	Pustaka Fessenden (cm ⁻¹)	Prediksi gugus fungsi
1.	742	675-870	-	C-H (Alkena, Aromatik)
	798			
2.	968			
	1074	900-1300	1080-1300	C-O(Alkohol, Amin)
	1112			
	1273			
3.	1336	1180-1360	-	C-N (Amina)
4.	1377	1350-1470	-	C-H (Alkana)
	1462			
5.	1521	1500-1600	1450-1600	C=C (Cincin aromatik)
	1539			
	1577			
6.	1656	1640-1680	1600-1700	C=C (Alkena)
7.	2285	2000-3600	-	O-H (Fenol, Alkohol (Ikatan H))
8.	2854	2850-2960	2800-3000	C-H (Alkana)
	2926			
	2954			
9.	3421	3310-3500	3000-3700	N-H (Amin)

Fesenden. Kimia organik, Edisi 3, Jilid 2. Erlangga. 1999. Jakarta

Hunawa S. Isolasi dan karakterisasi fraksi 27 ekstrak etanol daun binahong (*Anredera cordifolia* Ten) asal daerah Gorontalo. Skripsi: Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Makassar. 2014. Makassar

Mohammadi J, Prakash R Naik. Evaluation of hypoglycemic effect of *Morus alba* in an animal model. Indian J Pharmacol. 2008:40(1): 15–18

Saifuddin A, Rahayu V, Teruna H Y. Standarisasi bahan obat alam Edisi I. Graha Ilmu. 2011. Yogyakarta

Sudjadi. Metode pemisahan. UGM Press. 1986. Yogyakarta Sastrohamidjojo H. Kromatografi. UGM Press. 2007. Yogyakarta

Silverstein R M. Spectrometric identification of organic compounds 8th edition. Wiley. 2014. United State of America

Wang Y, Limin Xiang, Chunhua Wang, Chao Tang, Xiangjiu He. Antidiabetic and antioxidant effects and phytochemicals of mulberry fruit (*Morus alba* L.) polyphenol enhanced extract. PLoS One. 2013:8(7); e71144

Wijayakusuma M Hembing. Ensiklopedia milenium tumbuhan berkhasiat obat Indonesia. Prestasi Intan. 2000. Jakarta