

Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Kacang Hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek)

¹Bella Fibriani, ²Yani Lukmayani, ³Leni Purwanti

^{1,2,3}Prodi Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Islam Bandung.

Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116

e-mail: ¹fibrianibella@yahoo.com, ²lukmayani@gmail.com, ³purwanti.leni@gmail.com

Abstrak. Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi dan identifikasi senyawa flavonoid ekstrak etanol biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek). Tahapan isolasi meliputi ekstraksi dengan metode maserasi, fraksinasi dengan menggunakan metode ekstraksi cair – cair (ECC), subfraksinasi dengan metode kromatografi cair vacuum (KCV), dan pemurnian dengan menggunakan KLT preparatif. Terhadap isolat dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT pengembang tunggal dan KLT 2 dimensi. Hasil uji kemurnian menunjukkan bahwa isolat adalah senyawa murni. Identifikasi isolat dilakukan menggunakan spektrofotometri ultra ungu - sinar tampak dengan pereaksi geser. Hasil identifikasi menunjukkan bahwa isolat yang berasal dari biji kacang hijau adalah flavonoid yang diduga golongan auron.

Kata kunci : Isolasi, Flavonoid, Auron, Kacang hijau, Pereaksi geser.

A. Pendahuluan

Masyarakat kini semakin menyadari arti pentingnya sayuran bagi kesehatan jasmani. Aneka sayuran dapat kita manfaatkan untuk memenuhi kebutuhan gizi (Pitojo, 2006:9). Salah satu jenis sayuran yang banyak dikonsumsi adalah biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) yang berasal dari suku polong-polongan (Leguminosae). Salah satunya Indonesia merupakan salah satu negara penghasil kacang hijau terbesar ke-empat di dunia. Dalam bidang pangan, biji kacang hijau sering diolah menjadi bubur, kue, minuman, dan tepung (Yulia dkk, 2012:1). Kandungan gizi dalam 100g kacang hijau yang meliputi karbohidrat 62,9 g, protein 22,2 g, lemak 1,2 g, kalsium 125 mg, fosfor 320 mg, zat besi 6,7 mg, vitamin A 157 SI, vitamin B1 0,64 mg, vitamin C 6 mg dan mengandung 345 kalori (Direktorat Gizi, 1981). Kacang hijau bukan hanya berguna untuk kesehatan tubuh manusia tetapi bisa juga digunakan sebagai obat tradisional (Rukmana, 1997:17). Selain itu kacang hijau mengandung juga senyawa golongan flavonoid, alkaloid, terpenoid, dan tanin (Aruna et al, 2012 :107).

Berdasarkan penelitian Djamil, Anelia (2009), kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) memiliki aktivitas antioksidan. Komponen yang bersifat antioksidan dalam sayuran dan buah-buahan meliputi vitamin C, E, β -karoten, flavonoid, isoflavon, flavon, antosianin, katekin, dan isokatekin (Kahkonen, et al., 1999), serta asam lipoat (Andreassen, et al., 2001). Senyawa fitokimia ini membantu melindungi sel dari oksidatif yang disebabkan oleh radikal bebas (Winarsi, 2007:122).

Flavonoid merupakan salah satu senyawa golongan fenol alami yang terbesar, terdapat dalam semua tumbuhan hijau sehingga ditemukan pada setiap telaah ekstrak tumbuhan (Markham, 1998:1). Senyawa flavonoid saat ini banyak mendapat perhatian karena kelompok senyawa ini dilaporkan mempunyai berbagai aktivitas farmakologis seperti anti inflamasi, antioksidan, anti bakteri, dll. Senyawa ini tersebar pada tumbuhan baik tingkat rendah maupun tinggi, pada hampir setiap tanaman (Mun'im, 2005:22).

Berdasarkan uraian di atas, maka dapat dibuat rumusan masalah flavonoid golongan apa yang dikandung pada biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek).

Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi golongan flavonoid yang ada pada biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek).

Hasil penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat bagi masyarakat untuk lebih mengetahui golongan flavonoid yang terdapat pada kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek).

B. Landasan Teori

Morfologi dari kacang hijau terdiri dari akar, batang, daun, bunga, dan biji. Kacang hijau merupakan tanaman yang tumbuh tegak dengan ketinggian berkisar antara 30 cm – 130 cm dan berakar tunggang. Tanaman ini memiliki batang yang berbuku-buku, berbulu, dan berwarna hijau kecoklatan hingga kemerahan. Daunnya terdiri dari tiga helai (trifoliate) dan letaknya berselingan. Helai daun berbentuk oval dengan bagian ujung yang lancip dan memiliki warna hijau sampai hijau tua. Bunganya berbentuk seperti kupu-kupu, memiliki warna kuning. Polong kacang hijau berbentuk silindris dengan panjang 5 cm – 10 cm dan menghasilkan 10-15 biji untung setiap polong. Biji kacang hijau berbentuk bulat kecil, memiliki warna hijau kusam, hijau mengkilat, dan kuning kecoklatan (Pratap & Kumar, 2011:42)

Kacang hijau merupakan tanaman yang berasal dari India dan kemudian menyebar ke berbagai Negara Asia tropis termasuk ke Indonesia pada awal abad ke-17. Indonesia merupakan penghasil kacang hijau ke-empat di dunia (Rukmana, 1997:16).

asam lemak oleat, asam lemak linolenat, vitamin A, vitamin B1 (thiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B3 (niasin), vitamin B6, vitamin C, mineral seperti kalsium, fosfor, besi, natrium, dan kalium (Astawan, 2009: 35).

Biji kacang hijau berperan untuk mengobati penyakit beri-beri, radang ginjal, melancarkan pencernaan, dan anemia (Rukmana, 1997: 17). Selain itu, khasiat lainnya adalah sebagai antimikroba, anti-inflamasi, antidiabetes, antihiperlipidemia, antihipertensi, diuretik, dan antioksidan (Tang et al., 2014:8-14).

Senyawa flavonoida merupakan senyawa golongan polifenol yang mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C₆ – C₃ – C₆, yaitu 2 cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan 3 karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1988:1). Flavonoida terdapat dalam tumbuhan sebagai campuran dari flavonoida yang berbeda golongan dan jarang sekali dijumpai hanya flavonoid tunggal. Flavonoida pada tumbuhan terdapat dalam berbagai bentuk struktur molekul dengan beberapa bentuk kombinasi glikosida. Oleh karena itu, dalam menganalisis flavonoida lebih baik memeriksa aglikon yang telah terhidrolisis daripada dalam bentuk glikosida dengan strukturnya yang rumit dan kompleks (Harborne, 1987: 71).

Parameter standar simplisia dan ekstrak dilakukan untuk menjamin keamanan, dan kualitas dari simplisia dan ekstrak. Parameter standar simplisia meliputi parameter spesifik dan parameter non spesifik.

Parameter spesifik terdiri dari identitas, yaitu tata nama ekstrak yang mempunyai senyawa identitas atau senyawa tertentu yang menjadi petunjuk spesifik. Parameter organoleptik ekstrak dengan menggunakan panca indra mendeskripsikan bentuk, rasa, bau, dan warna. Senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (larut air dan etanol) dilakukan dengan melarutkan ekstrak dalam pelarut untuk menentukan jumlah solut yang identik. Parameter kadar kandungan kimia tertentu, dengan adanya suatu kandungan kimia yang berupa senyawa identitas tertentu, dilakukan dengan berbagai

Kandungan biji k

instrumen seperti kromatografi lapis tipis, kromatografi gas, kromatografi cair kinerja tinggi, atau instrumen lain yang sesuai (Depkes RI, 2000: 30-33).

Parameter non-spesifik dilakukan untuk menetapkan kualitas ekstrak dan simplisia yang terdiri dari susut pengeringan (untuk simplisia), bobot jenis (untuk ekstrak), kadar air (untuk simplisia), kadar abu total, dan kadar abu tidak larut asam (untuk simplisia dan ekstrak). Susut pengeringan dilakukan untuk memberikan batasan maksimal besarnya senyawa yang hilang pada proses pengeringan. Parameter bobot jenis dilakukan untuk mengetahui batasan besarnya masa per satuan volume untuk parameter khusus ekstrak cair sampai ekstrak kental. Parameter kadar abu dinilai untuk memberikan gambaran kandungan mineral yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Depkes RI, 2000: 13-20).

Ekstraksi merupakan proses penarikan zat pokok dari bahan dasar obat, baik yang berasal dari simplisia nabati atau hewani menggunakan pelarut yang dipilih, dimana zat yang diinginkan dapat larut atau disebut dengan ekstrak (Ansel, 2008: 605). Salah satu metode yang dapat digunakan untuk proses ekstraksi adalah maserasi. Maserasi merupakan proses perendaman simplisia menggunakan pelarut dengan beberapa kali pengocokan yang biasanya dilakukan pada temperatur 15° - 20°C dalam waktu selama 3 hari sampai zat yang diinginkan dapat larut (Ansel, 2008:608).

Fraksinasi adalah metode pemisahan campuran menjadi beberapa fraksi yang berbeda susunannya. Metode pemisahan yang banyak digunakan adalah metode ekstraksi cair-cair dan kromatografi (Harborne, 1987:8).

Ekstraksi cair-cair merupakan proses pemisahan di mana suatu zat terbagi dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Koefisien distribusi atau koefisien partisi yang merupakan tetapan keseimbangan yang merupakan kelarutan relatif dari suatu senyawa terlarut dalam dua pelarut yang tidak bercampur. Prinsip ekstraksi cair-cair adalah like dissolves like yang berarti bahwa senyawa polar akan mudah larut dalam pelarut polar, dan senyawa nonpolar mudah larut dalam senyawa nonpolar (Fajariah, 2009:8). Ekstraksi cair-cair dalam prosesnya terjadi perpindahan solut dari satu fase ke fase lain. Pada ekstraksi cair cair, fase yang digunakan adalah dua cairan yang tidak saling bercampur, biasanya digunakan air dan pelarut organik (Harborne, 1987: 4).

Kromatografi didefinisikan sebagai prosedur pemisahan zat terlarut oleh suatu proses migrasi diferensial dinamis dalam sistem yang terdiri dari dua fase. Teknik kromatografi umum membutuhkan zat terlarut terdistribusi diantara dua fase yaitu fase diam dan fase gerak (Depkes RI, 1995:1002).

Kromatografi preparatif merupakan metode kromatografi untuk mendapatkan isolat murni, dimana pada kromatografi preparatif ini setiap senyawa akan terpisah menurut tingkat kepolarannya membentuk urutan pita pita. Pita selanjutnya dipisahkan untuk dilarutkan pada pelarut yang sesuai sehingga akhirnya diperoleh isolat murni (Harborne, 1987).

C. Hasil Penelitian dan Pembahasan

Pengumpulan Bahan dan Determinasi

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini adalah biji kacang hijau *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek yang diperoleh dari Balitsa-Lembang, Jawa Barat berupa simplisia segar sebanyak 1000 g. Untuk perlakuan awal dilakukan pencucian. Pencucian dilakukan untuk menghilangkan kotoran yang menempel pada simplisia, sehingga tidak menimbulkan kontaminasi dan tidak mempengaruhi hasil akhir. Biji kacang hijau yang sudah dibersihkan kemudian dikeringkan dengan cara di angin-

inginkan sehingga tidak menimbulkan kerusakan pada simplisia dan disimpan di dalam wadah yang tertutup rapat.

Pemeriksaan Makroskopik dan Mikroskopik

Hasil pemeriksaan makroskopik pada biji kacang hijau menunjukkan bahwa biji kacang hijau berbentuk bulat, dengan diameter berkisar antara 0,17-0,38 cm, berwarna hijau kusam, dan biji kacang hijau tidak berasa.

Pemeriksaan mikroskopik dilakukan terhadap serbuk biji *Vigna radiata* (L.) R. Wilczek dilakukan pada pembesaran 10x dengan reagen I2KI. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa simplisia tersebut memiliki endosperm dan butir pati.

Penapisan Fitokimia

Hasil penapisan fitokimia biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) dapat dilihat dari **Tabel 1**.

Tabel 1. Hasil penapisan fitokimia simplisia biji kacang hijau

Senyawa	Simplisia
Alkaloid	(+)
Flavonoid	(+)
Polifenolat	(+)
Kuinon	(+)
Tanin	(+)
Saponin	(+)
Monoterpen/Sesquiterpen	(+)
Triterpen/Steroid	(+)

Penetapan Parameter Standar Simplisia Organoleptik

Pengamatan organoleptik dari biji kacang hijau berbentuk bulat, dengan diameter berkisar antara 0,17-0,38 cm, berwarna hijau kusam, dan biji kacang hijau tidak berasa (Pratap & Kumar:2011:42).

Evaluasi parameter standar simplisia

Hasil parameter-parameter non spesifik dan spesifik dari simplisia dapat dilihat pada **Table 2**.

Tabel 2. Evaluasi parameter standar simplisia biji kacang hijau

Parameter Standar	Simplisia	Syarat Menurut MMI
Kadar Sari Larut Air	8,25%	> 4,5%
Kadar Sari Larut Etanol	1,52%	> 0,5%
Kadar Air	7,56%	< 10%
Kadar Abu Total	3,65%	< 3,5%
Kadar Abu Tidak Larut Asam	0,29%	< 0,5%

Ekstraksi dan Fraksinasi

Dalam penelitian ini proses ekstraksi dilakukan dengan cara maserasi. Ekstraksi dengan metode maserasi memiliki kelebihan yaitu dapat menarik senyawa yang bersifat termolabil dan termostabil. Proses maserasi dilakukan selama 3x24jam menggunakan pelarut etanol 96% dan melakukan penggantian pelarut setiap 24jam. Ekstrak cair yang diperoleh kemudian dipekatkan dengan menggunakan vacuum

rotary evaporator dan waterbath hingga diperoleh ekstrak kental sebanyak 25 gram dengan randemen 2,5% dapat dilihat pada **Tabel.3**.

Tabel.3. Hasil ekstraksi biji kacang hijau

Sampel	Jumlah Simplisia	Jumlah Ekstrak	Randemen
Kacang Hijau	1000 gram	25,405 gram	2,54%

Terhadap ekstrak pekat yang dihasilkan dilakukan fraksinasi. Fraksinasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah ekstraksi cair-cair (ECC) dan Kromatografi cair vacuum (KCV).

Dari hasil fraksinasi dengan metode ECC diperoleh fraksi n-Heksana sebanyak 0,613g dan fraksi etil asetat sebanyak 0,396g. Terhadap fraksi n-Heksana dan fraksi etil asetat yang diperoleh kemudian dilakukan pemantauan KLT dengan menggunakan eluen n-Heksana : etil asetat (2:8). Hasil pemantauan KLT dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1. Pemantauan fraksi hasil ECC

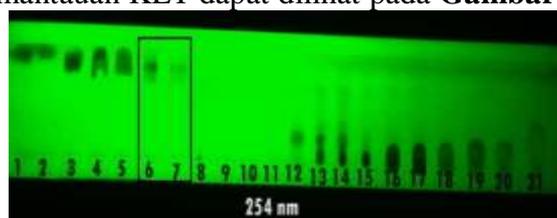
Keterangan : FG : n-Heksan : etil asetat (2:8)

FD : Silika Gel₂₅₄

- 1: Ekstrak Etanol
- 2: Fraksi n-Heksan
- 3: Fraksi Etil asetat
- 4: Pembanding Kuersetin

Dalam kromatogram terlihat adanya bercak berwarna kuning pada fraksi etil asetat dengan Rf 0,8. Bercak berwarna kuning dalam fraksi etil asetat ini yang nantinya akan diisolasi. Fraksi etil asetat yang dihasilkan sebanyak 0,396 gram. Selanjutnya terhadap fraksi etil asetat dilakukan subfraksinasi dengan cara Kromatografi Cair Vacuum (KCV).

Dari 0,3 gram fraksi etil asetat dihasilkan 21 fraksi hasil KCV, kemudian dilakukan pemantauan terhadap fraksi hasil KCV dengan menggunakan plat KLT dan mentotolkan 21 fraksi di dalam 1 plat KLT dengan menggunakan eluen n-heksan : etil asetat (2:8) kemudian dilihat di bawah sinar uv dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Hasil pemantauan KLT dapat dilihat pada **Gambar 2**.



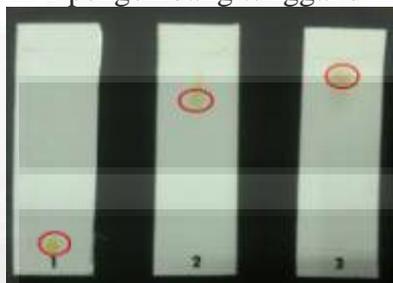
Gambar 2. Hasil Pemantauan KLT

Keterangan : FG: etil asetat : n-Heksan(8:2)
 FD:Silika Gel₂₅₄ dilihat pada panjang gelombang 254nm
 Fraksi terpilih: 6&7

Untuk fraksi terpilih yang lebih pasti maka dilakukan kembali pemantauan terhadap fraksi 6 dan 7 menggunakan eluen n-heksana : etil asetat (2:8) sehingga memberikan pemisahan yang lebih baik dan dapat ditentukan hasil fraksi terpilih yang paling baik adalah fraksi no.6. Terhadap fraksi no.6 dilakukan isolasi senyawa flavonoid dengan metode KLT preparatif menggunakan fase gerak n-heksana : etil asetat (2:8).

Uji Kemurnian

Uji kemurnian dilakukan dengan KLT pengembang tunggal dan KLT 2 dimensi. KLT pengembang tunggal menggunakan tiga jenis pengembang yang berbeda kepolaran yaitu yang bersifat non polar, semi polar, dan polar. Dari ketiga pengembang diperoleh satu bercak yang menunjukkan bahwa isolat tersebut sudah murni. Hasil Uji kemurnian KLT pengembang tunggal dilihat pada **Gambar 3**.



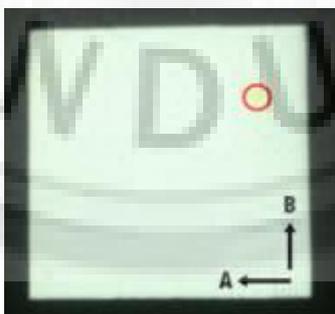
Gambar 3. Hasil Uji Kemurnian Pengembang Tunggal

Keterangan : FG: 1. N-heksana
 2. etil asetat
 3. metanol

FD: Silika Gel₂₅₄ dengan Penampak

Bercak H₂SO₄

Pengujian KLT dua dimensi menggunakan dua jenis campuran eluen, yaitu yang bersifat kurang polar dan lebih polar. Hasil uji kemurnian dua dimensi dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4. Hasil Uji Kemurnian 2 Dimensi

Keterangan : FG: 1.n-heksana:etil asetat
 2.etil asetat:nheksana

FD: Silika Gel₂₅₄ dengan Penampak

Bercak H₂SO₄

Karakterisasi Isolat

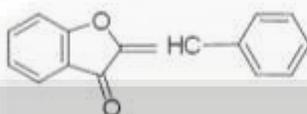
Karakterisasi isolat pada penelitian ini menggunakan pereaksi geser. Pereaksi

geser ini digunakan untuk menentukan kedudukan gula dan gugus hidroksil fenol pada inti flavonoid dengan mengamati pergeseran puncak (peak) serapan yang terjadi. Hasil pengujian pada pereaksi geser dapat dilihat pada **Tabel 4**.

Tabel 4. Hasil Penafsiran Spektrum UV-Vis dengan Pereaksi Geser

	Pita I	Pita II	Pergeseran Pita I	Pergeseran Pita II	Keterangan
MeOH	416	290	-	-	Auron
NaOH	453	288	+37	-	6-OH dengan oksigenasi pada 4'
AlCl ₃	438	288	+2 (AlCl ₃ /HCl)	-	Tidak ada o-diOH
AlCl ₃ /HCl	436	289			

Dari data tabel diatas isolat yang dilarutkan dalam metanol menghasilkan absorbansi pita I sebesar 416 dan pita II sebesar 290. Menurut literatur data tersebut menunjukkan rentang 380-430 dan 230-270 yang menyatakan bahwa senyawa tersebut adalah flavonoid golongan auron (Markham.1988:39). Struktur auron dapat dilihat pada **Gambar 5**.



Gambar 5. Struktur auron

Pada tahapan selanjutnya isolat direaksikan dengan NaOH untuk mengamati gugus hidroksilasi yang lebih asam dan tidak tersubstitusi pada pita I, menghasilkan absorbansi pita I sebesar 453 dan pita II sebesar 288 hasil menunjukkan adanya pergeseran sebesar 37 nm yang menunjukkan 6-OH dengan oksigenasi pada 4' (Markham.1988:44).

Tahapan selanjutnya isolat direaksikan dengan AlCl₃ untuk mendeteksi adanya substitusi di 3' dan 4', Ortodihidroksi (berdampingan), menghasilkan absorbansi pita I sebesar 438 dan pita II sebesar 288. Dan kemudian selanjutnya direaksikan dengan AlCl₃/HCl menghasilkan absorbansi pita I sebesar 436 dan pita II sebesar 289. Hasil pengujian menunjukkan adanya pergeseran sebesar 2 nm pada pita I yang menunjukkan tidak adanya o-diOH karena tidak ada pelepasan AlCl₃ karena penambahan HCl (Markham.1988:46).

Untuk pengujian dengan menggunakan natrium asetat/asam borat tidak dilakukan karena senyawa yang dihasilkan tidak mencukupi untuk dilakukan pengujian.

D. Kesimpulan dan Saran

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan telah berhasil diisolasi senyawa golongan flavonoid yang berasal tanaman biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) mengandung senyawa flavonoid golongan auron.

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dalam mengidentifikasi senyawa flavonoid dari tanaman biji kacang hijau (*Vigna radiata* (L.) R. Wilczek) dengan menggunakan spektrofotometer Resonansi Magnetik Inti (NMR) baik H-NMR dan C-NMR.

Daftar Pustaka

- Ansel, H. C. (1989). *Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi*. Edisi IV, terjemahan Ibrahim, F., Penerbit Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- Astawan, Made. (2009). *Sehat Dengan Hidangan Kacang dan Biji-bijian*, Cetakan ke-1. Penebar Swadaya. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depkes RI. Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI. Depkes RI. Jakarta.
- Direktorat Gizi Departemen Kesehatan RI. (1981). *Daftar Komposisi Bahan Makanan*. Jakarta.
- Djamil dan Anelia. (2009). 'Penapisan Fitokimia, Uji BSLT, dan Uji Antioksidan Ekstrak Metanol beberapa Spesies Papilionaceae', *Jurnal Kefarmasian*, Fakultas Farmasi, Universitas Pancasila. Jakarta Selatan.
- Fajariah, N. I. (2009). *Uji Aktifitas Antibakteri Fraksi Etil Asetat Ekstrak Etanol Kayu Secang (Caesalpinia sappan L.) terhadap Staphylococcus aureus dan Shigella dysenteriae serta Bioautografinya* [Skripsi], Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Surakarta.
- Harborne. (1987). *Metode fitokimia, Penentuan Modern Menganalisa Tumbuhan*, Terbitan ke-2, Terjemahan Padmawinata, K. dan Soediro, I. Bandung : ITB
- Markham, KR. (1988). *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Padmawinata K, penerjemah; Niksolihin S, editor. Penerbit ITB. Bandung. Terjemahan dari: *Techniques of flavonoid Identification*.
- Mun'in. Abdul. (2005). 'Isolasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Flavonoida Dari *Crotalaria anagyroides*', *Majalah Kefarmasian*, Vol. II, No.1, Fakultas Farmasi, Universitas Indonesia.
- Pratap, Aditya and Kumar, Jitendra. (2011). *Biology and Breeding of Food Legumes*, CAB International, London.
- Pitojo, Setijo, Ir. (2006). *Talesom, Sayuran Berkhasiat Obat*, Edisi Revisi. Penerbit Kanisius. Yogyakarta.
- Rukmana Rahmat, Ir. H. (1997). *Kacang Hijau, Budi Daya dan Pasca Panen*. Penerbit Kanisius. Jakarta.
- Tang, Dongyang, Dong, Yinmao., Ren, Hankun., Li Li., and He, Congfen. (2014). 'A Review of Phytochemistry, Metabolite Changes, and Medical Uses of The Common Food Mung Bean and Its Sprouts (*Vigna radiata*)', *Chemistry Central Journal*, Vol.8., No.4.
- Winarsi, H. (2007). *Antioksidan Alami Dan Radikal Bebas*. Penerbit Kanisius 15. Jakarta.
- Yulia, Endang, dkk. (2013). *Pertumbuhan Dan Hasil Kacang Hijau (Vigna radiata L.) pada beberapa konsentrasi limbah cair pabrik kelapa sawit* [Skripsi], Program Studi Agroteknologi, Fakultas Pertanian, Universitas Tamansiswa Padang