

Isolasi dan Karakterisasi Alkaloid dari Daun Sirih Merah (*Piper Crocatum* Ruiz & Pav)

¹Fathimah Azzahra, ²Yani Lukmayani, M.Si, Apt, ³Esti Rachmawati Sadiyah, M.Si
^{1,2,3}
Prodi Farmasi, Fakultas MIPA, Unisba, Jl. Tamansari No. 1 Bandung 40116
e-mail: ¹amyazzahra27@gmail.com, ²lukmayani@gmail.com,
³esti_sadiyah@ymail.com

Abstrak: Telah dilakukan penelitian mengenai isolasi alkaloid dari daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). Tahapan isolasi meliputi ekstraksi dengan metode maserasi, menggunakan pelarut metanol, dilanjutkan dengan fraksinasi menggunakan metode ekstraksi cair-cair asam basa hingga diperoleh fraksi alkaloid netral atau basa lemah, fraksi alkaloid basa dan fraksi alkaloid kuarternar. Terhadap fraksi alkaloid netral atau basa lemah dilakukan subfraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum, dilanjutkan dengan pemurnian menggunakan KLT preparatif hingga diperoleh isolat. Terhadap isolat dilakukan karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometri ultraungu (UV)-sinar tampak dan spektrofotometri inframerah. Hasil karakterisasi menunjukkan bahwa isolat memiliki panjang gelombang maksimum 280 nm dan menunjukkan adanya transmitan pada bilangan gelombang 3420 (cm⁻¹) (N-H regang), 1661 (cm⁻¹) (N-H tekuk), dan 1107 (cm⁻¹) (amina alifatik) yang merupakan karakteristik dari senyawa alkaloid. Berdasarkan spektrum inframerah dapat disimpulkan bahwa isolat merupakan alkaloid dengan gugus amina primer alifatik.

Kata kunci: Isolasi, alkaloid, sirih merah, amina primer alifatik

A. Pendahuluan

Dewasa ini, kian berkembang tentang penggunaan aneka ragam jenis tumbuhan sebagai bahan obat-obatan tradisional atau pengobatan alternatif. Perkembangan tersebut tidak saja terjadi di negara-negara berkembang, tetapi juga di negara-negara maju. Ada beberapa faktor yang menyebabkan semakin banyak orang yang menaruh perhatian dan menggunakan jenis-jenis tumbuhan sebagai bahan obat tradisional, antara lain penduduk telah mengenal dan menggunakannya secara turun temurun dengan waktu yang sangat lama, dan dianggap efek sampingnya kecil (Wasito, 2011 : 3 & 11).

Senyawa-senyawa metabolit sekunder terdapat di dalam tumbuhan. Salah satu senyawa metabolit sekunder adalah alkaloid, penyebaran di alam serta aktivitas biologisnya sangat penting. Efek fisiologis yang kuat dan selektifitas senyawa alkaloid menyebabkan senyawa alkaloid tersebut sangat bermanfaat dalam hal pengobatan (Grycova dkk, 2007 : 151).

Salah satu tanaman yang sering digunakan sebagai obat tradisional adalah sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav). Sirih merah merupakan salah satu tanaman obat potensial yang sejak dahulu diketahui memiliki berbagai khasiat obat untuk berbagai jenis penyakit, seperti diabetes, kanker, asam urat, hipertensi dan lain sebagainya (Prapti & Puspaningtyas, 2013: 170).

Daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) terbukti mengandung minyak atsiri, flavonoid, alkaloid dan senyawa fenolik (Erviana dkk, 2011 : 74). Sejauh yang diketahui, belum terdapat informasi secara pasti mengenai jenis alkaloid yang terkandung dalam daun sirih merah, maka pada penelitian ini dilakukan isolasi dan karakterisasi alkaloid yang berasal dari daun sirih merah. Berdasarkan latar belakang di atas dapat dirumuskan permasalahan jenis senyawa alkaloid apakah yang terdapat dalam daun sirih merah.

Tujuan dari penelitian ini adalah untuk memperoleh isolat murni alkaloid dan mengetahui golongan alkaloid yang berasal dari daun sirih merah. Manfaat yang dapat

diperoleh dari penelitian ini adalah dapat memberikan informasi mengenai jenis alkaloid yang terkandung di dalam daun sirih merah. Penelitian ini juga diharapkan dapat memberikan sumbangan berupa pengetahuan mengenai informasi jenis alkaloid dari daun sirih merah.

B. Landasan Teori

Berdasarkan penelitian Astuti dan Munawaroh (2011 : 84), sirih merah dapat dideskripsikan sebagai tumbuhan yang merambat atau menjalar di pohon atau di pagar, batang bulat, daunnya tunggal, bentuk daun menyerupai hati, warna dasar daun hijau pada kedua permukaannya, bagian atas hijau dengan garis-garis merah jambu kemerahan, permukaan bagian bawah hijau merah tua keunguan. Sirih merah mengandung beberapa senyawa aktif yang utama seperti flavonoid, alkaloid, senyawa polifenolat dan minyak atsiri. Senyawa-senyawa tersebut diketahui memiliki aktivitas antibakteri.

Dari sudut pandang biologis, alkaloid adalah senyawa kimia biologis aktif dan berbentuk heterosiklik yang mengandung nitrogen dan sebagian dapat memiliki aktivitas farmakologi pada manusia dan hewan lainnya. Dalam banyak kasus, digunakan sebagai pengobatan dan ekologi. Winterstein dan Tier (1910, *dalam* Aniszweski, 2007 : 2) menekankan bahwa senyawa ini punya karakteristik sebagai berikut (1) toksisitas dapat lebih tinggi atau lebih rendah, terutama yang bertindak pada sistem saraf pusat (SSP), (2) memiliki karakter dasar kimia berupa nitrogen heterosiklik, disintesis dari asam amino atau derivatifnya dan (3) distribusi yang terbatas di alam.

Alkaloid kebanyakan bersifat basa. Sifat tersebut tergantung adanya pasangan elektron pada nitrogen. Kebiasaan alkaloid tergantung pada pasangan elektron bebas pada atom nitrogen mereka (Kakhia, 2012 : 9). Sistem klasifikasi alkaloid yang paling banyak diterima adalah klasifikasi menurut Hegnauer yang berdasarkan pada jalur biosintesis (Cordell, 1981 : 5) dan Aniszewski (2007 : 6) yaitu alkaloid dikelompokkan menjadi :

a. Alkaloid sejati

Alkaloid sejati adalah racun, senyawa tersebut menunjukkan aktivitas fisiologi yang luas, hampir tanpa terkecuali bersifat basa; lazim mengandung nitrogen dalam cincin heterosiklik; diturunkan dari asam amino; biasanya terdapat dalam tanaman sebagai garam asam organik.

b. Protoalkaloid

Protoalkaloid merupakan asam amino yang relatif sederhana dan nitrogen asam amino tidak terdapat dalam cincin heterosiklik. Protoalkaloid diperoleh berdasarkan biosintesis dari asam amino yang bersifat basa. Pengertian “amino biologis” sering digunakan untuk kelompok ini. Contoh meskalin, ephedin, dan N,N-dimetiltriptamin.

c. Pseudoalkaloid

Pseudoalkaloid tidak diturunkan dari prekursor asam amino. Senyawa biasanya bersifat basa. Ada dua seri alkaloid yang penting dalam kelas ini, yaitu alkaloid stereoidal dan purin.

Alkaloid umumnya memiliki aktivitas farmakologi terutama pada mamalia seperti manusia. Bahkan saat ini banyak alkaloid dari sumber alami yang sering digunakan sebagai obat dan obat-obatan alkaloid baru masih terus berkembang untuk penggunaan klinis. Kebanyakan alkaloid dengan aktivitas biologis pada manusia mempengaruhi sistem saraf, terutama sebagai neurotransmitter kimia misalnya

asetilkolin, epinefrin, norepinefrin, asam gamma aminobutirat (GABA), dopamin dan serotonin (Roberts dan Wink, 1998 : 5). Menurut Cordell (1983, dalam Roberts dan Wink, 1998 : 6) menyatakan bahwa banyak alkaloid berfungsi sebagai model untuk sintesis kimia analog dengan sifat yang lebih baik. Contoh penting adalah hiosiamin dan skopolamin (*Atropa belladonna* dan *Datura*) sebagai model untuk bahan parasimpatomimetik sintetis.

C. Metodologi Penelitian

Penelitian isolasi dan karakterisasi alkaloid dari daun sirih merah dilakukan melalui beberapa tahapan yaitu penyiapan bahan, ekstraksi, fraksinasi, isolasi alkaloid, uji kemurnian, dan karakterisasi isolat.

Sebelum dilakukan ekstraksi, bahan simplisia dihilangkan kandungannya dengan dilarutkan dalam n-heksan. Terhadap ampas dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol lalu dilakukan pemekatan ekstrak. Selanjutnya terhadap ekstrak pekat ditambahkan asam tartarat 2% hingga pH 3-4 sambil diaduk, selanjutnya difraksinasi dengan cara dipartisi menggunakan etil asetat sampai diperoleh fraksi alkaloid netral atau basa lemah. Selanjutnya terhadap larutan asam (asam tartrat 2%), kemudian dibasakan dengan ammonia hingga pH 9-10, kemudian larutan basa berair dipartisi menggunakan etil asetat sampai diperoleh fraksi alkaloid basa dan alkaloid kuarternar. Terhadap tiga fraksi alkaloid dilakukan pemantauan KLT untuk melihat profil kromatogram alkaloidnya menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dengan fase gerak campuran pelarut n-heksan:etil asetat.

Terhadap fraksi terpilih dilakukan fraksinasi dengan metode kromatografi cair vakum (KCV) dengan fase diam silika gel 60H dan fase gerak sistem landaian dengan kepolaran meningkat, lalu dilakukan isolasi dengan metode KLT preparatif dengan menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak campuran n-heksan:etil asetat sehingga diperoleh isolat. Setelah itu dilakukan uji kemurnian terhadap isolat dengan metode KLT pengembang tunggal dengan tiga komposisi fase gerak yang berbeda dan dilakukan KLT dua dimensi. Selanjutnya isolat dikarakterisasi menggunakan spektrofotometri UV-sinar tampak dan spektroskopi inframerah (IR).

D. Hasil dan Pembahasan

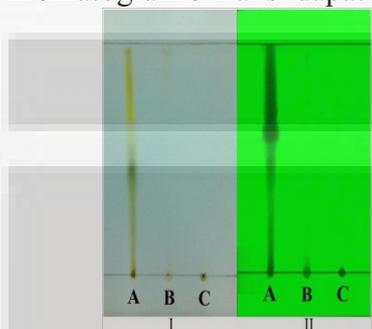
Bahan tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini adalah daun sirih merah yang diperoleh dari Balitro Bogor. Daun sirih merah dikumpulkan selanjutnya dicuci dengan air mengalir untuk menghilangkan pengotor yang masih melekat. Setelah itu dilakukan perajangan, pengeringan, dan sortasi kering. Selanjutnya dilakukan penggilingan dengan menggunakan *blender* sehingga diperoleh serbuk daun sirih merah. Proses pembuatan simplisia menjadi serbuk bertujuan untuk mengoptimalkan proses penarikan senyawa pada saat ekstraksi.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi. Pertama-tama 1 kg simplisia dimaserasi menggunakan pelarut n-heksan selama 3x24 jam dengan dilakukan penggantian pelarut setiap 24 jam. Hal ini bertujuan untuk menghilangkan sebagian kecil kandungan senyawa nonpolar seperti lipid, klorofil dan sebagainya. Proses ini terkadang disebut "*defatting*" (Sarker dkk, 2006 : 271). Selanjutnya terhadap ampas dilakukan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol selama 3x24 jam dengan dilakukan penggantian pelarut setiap 24 jam agar proses penarikan senyawa yang terkandung lebih maksimal.

Kemudian ekstrak cair tersebut dievaporasi dan dipekatkan untuk memperoleh ekstrak pekat, dari ekstrak pekat tersebut diperoleh rendemen sebesar 8,02 %. Terhadap ekstrak pekat ditambahkan asam tartarat 2% hingga pH 3-4, hal ini bertujuan untuk membentuk garam alkaloid yang terlarut (Fadhli, 2012 : 11). Selanjutnya fraksinasi dengan cara dipartisi menggunakan etil asetat sampai diperoleh alkaloid netral atau basa lemah dan alkaloid basa. Selain itu juga diperoleh alkaloid quarterner namun tidak dihitung bobotnya disebabkan sulit untuk memekatkannya.

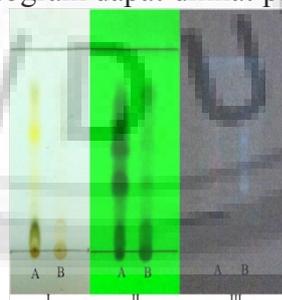
Larutan asam (asam tartarat 2 %) dibasakan dengan ammonia hingga pH 9-10. Hal ini bertujuan untuk membebaskan sebagian besar garam alkaloid. Kemudian larutan basa berair diekstraksi dengan pelarut organik yaitu etil asetat hingga diperoleh dua fraksi yaitu fraksi alkaloid basa dari etil asetat dan fraksi alkaloid kuarterner dari larutan basa berair. Selanjutnya fraksi diuapkan dalam *vacuum rotary evaporator* untuk mendapatkan bobot alkaloid (Cordell, 1981 : 14). Hasil perolehan alkaloid netral atau basa lemah sebanyak 20,8261 gram dengan rendemen 29,75% dan alkaloid basa sebanyak 4,4144 gram dengan rendemen 6,30%.

Terhadap 3 fraksi yang diperoleh dilakukan pemantauan dengan metode KLT. Fase diam yang digunakan yaitu silika gel GF₂₅₄ sedangkan fase gerak yang digunakan adalah etil asetat 100%. Hasil kromatogram 3 fraksi dapat dilihat pada **Gambar 1**.



Gambar 1 Kromatogram pemantauan KLT, 3 fraksi, [I pemantauan secara visual, II pemantauan di bawah lampu UV 254 nm, fraksi alkaloid netral atau basa lemah (A), fraksi alkaloid basa (B), fraksi alkaloid quaterner (C), FD: Silika gel GF₂₅₄, FG: etil asetat 100%]

Selanjutnya dilakukan pemantauan terhadap fraksi alkaloid netral atau basa lemah dan fraksi alkaloid basa dengan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3). Hasil kromatogram dapat dilihat pada **Gambar 2**.



Gambar 2 Kromatogram pemantauan KLT, [I secara visual, II di bawah lampu UV 254 nm dan III di bawah lampu UV 366 nm, fraksi alkaloid netral atau basa lemah (A) dan fraksi alkaloid basa (B), FD: silika gel GF₂₅₄, FG: n-heksan:etil asetat (7:3)]

Fraksi selanjutnya disemprot menggunakan penampak bercak Dragendorff. Berdasarkan pemantauan dengan penampak bercak Dragendorff fraksi yang terpilih adalah fraksi alkaloid netral atau basa lemah yang ditandai dengan timbulnya warna

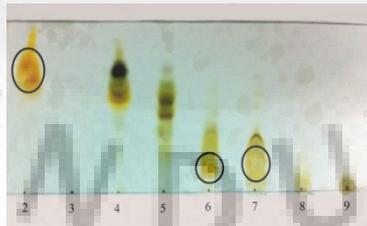
orange atau jingga. Warna orange atau jingga yang ditunjukkan sama dengan warna orange atau jingga pada pembandingan piperin. Sehingga fraksi terpilih adalah fraksi alkaloid netral atau basa lemah. Kromatogram dapat dilihat pada **Gambar 3**.



Gambar 3 Kromatogram pemantauan KLT, [pemantauan secara visual, fraksi alkaloid netral atau basa lemah (A) dan fraksi alkaloid basa (B), pembandingan piperin, FD: silika gel GF₂₅₄, FG: n-heksan:etil asetat (4:6)]

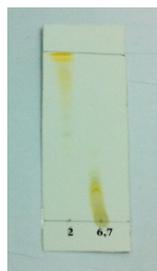
Setelah dilakukan pemantauan KLT, terhadap fraksi terpilih yaitu fraksi alkaloid netral atau basa lemah dilakukan pemisahan lebih lanjut dengan menggunakan kromatografi cair vakum. Fase diam berupa silika gel H 60 dengan fase gerak sistem landaian yang kepolarannya ditingkatkan dengan variasi konsentrasi n-heksan, etil asetat dan metanol.

Kromatografi Cair Vakum (KCV) merupakan salah satu metode fraksinasi untuk menghasikan fraksi yang lebih sederhana. Pemisahan tersebut memanfaatkan kolom yang berisi fase diam dan aliran fase geraknya dibantu dengan pompa vakum. KCV memisahkan fraksi berdasarkan pelarutnya, agar fraksi tertentu turun maka kepolarannya harus ditingkatkan dimulai dari nonpolar, semipolar, dan polar. Dari hasil kromatografi diperoleh fraksi sebanyak 21 fraksi, setiap fraksinya ditampung kemudian fraksi dipekatkan dan dipantau dengan menggunakan KLT. Dari hasil pemantauan KLT fraksi, fraksi no 2, 6, dan 7 adalah fraksi terpilih. Hal ini ditandai dengan adanya bercak warna orange atau jingga pada fraksi setelah diberi penampak bercak Dragendorff. Hasil pemantauan KLT fraksi dari KCV dapat dilihat pada **Gambar 4**.



Gambar 4 Kromatogram pemantauan KLT, fraksi KCV [FD: silika gel GF₂₅₄, FG: campuran pelarut n-heksan:etil asetat (7:3), penampak bercak Dragendorff, fraksi netral atau alkaloid basa lemah, no 2-9]

Selanjutnya ketiga fraksi tersebut dilakukan pemantauan kembali dengan KLT. Untuk fraksi no 6 dan 7 keduanya digabung karena memiliki Rf yang sama, nilai Rf yang diperoleh yaitu 0,4. Dari hasil pemantauan KLT fraksi 2 dan 6,7, maka fraksi no 6,7 yang dipilih karena bercak yang dihasilkan berwarna orange atau jingga lebih banyak dibandingkan fraksi no 2 seperti yang ditunjukkan **Gambar 5**. Fraksi no 6,7 selanjutnya diisolasi dengan KLT preparatif.



Gambar 5 Kromatogram pemantauan KLT (7), fraksi KCV [FD: silika gel GF₂₅₄, FG: campuran pelarut n-heksan:etil asetat (9:1), penampak bercak Dragendorff, fraksi no 2, 67]

Tahapan isolasi dilakukan dengan KLT preparatif terhadap fraksi KCV no 6,7 menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄ dan fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3). Hasil KLT preparatif diperoleh tiga pita dengan Rf 0,5 (1), Rf 0,4 (2), dan Rf 0,2 (3). dapat dilihat pada **Gambar 6**.



Gambar 6 Kromatogram pemantauan KLT preparatif [FD: silika gel GF₂₅₄, FG: campuran pelarut n-heksan:etil asetat (7:3), tanda lingkaran penampak bercak Dragendorff]

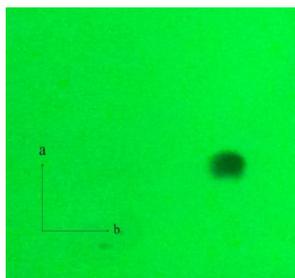
Dari hasil penampak bercak pada plat KLT preparatif, hanya pita 2 yang memberikan hasil positif alkaloid, sehingga pita 2 dikerok dan dilarutkan dalam metanol. Kemudian dibiarkan selama 24 jam, setelah itu disaring dan diuapkan. Selanjutnya dilakukan uji kemurnian terhadap isolat yang diperoleh. Terhadap isolat yang diperoleh dilakukan uji kemurnian dengan metode KLT pengembang tunggal dan KLT dua dimensi. KLT pengembang tunggal menggunakan fase gerak non polar (n-heksan:etil asetat, 8:2), semi polar (etil asetat) dan polar (metanol).

Dari ketiga bercak diperoleh bercak tunggal yang menyatakan bahwa isolat tersebut sudah murni. Kromatogram KLT pengembang tunggal dapat dilihat pada **Gambar 7**.



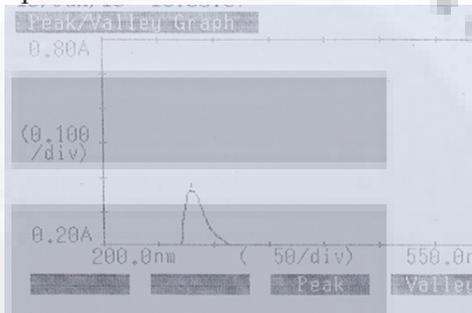
Gambar 7 Kromatogram pemantauan KLT pengembang tunggal (satu dimensi) dibawah lampu UV 254 nm [FD: silika gel GF₂₅₄, FG: campuran pelarut (a) n-heksan:etil asetat (8:2), (b) etil asetat 100%, (c) metanol 100%]

Untuk KLT dua dimensi fase gerak yang digunakan adalah campuran fase gerak yang bersifat kurang polar dan lebih polar. Kromatogram KLT dua dimensi dapat dilihat pada **Gambar 8**



Gambar 8 Kromatogram pemantauan KLT dua dimensi di bawah lampu UV 254 nm [FD: silika gel GF₂₅₄, FG: campuran pelarut (a) n-heksan:etil asetat (6:4), (b) n-heksan:etil asetat (4:6)]

Setelah diperoleh isolat murni selanjutnya dilakukan karakterisasi isolat dengan menggunakan spektrofotometer UV-sinar tampak dan spektrofotometer inframerah. Hasil karakterisasi isolat dengan spektrofotometer UV-sinar tampak diperoleh data bahwa isolat memberikan serapan 0,363 pada panjang gelombang maksimal 280 nm. Panjang gelombang maksimum lebih dari 250 nm menunjukkan bahwa senyawa memiliki ikatan rangkap terkonjugasi ataupun gugus kromofor. Hasil spektrofotometer UV-sinar tampak dapat dilihat pada **Gambar 9**



Gambar 9 Hasil spektrum UV-sinar tampak
Hasil karakterisasi dengan spektrofotometer inframerah dapat dilihat pada **Tabel**

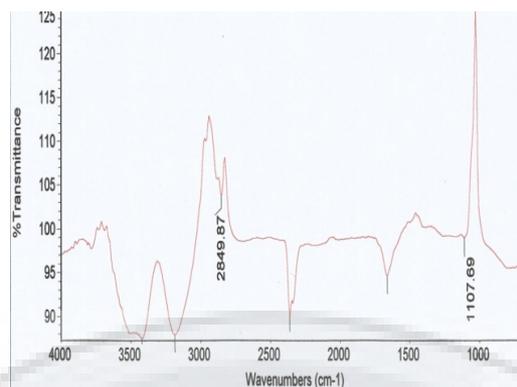
1.

Tabel 1 Karakteristik bilangan gelombang inframerah

No	Bilangan Gelombang		Pustaka
	Data Hasil Uji	Bilangan Gelombang	Tipe Senyawa
1	3420	3750-3000 *a	Regang N-H
		3400 (w) & 3500 (w)* b	Amina primer (N-H regang)
2	3184	3300-2900 *a	-C≡C-H, Ar-H (regang C-H)
3	2849	3000-2700 *a	CH ₃ -, CH ₂ -, (regang C-H)
4	2359	2400-2100 *a	Regang C=C, C≡N
5	1661	1580-1650 *b	Amina primer (N-H tekuk)
6	1107	1020-1250 *b	Amina 1°, 2°, 3° Alifatik

Keterangan : *a = Pustaka (Creswell dkk, 2005 : 79), b* = Pustaka (Shriner dkk, 2004 : 208-209)

Dari **Tabel 1** maka diketahui isolat memiliki karakteristik khas untuk amina pada bilangan gelombang 3420 (N-H regang), 1661 (N-H tekuk), serta 1107 (amina alifatik). Spektrum inframerah menunjukkan pula bilangan gelombang 3500, dimana bila menunjukkan dua pita pada 3400 dan 3500 menunjukkan golongan amina primer. Berdasarkan spektrum inframerah dapat disimpulkan bahwa isolat diketahui memiliki gugus amina primer alifatik. Hasil spektrum inframerah dapat dilihat pada **Gambar 10**.



Gambar 10 Hasil spektrum inframerah.

E. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan bahwa telah berhasil diisolasi senyawa alkaloid dengan gugus amina primer alifatik, yang bersifat netral atau basa lemah.

Daftar Pustaka

- Aniszewski, T. (2007). *Alkaloids – Secret of Life : Alkaloid Chemistry, Biological Significance, Application and Ecological Role*, Research and Teaching Laboratory of Applied Botany, Faculty of Biosciences University of Joensuu, Joensuu Finland.
- Astuti, I.P. dan Munawaroh, E. (2011). *Karakteristik Morfologi Daun Sirih Merah : Piper crocatum Ruiz & Pav dan Piper porphyrophyllum N.E.Br*, Koleksi Kebun Raya Bogor, *Berk. Penel. Hayati* Edisi Khusus 7A (83-85).
- Cordell, G.A. (1981). *Introduction to Alkaloids : A Biogenetic Approach*, A Willey Interscience Publication, New York.
- Creswell, C.J., Runquist, O.A., Campbell, M.M. (2005). *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. Terjemahan K. Padmawinata, Institut Teknologi Bandung Press, Bandung.
- Erviana, R., Purwono, S., Mustofa. (2011). *Active Compound Isolated from Red Betle (Piper crocatum Ruiz & Pav) Leaves Active Against Streptococcus mutans through its Inhibition Effect on Glucosyltransferase Activity*, *J Med Sci*, Vol 43 : 71-78.
- Fadhli, H., Teruna, H.Y., Christine, J. (2012). *Uji Toksisitas Ekstrak Kulit Batang Pulai Basung (Alstonia spatulata BL)*, *J. Ind.Che.Acta*, 3 (1) : Vol 3, number 1.
- Grycova, L., Dostal, J., Marek, R (2007). *Quarternary Protoberberine Alkaloids*, *Science Direct, Phytochemistry* 68 : 150-175.
- Hidayat, Taufik. (2013). *Sirih Merah Budidaya dan Pemanfaatan untuk Obat*, Pustaka Baru Press, Yogyakarta.
- Kakhia, T.I. (2012). *Alkaloids & Alkaloids Plants*, Adana University Industry Joint Research Center, Turkey.
- Prapti, U. dan Puspaningtyas, D.E. (2013). *The Miracles of Herbs*, Agromedia Pustaka, Jakarta.
- Roberts, M.F. and Wink, M. (1998). *Alkaloids : Biochemistry, Ecology, and Medical Applications*, Plenum Press, New York and London.