

# Standarisasi Spesifik dan Non Spesifik dari Ekstrak Etanol Daun dandang Gendis (*Clinacanthus nutans*)

Sumi Wijaya\*, Henry Kurnia Setiawan, Veronica Bella Purnama  
Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Standarisasi terhadap bahan alam diperlukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap obat yang berasal dari bahan alam. Daun Dandang gendis memiliki beberapa aktivitas farmakologi antara lain antioksidan, antikanker, antiinflamasi, analgesik, meningkatkan sistem imun, antibakteri, antibisa, bahkan terdapat pula penggunaan di bidang kosmetik. Pada penelitian ini akan dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis dari daun Dandang gendis dan standarisasi spesifik dan non spesifik pada ekstrak etanol daun Dandang gendis. Parameter yang diujikan pada ekstrak daun Dandang gendis meliputi identitas ekstrak, organoleptis, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, skrining fitokimia, profil kromatogram dengan menggunakan KLT, profil spektrum dengan menggunakan spektro UV, profil spektrum dengan menggunakan spektro IR (*Infrared spectroscopy*), penetapan kadar golongan metabolit sekunder, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tak larut asam, kadar air, pH, dan bobot jenis. Hasil penelitian menunjukkan karakteristik ekstrak etanol daun dandang gendis yang berupa ekstrak kental berwarna hijau kehitaman, berbau khas aromatik; kadar sari larut etanol >54%; kadar sari larut air >37%; hasil skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, steroid dan terpenoid; hasil analisis spektrofotometer IR menunjukkan profil spektrum pada rentang bilangan gelombang 3325-3351  $\text{cm}^{-1}$ , 2924-2919  $\text{cm}^{-1}$ , 1622 -1633  $\text{cm}^{-1}$ , 1341-1345  $\text{cm}^{-1}$  dan 1020-1047  $\text{cm}^{-1}$ ; kadar fenol total > 0,16%; kadar flavonoid total > 0,11%; kadar alkaloid total > 0,03%; kadar air <16%; kadar abu total <11%; kadar abu larut air <8%; kadar abu tidak larut asam <2%; bobot jenis 0,774 - 0,784  $\text{g/cm}^3$ ; pH ekstrak untuk air 5-6 dan 6-6,5 untuk etanol.

**Kata kunci:** *Clinacanthus nutans*, standarisasi, ekstrak

## Specific and Non-Specific Standardization of Ethanol Extract of Snake Grass Leaves (*Clinacanthus nutans*)

Standardization of natural materials is needed as an effort to improve the quality and safety of products that are expected to further increase trust in medicines derived from natural ingredients. Snake grass leaf has several pharmacological activities including antioxidants, anticancer, anti-inflammatory, analgesic, enhancing the immune system, antibacterial, antivenom, even there are also uses in the cosmetics field. In this study macroscopic and microscopic observation of Snake grass leaves and determination of specific and non-specific standardization on ethanol extracts of Snake grass leaves have been done. The parameters tested on Snake grass leaf extract include the identity of the extract, organoleptic, ethanol soluble extract, water soluble extract, phytochemical screening, chromatogram profile using TLC, spectrum profile using UV-Vis spectrophotometer, spectrum profile using IR (infrared) spectrophotometer, determination of secondary metabolite content, total ash content, water soluble ash content, acid insoluble ash content, water content, pH, and specific gravity. The results showed the characteristics of ethanol extract of Snake grass leaf in the form of green-black extract, aromatic distinctive odor; ethanol soluble extract content > 54%; water soluble extract content > 37%; phytochemical screening results showed the presence of alkaloid compounds, flavonoids, polyphenols, saponins, steroids and terpenoids; the results of IR spectrophotometer analysis show spectrum profiles in the range wave of numbers 3325-3351  $\text{cm}^{-1}$ , 2924-2919  $\text{cm}^{-1}$ , 1622 -1633  $\text{cm}^{-1}$ , 1341-1345  $\text{cm}^{-1}$  and 1020-1047  $\text{cm}^{-1}$ ; total phenol levels > 0.16%; total flavonoid levels > 0.11%; total alkaloid levels > 0.03%; water content <16%; total ash content <11%; water soluble ash content <8%; acid insoluble ash content < 2%; specific gravity 0,774 - 0,784  $\text{g/cm}^3$ , extract pH for water 5-6 and 6-6.5 for ethanol.

**Key words:** *Clinacanthus nutans*, standardization, extract

---

\*Corresponding author: Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya, Jl. Raya Kalisari Selatan No. 1 Surabaya, e-mail: [sumi@ukwms.ac.id](mailto:sumi@ukwms.ac.id)

---

## PENDAHULUAN

Bangsa Indonesia telah lama mengenal dan menggunakan sumber-sumber bahan alam sebagai salah satu alternative pengobatan. Pengetahuan mengenai penggunaan sumber-sumber bahan alam ini didasarkan pada pengalaman dan ketrampilan yang telah diwariskan turun temurun. Di Indonesia, dari hasil Survei Sosial Ekonomi Nasional (SUSENAS) dapat dilihat bahwa terjadi peningkatan penggunaan obat tradisional dari 19,8% menjadi 32,8% selama tahun 1980 sampai dengan 2004 (Menkes RI, 2007). Indonesia yang beriklim tropis merupakan Negara dengan keanekaragaman hayati terbesar kedua di dunia setelah Brazil. Indonesia memiliki sekitar 25000-30000 spesies tanaman yang merupakan 80% dari jenis tanaman di dunia dan 90 % dari jenis tanaman di Asia (Katno dan Pramono, 2002). Di Indonesia terdapat lebih kurang 30000 jenis tumbuh-tumbuhan, dimana 7500 jenis diantaranya termasuk tanaman berkhasiat obat (Menkes RI, 2007). Jumlah tanaman obat yang dimanfaatkan oleh masyarakat baru sekitar 1000 hingga 1200 jenis, dan yang digunakan secara rutin dalam industri obat tradisional baru sekitar 300 jenis.

Perkembangan obat tradisional cenderung mengalami peningkatan. Hal ini dapat dilihat dari jumlah industri obat tradisional. Pada tahun 2009 jumlah IKOT (Industri Kecil Obat Tradisional) yang terdaftar sebanyak 951 dan IOT (Industri Obat Tradisional) sebanyak 67. Pada tahun 2010 jumlah IKOT yang terdaftar meningkat menjadi 1152 dan IOT sebanyak 98 (Kemenkes RI, 2011). Seiring dengan peningkatan industri obat tradisional, jumlah produk obat tradisional juga semakin bertambah. Saat ini meskipun obat tradisional cukup banyak digunakan oleh masyarakat dalam usaha pengobatan sendiri (*self medication*), profesi kesehatan/dokter umumnya masih enggan untuk meresepkan ataupun menggunakannya. Hal tersebut berbeda dengan di beberapa negara tetangga seperti Cina, Korea, dan India yang mengintegrasikan cara dan pengobatan tradisional di dalam sistem pelayanan kesehatan formal. Alasan utama keengganan profesi kesehatan untuk meresepkan atau menggunakan obat tradisional karena bukti ilmiah mengenai khasiat dan keamanan obat tradisional pada manusia masih kurang. Obat tradisional Indonesia merupakan warisan budaya bangsa sehingga perlu digali, diteliti dan dikembangkan agar dapat digunakan lebih luas oleh masyarakat.

Faktor lain penyebab obat tradisional masih enggan diresepkan oleh dokter, karena belum semua tanaman obat yang ada telah terstandarisasi. Pustaka umum yang biasanya digunakan sebagai acuan untuk persyaratan standarisasi adalah *Materia Medika Indonesia* (Jilid I-VI) dan *Farmakope Herbal Indonesia* (Jilid I, II, suplemen I), dimana ke dalam 9 buku tersebut terdapat 341 tanaman obat yang telah

dilakukan standarisasi. Jumlah ini tentu saja tidak sebanding dengan jumlah tanaman obat yang telah digunakan dalam Industri Obat Tradisional. Standarisasi bahan baku dan obat jadi, pembuktian efek farmakologi dan informasi tingkat keamanan obat herbal merupakan tantangan bagi praktisi yang bergerak di bidang kesehatan agar obat herbal semakin dapat diterima oleh masyarakat luas. Standarisasi terhadap bahan baku obat, tidak hanya perlu dilakukan pada tanaman segar, namun juga harus dilakukan pada simplisia, dan pada hasil ekstraksi nya dari tanaman tersebut dengan menggunakan pelarut tertentu (alkohol dan air). Standarisasi yang dilakukan terhadap tanaman segar diperlukan untuk membuktikan identitas tanaman obat yang digunakan berdasarkan morfologi dan anatomi tanaman obat tersebut.

Standarisasi simplisia (bahan baku obat yang belum mengalami pengolahan, apabila tidak dinyatakan lain hanya mengalami proses pengeringan) dibutuhkan karena kandungan kimia tanaman obat sangat bervariasi tergantung banyak faktor seperti telah dikemukakan sebelumnya. Standarisasi simplisia diperlukan untuk mendapatkan efek yang dapat diulang (*reproducible*). Kandungan kimia yang dapat digunakan sebagai standar adalah kandungan kimia yang berkhasiat, atau kandungan kimia yang hanya sebagai petanda (*marker*), atau yang memiliki sidik jari (*fingerprint*) pada kromatogram. Untuk mendapatkan simplisia dengan mutu standar diperlukan pembudidayaan dalam kondisi standar. Standarisasi terhadap ekstrak, yang juga digunakan sebagai salah satu bahan baku obat juga perlu dilakukan mengingat metode ekstraksi dan pelarut yang digunakan pada proses ekstraksi juga dapat mempengaruhi mutu dan keamanan ekstrak yang dihasilkan. Standarisasi sendiri adalah serangkaian parameter, prosedur dan cara pengukuran yang hasilnya merupakan unsur-unsur terkait seperti paradigma mutu yang memenuhi standar dan jaminan stabilitas produk (Badan POM, 2005). Standarisasi dilakukan sebagai upaya peningkatan mutu dan keamanan produk yang diharapkan dapat lebih meningkatkan kepercayaan terhadap obat yang berasal dari bahan alam. Standarisasi bahan obat meliputi bahan awal, bahan antara atau bahan produk jadi. Tumbuhan sebagai bahan awal dianalogikan dengan komoditi bahan baku yang dengan teknologi fitofarmasi diproses menjadi produk jadi.

Pada penelitian ini akan dilakukan standarisasi terhadap tanaman obat yang telah digunakan dalam pengobatan tradisional dan dikembangkan menjadi produk obat tradisional, namun belum ada penelitian mengenai standarisasi dari tanaman tersebut. Tanaman tersebut adalah daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans*). Tanaman dari familia *Acanthaceae* ini tergolong sebagai perdu. Batangnya tegak dengan tinggi kurang lebih 2,5

meter, dan memiliki daun tunggal berhadapan (Bangun, 2012). Penelitian menunjukkan bahwa daun Dandang gendis memiliki beberapa aktivitas farmakologi antara lain antioksidan, antikanker, antiinflamasi, analgesik, meningkatkan sistem imun, antibakteri, antivirus (VZV, HSV-1, HSV-2, HSV-2 (*strain G*) dan HSV-1F), antibisa (kalajengking), bahkan terdapat pula penggunaan di bidang kosmetik (Farsi *et al.*, 2016). Berdasarkan studi literatur daun Dandang gendis mengandung beberapa senyawa fitokimia penting yaitu stigmasterol, lupeol, *b*-sitosterol, belutin, dan mirisil alkohol (Alam *et al.*, 2016).

Huang *et al* (2015), meneliti tentang aktivitas antitumor dan immunomodulator dari ekstrak etanol *Clinacanthus nutans* 30% (CN30), dalam konteks mengenai kemampuannya dalam menghambat hepatoma pada mencit. Dalam penelitian ini sel tumor HepA ditumbuhkan pada mencit donor dan ditransplantasikan secara subkutan pada aksila mencit ICR. Mencit ini lalu digolongkan secara acak menjadi 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol positif yaitu perlakuan dengan fluoroacil (20mg/kg), perlakuan dengan CN30 3 mg/kg, dan perlakuan dengan CN30 10 mg/kg, serta perlakuan kontrol negatif. Setelah mencit dimatikan, hepar mencit dipisahkan, difoto, ditimbang, dan dicek menggunakan pewarnaan hematoxylin-eosin (H & E). Hasilnya terdapat perbedaan signifikan antara kelompok kontrol dan kelompok perlakuan. Melalui penelitian ini dapat disimpulkan bahwa daun Dandang gendis memiliki potensi sebagai antitumor (Huang *et al.*, 2015). Penelitian lain dilakukan oleh Yuan *et al.* (2012) dengan tujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan efek protektif ekstrak etanol (70%). Dandang gendis dengan konsentrasi 20% terhadap integritas plasmid DNA (*E.coli*). Pada penelitian ini menunjukkan bahwa retensi integritas plasmid DNA *super-coiled* yang diberi perlakuan ekstrak Dandang gendis lebih baik daripada yang diberi perlakuan ekstrak teh hijau (Yuan *et al.*, 2012).

Penelitian-penelitian diatas membuktikan bahwa daun Dandang gendis memiliki potensi sebagai antitumor dan antioksidan. Studi literatur yang dilakukan peneliti menunjukkan bahwa belum ada acuan dan penelitian tentang standarisasi ekstrak etanol daun Dandang gendis, maka perlu dilakukan penelitian tentang standarisasi ekstrak etanol daun Dandang gendis sehingga diharapkan produk yang berasal dari tanaman ini memiliki mutu, khasiat, dan keamanan yang terjamin. Daun Dandang gendis yang akan di standarisasi diperoleh dari tiga lokasi berbeda yaitu Blitar, Batu, dan Pasuruan. Tujuan pengumpulan bahan dari tiga lokasi adalah adanya faktor biologis seperti unsur tanah, waktu panen, cara panen, dan lingkungan tempat tumbuh yang dapat mempengaruhi secara kuantitatif kandungan kimia bahan aktif dari tanaman (DitjenPOM RI, 2000). Pada penelitian ini akan dilakukan pengamatan makroskopis dan mikroskopis dari daun Dandang gendis dan

standarisasi spesifik dan non spesifik pada ekstrak etanol daun Dandang gendis. Parameter yang diujikan pada ekstrak daun Dandang gendis meliputi identitas ekstrak, organoleptis, kadar sari larut etanol, kadar sari larut air, skrining fitokimia, profil kromatogram dengan menggunakan KLT, profil spektrum dengan menggunakan spektro UV, profil spektrum dengan menggunakan spektro IR (*Infrared spectroscopy*), penetapan kadar golongan metabolit sekunder, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tak larut asam, kadar air, pH, dan bobot jenis.

## METODE PENELITIAN

### Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain: batang pengaduk, pipet tetes, mikroskop, kaca obyek dan penutup, waterbath, kertas perkamen, mikro pipet, membran filter "Whatman" 0,4 mm, chamber, pipa kapiler 2 µl, plat silica gel gel 60 F254 (E-Merck), IR moisture balance (Kett, Germany), oven (Mettler, Germany), timbangan analitik (Sartorius, Germany), corong pisah (Pyrex, Germany), satu set bejana kromatografi lapis tipis (Camag), tabung reaksi (Pyrex, Germany), cawan porselen, gelas ukur (Pyrex, Germany), beaker gelas (Pyrex, Germany), spektrofotometer UV-Vis tipe UV1201 (Shimadzu, Japan), Lampu UV 254 nm dan UV 366 nm (Camag, Switzerland), pH meter dan spektrofotometri infrared UATR (Perkin Elmer Spektrum Two, Chalfont).

### Bahan

Bahan tanaman yang digunakan dalam penelitian ini berupa tanaman kering daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) yang didapatkan dari Blitar, Batu, dan Pasuruan. Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini antara aquadest, etanol 96% v/v (PT. Brataco Chemika, Indonesia), etil asetat (PT. Brataco Chemika, Indonesia), kloroform (PT. Brataco Chemika, Indonesia), metanol p.a (PT. Brataco Chemika Indonesia), kloralhidrat, floroglusin HCl, Besi (II) klorida, asam klorida (PT. Brataco Chemika Indonesia), asam klorida pekat, magnesium, silika gel F254 (E. Merck, Germany), n-heksan, aceton, aluminium klorida (PT. Brataco Chemika, Indonesia), kertas saring, larutan ammonia, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> pekat, asam anhidrida, reagen dragendorf, dan reagen mayer.

### Jenis Penelitian

Penelitian ini menggunakan jenis penelitian deskriptif yaitu rancangan penelitian yang sederhana berupa sampling survey dan merupakan jenis penelitian non-eksperimental. Oleh karena itu, rancangan ini tidak membutuhkan kelompok kontrol dan hipotesis yang spesifik. Penelitian ini menggunakan pendekatan *cross sectional* yang dilakukan secara murni untuk mengadakan deskripsi tanpa dilakukan analisis yang mendalam. Dalam

penelitian ini digunakan variabel terkendali antara lain : jenis tanaman, bagian tanaman yang digunakan, waktu pemanenan, metode standarisasi, cara ekstraksi, jenis pelarut dan macam-macam alat yang digunakan.

### Tahapan Penelitian

#### Penyiapan Bahan

Bahan segar yang diamati adalah daun Dandang gendis yang didapat dari daerah Surabaya. Daun Dandang gendis diamati secara makroskopis dan mikroskopis. Pengamatan secara makroskopis dengan mengamati ciri-ciri pada seluruh daun Dandang gendis. Pengamatan daun dengan meliputi letak duduk daun, bentuk daun, ujung daun, bawah daun, tepi daun, warna daun, pertulangan daun, ukuran daun dan tekstur daun. Pengamatan mikroskopis daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* Lindau) dilakukan menggunakan daun Dandang gendis di dalam media air dan penambahan kloralhidrat untuk mengetahui jaringan penyusun serta keberadaan kristal dalam tanaman tersebut, setelah itu dilakukan penambahan floroglusin HCl untuk mengetahui jaringan berkas pembuluh serta yang mengandung zat lignin akan memberikan warna merah.

#### Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Dandang gendis

Simplisia kering daun Dandang gendis didapat dari Blitar, Batu dan Pasuruan. Masing-masing simplisia kering tersebut digiling menggunakan mesin penggiling dan diayak menggunakan ayakan No. 20. Serbuk simplisia dari Blitar, Batu, dan Pasuruan masing-masing ditimbang sebanyak 250 gram dimasukkan ke dalam wadah, lalu ditambahkan 500 ml etanol 96% dan diekstraksi dengan menggunakan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan cara memasukkan serbuk simplisia ke dalam wadah, ditutup dan dibiarkan selama satu hari terlindung dari cahaya sambil diaduk, kemudian disaring sehingga di dapat maserat. Ampas diremaserasi dengan etanol 96% menggunakan prosedur yang sama, maserasi dilakukan sampai diperoleh maserat yang jernih. Semua maserat etanol digabungkan dan diuapkan dengan menggunakan penangas air, lalu diperoleh ekstrak etanol kental daun Dandang gendis lalu dihitung randemennya (Voight, 1995). Proses ekstraksi dilakukan dengan replikasi 3 kali dan hasil dinyatakan dalam rendemen hasil (% b/b)  $\pm$  SD.

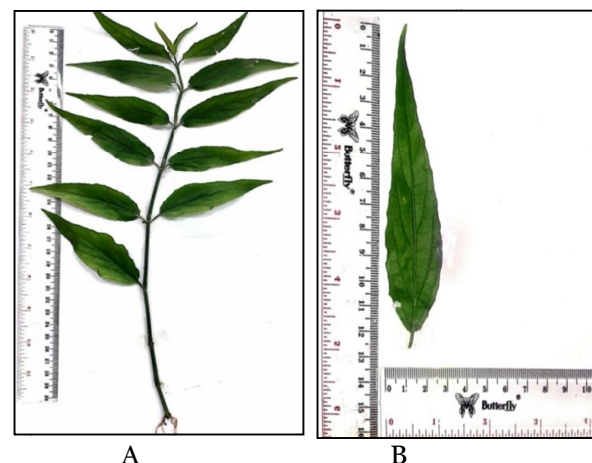
#### Standarisasi spesifik dan non spesifik

Standarisasi spesifik yang dilakukan meliputi pengamatan identitas, pengamatan organoleptis, kadar sari larut air, kadar sari larut etanol, skrining fitokimia, profil kromatogram dengan menggunakan kromato-

grafi lapis tipis, profil spektrum dengan menggunakan spektrofotometer UV dan spektrofotometri IR-UATR serta penetapan kadar metabolit sekunder. Pada penetapan kromatogram dengan kromatografi lapis tipis, kondisi yang digunakan adalah fase diam silika gel F254, eluen: etil asetat : asam format : asam asetat : air (100 : 11 : 11 : 7) (Chelyn *et al.*, 2014); butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) (Huang *et al.*, 2015); n-heksan : etil asetat (70 : 30) (Arullappan *et al.*, 2014); dan toluen : kloroform : etil asetat (4 : 4 : 1) (Aslam, Ahmad, and Mamat, 2016), jumlah sampel yang ditotolkan sebanyak 10  $\mu$ l (1 g dalam 10 mL), penampak bercak vanilin sulfat, pengamatan dilakukan secara visible, sinar ultraviolet pada panjang gelombang 254 dan 366 nm (DepKes RI, 1989). Parameter non spesifik yang dilakukan meliputi kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tak larut asam, kadar air, pH dan bobot jenis (DitjenPOM RI, 2000).

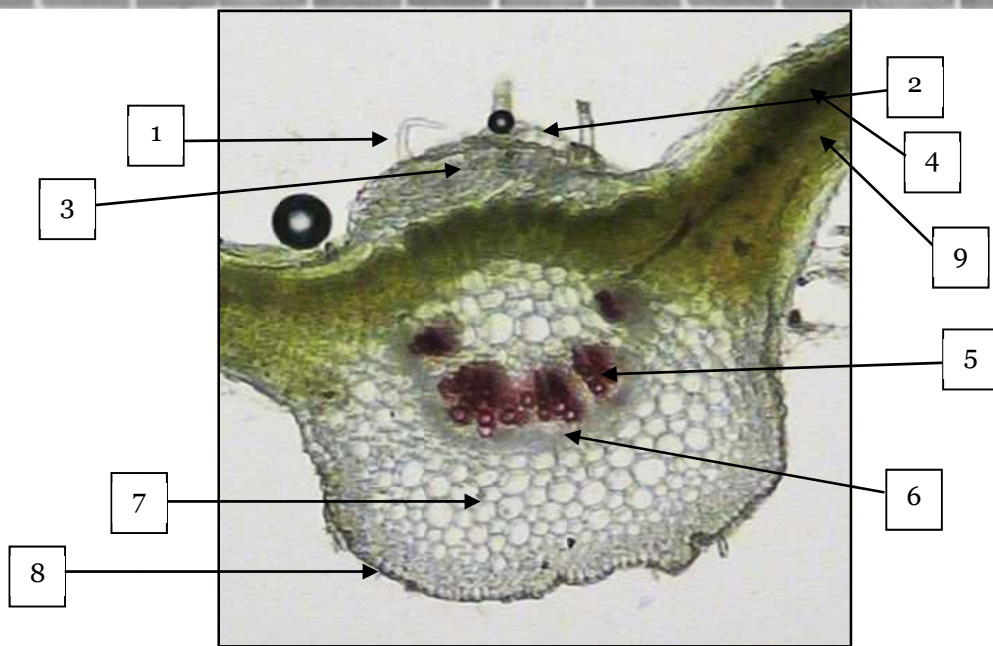
### HASIL DAN PEMBAHASAN

Pengamatan makroskopis pada daun Dandang gendis segar menunjukkan morfologi daun dengan panjang 3,4–8,9 cm dan diameter 0,8-3 cm, bentuk daun lanset dengan warna daun hijau tua, ujung dan pangkal daun runcing, tepi bertoreh - bergigi lemah, tekstur permukaan kesat, tulang daun menyirip, dan jenis daun tunggal dengan filotaksis berhadapan (Gambar 1). Hasil pengamatan anatomi daun Dandang gendis, menunjukkan berkas pembuluh bertipe kolateral terbuka, tipe daun dorsiventral dimana jaringan palisade hanya terdapat pada satu sisi saja (Gambar 2). Derivat epidermis yang dimiliki oleh daun Dandang gendis adalah stomata tipe diasitik yaitu stomata yang memiliki dua sel tetangga dengan bidang persekutuan tegak lurus terhadap celah, trikoma multiseluler non glanduler, sisik kelenjar tipe labiatae, dan sistolit (Gambar 3).



**Gambar 1.** Dandang gendis (*Clinacanthus nutans*).

Keterangan: A: Tanaman Dandang gendis; B: Daun Dandang gendis



**Gambar 2.** Penampang melintang daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) dalam media Kloralhidrat dan Floroglucin HCl dengan perbesaran 42,3 x 10.

Keterangan : 1.Trikoma multiseluler glanduler; 2.Epidermis atas; 3.Kolenkim;4.Palisade; 5.Xylem; 6.Floem; 7.Parenkim; 8.Epidermis bawah; 9.Jaringan bunga karang



**Gambar 3.** Derivat epidermis daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) dalam media air pada perbesaran 4,23 x 40

Keterangan: 1.Stomata tipe anomositik; 2.Sisik kelenjar tipe Labiatae; 3.Trikoma multiseluler glanduler; 4.Sistolit; Pengamatan dilakukan dalam media air

Simplisia daun Dandang gendis didapatkan dari tiga lokasi yang berbeda yaitu dari Blitar yang terletak pada ketinggian 156 meter di atas permukaan laut, suhu rata-rata 8-30°C, kelembaban udara sekitar 74-77% dan curah hujan 3-26 mm per tahun. Sedangkan daerah Batu terletak pada ketinggian ±875 meter di atas permukaan laut dengan suhu rata-rata 20-25°C, kelembaban udara sekitar 89-94% dan curah hujan antara 34-517 mm. Pasuruan terletak pada ketinggian 0-1000 meter di atas permukaan laut, curah hujan rata-rata 3,8-26,1 mm per tahun, kelembaban 74-94% dengan suhu rata-rata 22,2-24,5°C. Pemilihan ketiga daerah yang berbeda

dikarenakan adanya pertimbangan faktor biologi yaitu tempat tumbuh tanaman. Perbedaan tempat tumbuh tanaman, dipengaruhi oleh faktor iklim, suhu, ketinggian, dan curah hujan, sehingga secara tidak langsung dapat mempengaruhi kualitas serta mutu simplisia yang dihasilkan, terutama pada kadar kuantitatif bahan aktif.

Metode ekstraksi yang digunakan adalah maserasi dimana bahan tumbuhan direndam menggunakan pelarut selama kurun waktu tertentu (setidaknya 72 jam) (Badal and Delgoda, 2017). Teknik maserasi dipilih karena dianggap lebih praktis, efisien, serta cocok untuk skala kecil maupun industri. Pelarut yang digunakan untuk ekstraksi adalah etanol 96%. Pelarut etanol dipilih karena termasuk alkohol alifatik yang terdiri kurang dari 3 atom karbon, sehingga merupakan pelarut dengan daya ekstraksi terbesar (tertinggi) untuk semua bahan alam berbobot molekul rendah seperti alkaloid, saponin, dan flavonoid, tetapi dapat juga digunakan untuk ekstraksi tanaman yang bahan aktifnya belum diketahui dengan baik (Agoes, 2009).

Hasil rendemen dari ketiga daerah tersebut dengan penimbangan awal serbuk simplisia daun Dandang gendis 350 gram dengan menggunakan pelarut etanol 96% masing-masing sebanyak 1000 ml adalah 8,387% untuk daerah Blitar, 9,104% untuk daerah Batu, dan 8,266% untuk daerah Pasuruan. Hasil rendemen yang paling banyak didapatkan dari daerah Batu, kemudian Blitar, dan Pasuruan. Berdasarkan pada data curah hujan pertahun diketahui curah hujan di daerah Batu memiliki curah hujan tertinggi dibanding dua daerah yang lain. Berdasarkan pada penelitian Erizilina, Pamoengkas dan Darwo (2018) menunjukkan ketercukupan pasokan air

akan mendukung pertumbuhan tanaman, sehingga dapat mempengaruhi rendemen hasil ekstraksi. Namun, hal ini tidak berlaku untuk semua jenis tanaman, dikarenakan tiap jenis tanaman memiliki respon yang spesifik terhadap kadar sifat tanah tertentu, dimana tinggi rendahnya curah hujan memiliki pengaruh yang berbeda-beda pada kadar sifat tanah.

Penentuan parameter kualitas ekstrak melalui standarisasi yang meliputi standarisasi parameter spesifik dan parameter non-spesifik (Tabel 1). Standarisasi spesifik meliputi identitas, organoleptis, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu (kadar sari larut air dan kadar sari larut etanol), skrining fitokimia, penetapan profil kromatogram dengan kromatografi lapis tipis (KLT), penetapan profil spektrum dengan spektrofotometer infrared (IR) dan spektrofotometri UV-Vis serta penetapan kadar senyawa metabolit sekunder dengan metode spektrofotometri UV-Vis. Parameter identitas ekstrak bertujuan untuk memberikan identitas obyektif dari nama dan senyawa spesifik yang dikandung oleh ekstrak etanol daun Dandang gendis. Pengamatan organoleptis sebagai uji pendahuluan, bertujuan memberikan pengenalan awal ekstrak secara obyektif dan sederhana dengan memanfaatkan panca indra. Hasil pemeriksaan organoleptis dari ekstrak etanol daun Dandang gendis yaitu warna hitam kehijauan, bau khas aromatik dan berkonsistensi kental. Penetapan kadar sari larut prinsipnya melarutkan ekstrak dengan pelarut (alkohol atau air) untuk menentukan jumlah solut yang identik dengan jumlah senyawa kandungan secara gravimetri. Tujuannya untuk memberikan gambaran awal jumlah kandungan yang terlarut dalam pelarut tertentu seperti air dan etanol. Berdasarkan hasil pengamatan diperoleh kadar sari larut etanol ekstrak dari masing-masing daerah yaitu 68,969%  $\pm$  0,112 untuk daerah Blitar, 54,772%  $\pm$  0,223 untuk daerah Batu dan 63,939%  $\pm$  0,188 untuk daerah Pasuruan, sehingga dapat dinyatakan untuk penetapan kadar sari larut etanol ekstrak daun Dandang gendis yaitu >54%. Disisi lain hasil penetapan kadar sari larut air ekstrak dari masing-masing daerah yaitu 47,909%  $\pm$  0,075 untuk daerah Blitar, 37,704%  $\pm$  0,030 untuk daerah Batu dan 42,657%  $\pm$  0,060 untuk daerah Pasuruan, maka berdasarkan hasil pengamatan dapat ditetapkan kadar sari larut air ekstrak daun Dandang gendis yaitu >37%. Dari data diatas dapat ditarik kesimpulan bahwa kadar sari larut etanol lebih besar daripada kadar sari larut air, dengan kata lain prosentase senyawa lebih banyak terlarut pada etanol daripada air, hal ini terjadi karena ekstrak yang didapatkan berasal dari proses ekstraksi menggunakan pelarut etanol. Bila dibandingkan dengan rendemen hasil, kadar sari larut etanol dari ketiga daerah tidaklah linier, di mana daerah Batu yang memiliki rendemen hasil tertinggi justru memiliki kadar sari larut etanol terendah dibanding kedua daerah lainnya. Berdasarkan penelitian Nihayati, dkk. (2013),

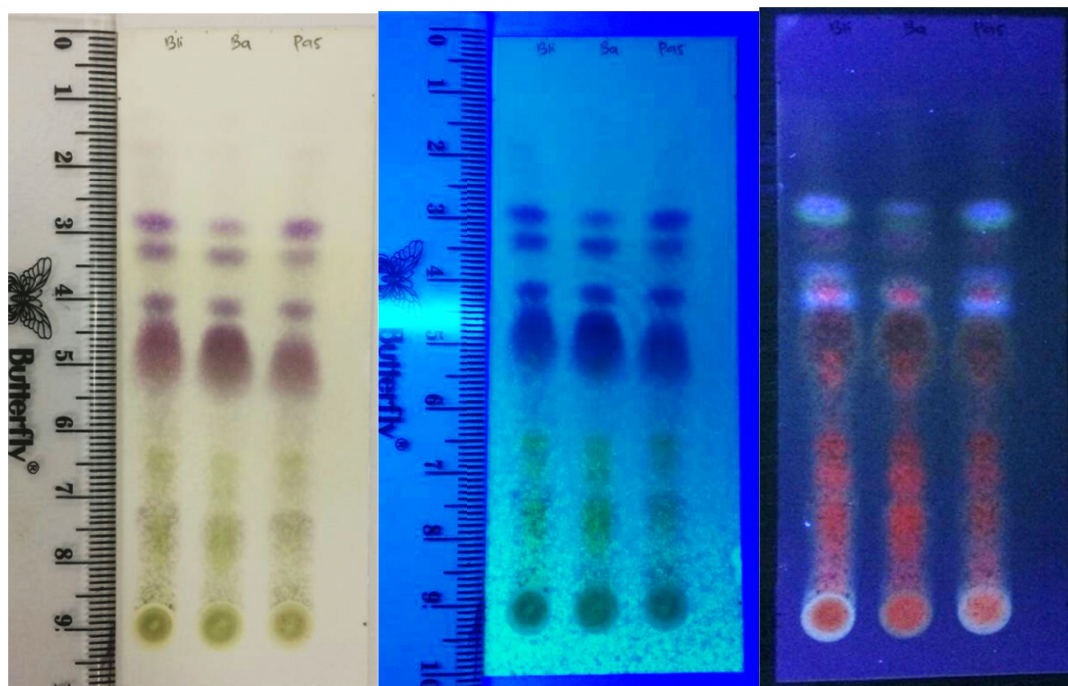
menunjukkan bahwa terdapat hubungan antara hasil rimpang dengan curah hujan, dimana bobot kering rimpang akan meningkat pada saat curah hujan tinggi (musim hujan) dan terjadi penurunan pada kondisi curah hujan rendah (musim kemarau), dimana penetapan kadar air dari sampel relative tertinggi pada daerah dengan curah hujan tinggi namun kadar sari larut dari bahan aktif justru akan lebih rendah.

Skrining fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun Dandang gendis bertujuan untuk mengetahui jenis golongan senyawa yang terdapat pada ekstrak. Hasil pengamatan pada skrining tabung menunjukkan bahwa ekstrak dari ketiga daerah memiliki senyawa metabolit yang sama yaitu polifenol, terlihat pada warna larutan yang berubah menjadi hijau kehitaman, hal ini terjadi akibat gugus O pada polifenol bereaksi dengan atom Fe<sup>3+</sup> pada pereaksi FeCl<sub>3</sub>. Pada uji flavonoid, didapati hasil positif pada pereaksi AlCl<sub>3</sub>, yaitu larutan berwarna kekuningan. Pada uji saponin terdapat hasil positif pada daerah Blitar saja. Pada uji alkaloid didapatkan hasil positif untuk ketiga daerah, namun hal ini hanya terjadi pada pereaksi Dragendorff saja, sedangkan pada pereaksi Mayer didapatkan hasil negatif. Hal ini mungkin terjadi karena alkaloid yang dikandung merupakan jenis alkaloid non-heterosiklik, yang kebanyakan tidak bereaksi dengan beberapa pereaksi pengendap. Hasil yang didapatkan pada skrining tabung ini hanya digunakan sebagai informasi pendahuluan dan tidak dapat dipercaya mutlak sebagai patokan dikarenakan metode skrining tabung memiliki kelemahan yaitu membutuhkan jumlah zat tertentu agar metabolit sekunder dapat terdeteksi (Fransworth, 1966; Harborne, 1987).

Pengujian identifikasi profil kromatografi lapis tipis dilakukan terhadap ekstrak etanol daun Dandang gendis dengan melakukan percobaan menggunakan berbagai macam fase gerak. Tujuannya adalah untuk mencari fase gerak dengan keterpisahan terbaik, sehingga dapat memberikan gambaran awal komposisi kandungan kimia berdasarkan pola kromatogram yang dihasilkan dari elusi beberapa fase gerak. Pemilihan fase gerak didasarkan pada polaritas. Fase gerak yang digunakan etil asetat : asam format : asam asetat : air (100:11:11:7), butanol : asam asetat : air (4:1:5), n-heksan : etil asetat (70:30), dan toluen : kloroform : etil asetat (4:4:1). Larutan sampel dengan konsentrasi 10% ditotolkan sebanyak 10  $\mu$ l, pengamatan hasil KLT dilakukan baik secara visual maupun lampu UV 254 nm dan UV 366 nm. Dari hasil elusi (Gambar 4), fase gerak yang memunculkan paling banyak noda dan keterpisahannya baik adalah fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3), sehingga fase gerak yang dapat disarankan adalah n-heksan-etil asetat (7:3). Pada beberapa fase gerak terjadi tailing yang terjadi karena ketidakseuaian polaritas larutan pengembang dengan metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman. Perbedaan profil kromatogram dari tiap daerah

disebabkan karena perbedaan lokasi tumbuh. Lokasi tumbuh dapat dipengaruhi oleh suhu, iklim, curah hujan dan ketinggian sehingga dapat mempengaruhi komposisi kandungan kimia dari tiap daerah. Nilai Rf yang berbeda-beda tergant-

tung pada noda-noda yang tampak, karena noda-noda yang tampak pada KLT memiliki jarak masing-masing yang tidak akan sama dengan jarak noda yang lain.



**Gambar 4.** Hasil KLT ekstrak daun Dandang gendis dengan fase gerak *n*-heksan : etil asetat (7:3) menggunakan penampak bercak Vanillin Sulfat.

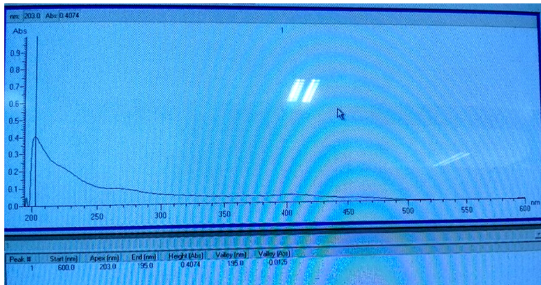
Keterangan: Ekstrak etanol daun Dandang gendis dari daerah Blitar (a), Batu (b), Pasuruan (c), pengamatan setelah disemprot menggunakan penampak bercak Vanillin Sulfat pada pengamatan visual (1), UV 254 nm (2), dan 366 nm (3).

Penetapan profil menggunakan spektrofotometri UV bertujuan untuk mengetahui gambaran awal kandungan metabolit dalam ekstrak yang diinterpretasikan melalui bentuk spektrum, dan absorbansinya. Hasil analisis spektrum serapan menunjukkan bentuk yang mirip satu sama lain, hal ini menunjukkan kandungan metabolit sekunder yang hampir seragam. Namun di sisi lain, absorbansi spektrum yang diberikan oleh masing-masing daerah sedikit berbeda, menunjukkan kadar kuantitatif dari metabolit sekunder masing-masing daerah akan berbeda satu sama lain (Gambar 5).

Penetapan kadar flavonoid, fenol dan alkaloid dari ekstrak daun Dandang gendis dilakukan dengan metode kolorimetri. Penentuan kadar fenol ekstrak etanol daun Dandang gendis dilakukan dengan menggunakan pereaksi *Follin Ciocalteau* dan  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ . Perbandingan yang digunakan adalah Asam Gallat, dari hasil perhitungan didapatkan nilai korelasi dengan harga *r* hitung (0,9779). Kadar fenol ekstrak etanol daun Dandang gendis dapat dihitung berdasarkan nilai absorbansi sampel dimasukkan dalam persamaan baku standar  $y=0,0052x+0,0754$  maka didapatkan kadar untuk Blitar 0,2986%, untuk Batu 0,1579%, dan untuk Pasuruan 0,2120%, sehingga ditarik kesimpulan kadar total fenol pada ekstrak etanol daun

Dandang gendis adalah >0,1%. Kadar fenol terbesar ada pada daerah Blitar, hal ini sesuai dengan hasil spektrum infrared daerah Blitar yang memiliki intensitas kuat pada gugus OH dan C=C serta hasil kromatografi lapis tipis dengan penyemprotan penampak bercak  $\text{FeCl}_3$  menunjukkan intensitas warna hitam yang kuat pada daerah Blitar dibanding kedua daerah lainnya. Penetapan kadar flavonoid menggunakan metode kolorimetri dengan  $\text{AlCl}_3$ . Baku yang digunakan adalah kuersetin. Nilai absorbansi yang diperoleh kemudian dimasukkan kedalam persamaan baku standar kuersetin  $y=0,0100x+0,0023$  dengan harga *r* hitung 0,9939 didapat kadar flavonoid sebesar 0,1144% untuk daerah Blitar 0,1326% untuk daerah Batu, dan 0,1425% untuk daerah Pasuruan, sehingga kadar flavonoid pada ekstrak daun Dandang gendis didapatkan nilai >0,1%. Pada pengamatan ini didapatkan hasil kadar flavonoid terbesar pada daerah Pasuruan. Pernyataan ini didukung dengan hasil spektrum infrared yang mengarah pada gugus C-O, dimana daerah Pasuruan memiliki intensitas yang paling kuat serta hasil kromatografi lapis tipis dengan penyemprotan penampak bercak  $\text{AlCl}_3$  menunjukkan intensitas warna kuning yang kuat pada daerah Pasuruan dibanding kedua daerah lainnya. Penentuan kadar alkaloid ekstrak daun Dandang gendis dilakukan dengan pereaksi

*Bromocresol green*. Pembandingan yang digunakan adalah kafein dan didapatkan nilai korelasi dengan harga  $r$  hitung (0,9860). Kadar alkaloid ekstrak daun Dandang gendis dapat dihitung berdasarkan nilai absorbansi sampel dimasukkan dalam persamaan baku standar  $y=0,0076x+0,0187$  maka didapatkan kadar untuk Blitar 0,0667%, Batu 0,0350% dan untuk Pasuruan 0,0649%. Kadar alkaloid total pada ekstrak daun Dandang gendis disimpulkan  $>0,03\%$ . Hasil penetapan kadar alkaloid didapatkan hasil terbesar pada daerah Pasuruan. Hal ini didukung dengan hasil spektrum infrared yang mengarah pada gugus C-N dan C-H (alifatis) yang intensitasnya didominasi oleh ekstrak dari Pasuruan serta hasil kromatografi lapis tipis dengan penyemprotan penampak bercak Dragendorff menunjukkan intensitas warna orange yang kuat pada daerah Pasuruan dibanding kedua daerah lainnya.



**Gambar 5.** Profil spektrum menggunakan Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometer infrared merupakan alat untuk mengukur serapan radiasi infra merah pada berbagai bilangan gelombang. Pengamatan menggunakan spektrofotometer infra merah bertujuan untuk menetapkan profil spektrum dari daun Dandang gendis dan membandingkan hasil spektrum daun Dandang gendis yang berasal dari tiga daerah berbeda tersebut. Hasil analisis spektrum infra merah (Gambar 6) ekstrak etanol daun Dandang gendis dari ketiga daerah menunjukkan spektrum yang sama. Hasil spektrum infra red dapat dilihat pada tabel. Hasil spektrum ketiganya dibandingkan dan menunjukkan adanya perbedaan kekuatan intensitas pita absorbansinya. Berdasarkan hasil analisis spektrum infrared dari ketiga daerah menunjukkan adanya gugus C-N, C=C, C-H (Alkaloid), C-O, C=C, C-H (Flavonoid), O-H, C=C (Fenol), C-O, C-H (Steroid).

Standarisasi non spesifik meliputi kadar air, kadar abu total, kadar abu larut air, kadar abu tidak larut asam, bobot jenis dan pH. Penetapan kadar air dilakukan untuk menetapkan residu setelah proses pengentalan. Dalam penelitian ini metode penetapan kadar air menggunakan metode gravimetri. Hasil penetapan kadar air ekstrak etanol daun Dandang gendis adalah 14,006% untuk daerah Blitar, 15,621% untuk daerah Batu dan 13,825% untuk daerah Pasuruan. Berdasarkan hasil yang didapat kadar air ekstrak

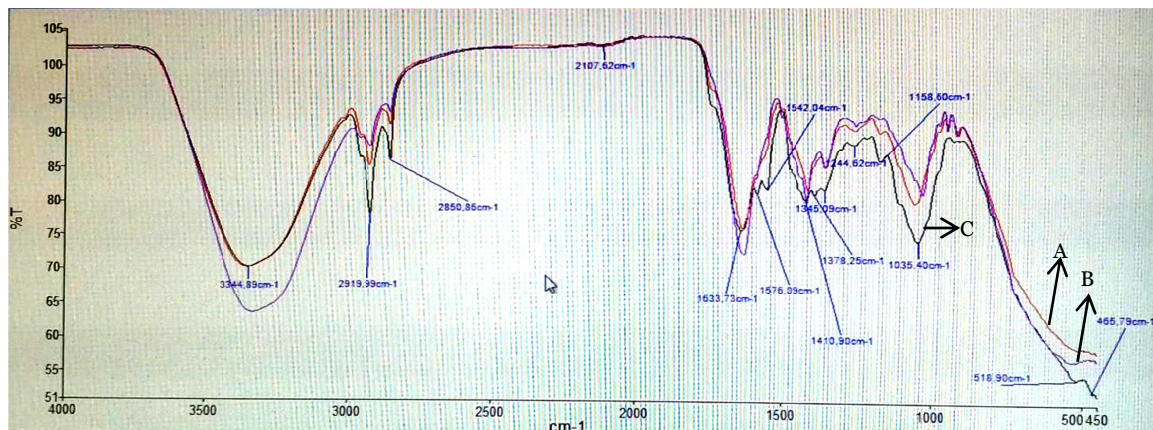
etanol daun Dandang gendis dapat dinyatakan  $<16\%$ . Hasil kadar air yang didapatkan relative besar, bila dibandingkan dengan persyaratan dari kadar air secara umum ( $<10\%$ ). Hasil yang didapat ini dikarenakan metode yang digunakan adalah metode termogravimetri, dimana metode ini tidak bisa menggambarkan kondisi kadar air yang sebenarnya terlebih jika sampel banyak mengandung minyak atsiri. Berdasarkan pada hasil penelitian Cheong, Ho and Wong (2013) dengan menggunakan kromatografi gas – spektrofotometri massa menunjukkan daun Dandang gendis memiliki triterpenoid dan fitosterol dengan jenis yang beragam.

Kadar abu total merupakan bahan yang dipanaskan pada temperatur dimana senyawa organik dan turunannya terdestruksi dan menguap, sehingga hanya tertinggal unsur mineral dan anorganik. Parameter ini bertujuan untuk memberikan gambaran kandungan mineral internal dan eksternal yang berasal dari proses awal sampai terbentuknya ekstrak (Ditjen POM RI, 2000). Kadar abu total pada ekstrak Dandang gendis mengindikasikan bahwa ekstrak etanol yang diperoleh dengan cara maserasi mengandung mineral dengan kadar tertentu. Hasil standarisasi kadar abu total ekstrak etanol daun Dandang gendis 9,951% untuk daerah Blitar, 6,396% untuk daerah Batu, dan 10,116% untuk daerah Pasuruan, sehingga dapat dinyatakan untuk penetapan kadar abu total ekstrak etanol daun Dandang gendis yaitu  $<11\%$ . Pengamatan dilanjutkan dengan penetapan kadar abu tidak larut asam dan kadar abu larut air. Kadar abu tidak larut asam menunjukkan jumlah silikat yang berasal dari pasir atau tanah. Hasil standarisasi kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun Dandang gendis yaitu 1,024% untuk daerah Blitar, 0,695% untuk daerah Batu dan 0,967% untuk daerah Pasuruan, sehingga dapat dinyatakan untuk penetapan kadar abu tidak larut asam ekstrak etanol daun Dandang gendis yaitu  $<2\%$ . Kadar abu larut air menunjukkan jumlah mineral organik dalam ekstrak tersebut. Hasil standarisasi kadar abu larut air ekstrak etanol daun Dandang gendis yaitu 6,559% untuk daerah Blitar, 4,474% untuk daerah Batu dan 7,075% untuk daerah Pasuruan, sehingga dapat dinyatakan untuk penetapan kadar abu larut air ekstrak etanol daun Dandang gendis yaitu  $<8\%$ . Hal-hal yang mempengaruhi kadar abu adalah suhu (apabila suhu semakin tinggi, maka proses pengabuan semakin cepat), waktu (apabila waktu pengabuan makin lama, maka pengabuan akan semakin sempurna), zat pengoksidasi yang dapat mempercepat proses oksidasi zat organik dalam sampel dan mempercepat pengabuan dan jenis bahan (apabila bahan tersebut mudah menjadi abu, maka prosesnya akan semakin cepat). Kadar abu tidak larut asam tinggi maka dapat diartikan bahwa bahan tersebut memiliki jumlah pengotor (pasir atau tanah) yang tinggi. Bobot jenis didefinisikan sebagai perbandingan kerapatan



suatu zat terhadap kerapatan air dengan nilai massa persatuan volume. Penentuan bobot jenis bertujuan memberikan gambaran kandungan kimia yang terlarut pada suatu ekstrak (DitjenPOM RI, 2000). Pengukuran bobot jenis ekstrak menggunakan alat piknometer. Hasil yang diperoleh adalah  $0,777 \pm 0,003$  untuk daerah Blitar,  $0,778 \pm 0,002$  untuk daerah Batu dan

$0,0779 \pm 0,004$  untuk daerah Pasuruan, sehingga dapat dinyatakan untuk penetapan bobot jenis ekstrak daun Dandang gendis adalah  $0,774-0,784 \text{ g/cm}^3$ . Pengukuran pH dilakukan untuk menentukan batasan nilai pH dari ekstrak daun Dandang gendis. Hasil yang diperoleh yaitu pH 5-6 pada pelarut etanol dan pH 6-6,5 untuk pelarut air.



**Gambar 6.** Perbandingan spektrum *infrared* ekstrak etanol daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.) dari daerah Blitar (A), Batu (B), dan Pasuruan (C).

**Tabel 1.** Hasil uji parameter spesifik dan non-spesifik ekstrak etanol daun Dandang gendis (*Clinacanthus nutans* L.).

Jenis Uji	Lokasi Tumbuh			Kesimpulan
	Blitar	Batu	Pasuruan	
	<b>Spesifik</b>			
Organoleptis	Bentuk semisolid, warna hitam kehijauan, dan bau khas aromatik	Bentuk semisolid, warna hitam kehijauan, dan bau khas aromatik	Bentuk semisolid, warna hitam kehijauan, dan bau khas aromatik	Bentuk semisolid, warna hitam kehijauan, dan bau khas aromatik
Kadar sari larut etanol (% b/b)	68,969 ± 0,112	54,772 ± 0,223	63,939 ± 0,188	>54
Kadar sari larut air (%b/b)	47,909 ± 0,075	37,704 ± 0,030	42,657 ± 0,060	>37
	<b>Non Spesifik</b>			
Skrining fitokimia	Alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid dan terpenoid	Alkaloid, flavonoid, polifenol, steroid dan terpenoid	Alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, steroid dan terpenoid	Alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, steroid dan terpenoid
Kadar Flavonoid total (%b/b)	0,1144	0,1326	0,1425	0,12
Kadar Polifenol total (%b/b)	0,2986	0,1579	0,2120	> 0,15
Kadar alkaloid total (%b/b)	0,0667	0,0350	0,0649	>0,03
Bobot Jenis 1% (g/cm <sup>3</sup> )	0,777 ± 0,003	0,778 ± 0,002	0,779 ± 0,004	0,774-0,784
Kadar abu total (%b/b)	9,951 ± 0,066	6,396 ± 0,048	10,116 ± 0,034	<11%
Kadar abu tak larut asam (% b/b)	1,024 ± 0,020	0,965 ± 0,011	0,967 ± 0,032	<2%
Kadar abu larut air (% b/b)	6,559 ± 0,052	4,474 ± 0,018	7,075 ± 0,020	<8%
Kadar air (% b/b)	14,006 ± 0,034	15,621 ± 0,013	13,825 ± 0,044	<16%
pH	Etanol : 5,6 Air : 6,3	Etanol : 5,9 Air : 6,5	Etanol : 5,8 Air : 6,1	5-6 6-6,5

**KESIMPULAN**

Hasil parameter standarisasi spesifik dan non spesifik dari ekstrak etanol daun dandang gendis adalah sebagai berikut ekstrak kental berwarna hijau kehitaman dan berbau khas aromatis; kadar sari larut etanol >54%; kadar sari larut air >37%; skrining fitokimia menunjukkan adanya senyawa alkaloid, flavonoid, polifenol, saponin, steroid dan terpenoid; profil spektrum IR menunjukkan bilangan gelombang pada

rentang 3325-3351cm<sup>-1</sup>, 2924-2919 cm<sup>-1</sup>, 1622-1633cm<sup>-1</sup>, 1341-1345 cm<sup>-1</sup>, dan 1020-1047 cm<sup>-1</sup>; kondisi KLT yang dapat digunakan fasa diam silika gel, fase gerak n-heksan:etil asetat (7:3); kadar fenol total >0,16%; kadar flavonoid total > 0,11%; kadar alkaloid total > 0,04%, kadar air <16%, kadar abu total <11%, kadar abu larut air <8%, kadar abu tidak larut asam <2%, bobot jenis 0,774 - 0,784 g/cm<sup>3</sup>, pH ekstrak untuk air 5-6 dan 6-6,5 untuk etanol.

## DAFTAR PUSTAKA

- Agoes, Guswin. 2009. *Teknologi Bahan Alam*. Penerbit ITB. Bandung.
- Alam, A., Ferdosh, S., Ghafoor, K., Hakim, A., Juraimi, A.S., Khatib, A., Zaidul I. Sarker, Z.I. 2016. Clinacanthus nutans: A review of the medicinal uses, pharmacology and phytochemistry. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. Malaysia, 9(4):402-409.
- Arullappan, S., Rajamanickam, P., Thevar, N., Kodimani, C.C. 2014. In Vitro Screening of Cytotoxic, Antimicrobial and Antioxidant Activities of Clinacanthus nutans (Acanthaceae) leaf extracts. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13 (9): 1455-1461.
- Aslam, M.S., Ahmad, M.S., Mamat, A.S. 2016. Phytochemical Evaluation of Polyherbal Formulation of Clinacanthus nutans and Elephantopus scaber to Identify Flavonoid. *Pharmacognosy Journal*, 8(6): 534-541.
- Badal, Simone and Delgoda, Rupika. 2017. *Pharmacognosy Fundamentals, Application, and Strategy*. Elsevier. India.
- Badan POM, RI, 2005, Standarisasi ekstrak tumbuhan Indonesia salah satu tahapan penting dalam pengembangan obat asli Indonesia, Info POM, Badan POM RI Jakarta.
- Bangun, Abadnego. 2012. *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Indonesia Publishing House. Bandung.
- Chelyn, J.L., Omar, M.H., Yousof, N.S.A.M., Ranggasamy, R., Wasiman, M.I., Ismail, Z. 2014. Analysis of Flavone C-Glycosides in the Leaves of *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau by HPTLC and HPLC-UV/DAD. *The Scientific World Journal*, 2014: 1-6.
- Cheong, B.E., Ho, S.Y., and Dickens Wong F.V, 2013, Chemical profiling of Sabah snake grass, *Clinacanthus nutans*, *Proceedings of the 11<sup>th</sup> Seminar on Science & Technology*, University Malaysia Sabah.
- Depkes RI [Departemen Kesehatan Republik Indonesia], 1989, *Materia Medika Jilid V*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- DirJen POM RI [Direktorat Jendral POM Republik Indonesia], 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Cetakan Pertama*. Departemen Kesehatan RI. Jakarta.
- Erizilina, E., Pamoengkas, P dan Darwo, 2018, Hubungan Sifat Fisik dan Kimia Tanah dengan Pertumbuhan Meranti Merah di KHDTK Haurbentes, *Jurnal Pengelolaan Sumberdaya Alam dan Lingkungan*, 8(2): 216-222.
- Farnsworth, N. R., 1966, Biological and Phytochemical Screening of Plants, *J.Pharm. Sci*, 55(3), 225-276.
- Harborne, J.B. 1987. *Metode Fitokimia*. Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Kosasih dan Iwang. Penerbit ITB. Bandung.
- Huang, D., Guo, W., Gao, J., Chen, J., Olatunji, J.O. 2015. *Clinacanthus nutans* (Burm. f.) Lindau Ethanol Extract Inhibits Hepatoma in Mice through Upregulation of the Immune Response. *Molecules*. 20(9):17405-28.
- Katno, S dan Pramono. 2002. *Tingkat Manfaat dan Keamanan Tanaman Obat dan Obat Tradisional*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM.
- MenKes RI, 2007 - *DRAFT AKHIR KOTRANAS 70308.doc - 1206328790\_Buku Kebijakan Obat Tradisional Nasional Tahun 2007.pdf*. diakses 27 Januari 2017.
- Nihayati, E., T. Wardiyati, Soemarno, R. Retnowati. 2013. Rhizome yield of temulawak (*Curcuma xanthorrhiza* Roxb.) at N, P, K various level and N, K combination. *J. Agrivita*, 35(1) : 1-11.
- Voight, R. 1995. *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi, Diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Noerono*, Gadjah Mada University Press, Yogyakarta.
- Yuan, J.P., Wang, J., Jian, H., Lin, C., Liang, J. 2012. *Effects of Clinacanthus nutans (Burm.f) Lindau leaf extracts on protection of plasmid DNA from riboflavin photoreaction*. Ming Chuan University, 4(5): 45-58.