

Kajian Fitokimia dan Identifikasi Senyawa Metaboli Sekunder Daun Pare (*Momordica Charantia L.*)

Muhammad Taupik*, Endah Nurrohrinta Djuwarno, Moh Adam Mustapa

Jurusan Farmasi, Fakultas Olahraga dan Kesehatan, Universitas Negeri Gorontalo
Jl. Jenderal Sudirman No. 06, Gorontalo, Indonesia

*Corresponding Author: muhtaupik@ung.ac.id

Received: September, 10, 2021 / Accepted: December, 31, 2021
doi: 10.24252/al-kimiav9i2.23633

Abstract: Pare (*Momordica charantia L.*) is plant that has long been known by Indonesian people. Apart from being a vegetable ingredient, this plant also has benefits as traditional medicine. This study aims to identify secondary metabolites contained in pare and to trace terpenoid compounds using Spectrophotometry UV-VIS. The method of extracting samples by maceration using methanol as a solvent, obtained 36.25 grams of methanol extract. The extract was then screened for phytochemicals which showed the presence of alkaloids, saponins and steroids/terpenoids. Dilakukan proses fraksinasi dengan metode partisi cair-cair menggunakan pelarut n-heksana dan metanol (4:2). The non-polar phase (n-hexane phase) from the partition was then evaporated using a rotary evaporator. The resulting n-hexane fraction is 1.25 grams. Thin Layer Chromatography (TLC) technique was used to find the eluent formulation with the best separation. Obtained n-hexane: ethyl acetate (3:1). The next separation process used the Vacuum Liquid Chromatography (VLC) method using silica gel GF254 as the stationary phase and the solvent n-hexane: methanol as the mobile phase and eluted gradually. The isolates obtained from the VLC were evaluated for their purity by TLC. The isolates were then identified using Spectrophotometry UV-VIS. Data The results of physicochemical analysis using UV-VIS spectrophotometry showed that the isolates had absorption bands at wavelengths of 274.2 nm and 432.8 nm with absorbances of 0.601 and 0.177. These results indicate that there is an electron transition from $n \rightarrow \pi^*$ which is present in the molecular structure of the isolate.

Key word: *Momordica charantia L.*, Terpenoid, UV-VIS spectrophotometry

PENDAHULUAN

Tanaman Pare (*Momordica charantia L.*) sangat mudah dijumpai di hampir seluruh daerah di Indonesia. Tanaman ini tidak begitu asing lagi dan telah banyak dimanfaatkan sebagai alternatif obat sintesis, atau yang lebih dikenal sebagai obat tradisional. Pare tumbuh daerah beriklim tropis dan memiliki vegetasi di dataran rendah. Pare mudah dijumpai tumbuh liar ataupun ditanam dipekarangan sebagai hiasan yang merambat di pagar untuk dimanfaatkan buahnya. Tanaman ini mampu hidup di daerah yang terlindungi dari sinar matahari sekalipun. Daun mengandung asam trikosanik, momordin, charantin, saponin, resin, asam resinat, vitamin A dan C, momordicine, minyak lemak terdiri atas asam oleat, asam linoleat, asam stearat dan L. oleostearat (Dalimartha, 2008). Hasil penelitian melaporkan bahwa pare banyak mengandung senyawa metabolit sekunder diantaranya adalah turunan triterpenoid, flavonoid dan steroid (Groover, 2004; Achmad, 2007 dalam Juliana, 2010).

Berdasarkan beberapa uraian diatas, maka senyawa kimia yang akan diteliti pada penelitian ini adalah senyawa metabolit sekunder khususnya senyawa terpenoid. Dengan mengetahui adanya kandungan kimia terpenoid dalam daun pare (*Momordica charantia L.*) maka akan menjadi tolak ukur untuk lebih lanjut meneliti tentang senyawa kimia terpenoid tersebut khususnya dalam aspek farmakologisnya.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat maserasi (maserator), gunting, wadah stainless, gelas kaca, gelas kimia, gelas ukur, chamber, corong pisah, pipet tetes, spatula, batang pengaduk, waterbath, tabung reaksi, pelat KLT, pipa kapiler, penyemprot, pompa vakum, neraca analitik, kuvet spektro, lampu UV, spektrofotometer UV-VIS.

Bahan yang digunakan yaitu sampel daun pare (*Momordica charantia L.*) yang telah kering, metanol, n-heksana, etil asetat, silica GF₂₅₄, aquadest, ammonia pekat, HCL pekat, H₂SO₄ pekat, asam asetat anhidrat, pereaksi mayer, pereaksi dragendrof, pereaksi wegner, Mg, alkohol, aluminium foil, kain putih dan tisu.

Pengumpulan dan Pengolahan Sampel

Sampel Daun pare (*Momordica charantia L.*) diperoleh dari Provinsi Gorontalo. Daun pare yang diambil merupakan daun yang semuruh yakni daun yang masih segar dan berwarna kehijauan (masih muda), dipilih yang berada di pucuk pohon. Daun pare dibersihkan dengan cara dicuci, selanjutnya dirajang kecil. Selanjutnya sampel dikeringkan dengan cara diangin-anginkan Tahap akhir didapatkan haksel daun pare sebanyak 500 gram.

Ekstraksi dan Fraksinasi

Sampel haksel kering daun pare (*Momordica charantia L.*) diekstraksi untuk diambil sarinya menggunakan metode maserasi dengan pelarut metanol. Tahapan ini melalui proses 1 x 24 jam dengan 3 kali pengadukan. Maserat yang diperoleh kemudian disaring menggunakan kain putih dan dievaporasi pada suhu 40-65°C menggunakan *water bath* dan didapatkan ekstrak kental metanol daun pare (*Momordica charantia L.*). Tahap selanjutnya, ekstrak kental dipartisi menggunakan metanol dan n-heksana. Setelah itu, dimasukkan ke dalam corong pisah dan dilakukan pengocokan dan didiamkan selama beberapa menit sampai terjadi pemisahan. Fraksi n-heksana dipisahkan dan dievaporasi pada suhu 40-65°C sehingga menghasilkan ekstrak n-heksana. Hasil ekstrak tersebut diuji fitokimia.

Skrining Fitokimia

Skrining fitokimia biasa dilakukan sebagai uji pendahuluan untuk mengetahui kandungan senyawa yang ada dalam tumbuhan. Uji fitokimia ini meliputi senyawa metabolit sekunder, yaitu uji alkaloid, uji flavonoid, uji steroid, terpenoid dan saponin.

Uji alkaloid

Sebanyak 0,1 gram ekstrak metanol daun pare (*Momordica charantia L.*) dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 2 mL etanol. Dikocok menggunakan vortex hingga homogen. Ditambahkan 5 tetes HCL pekat, dikocok hingga homogen. Ditambahkan 5 tetes larutan oksalat dan dikocok menggunakan vortex hingga homogen. Setelah itu, didiamkan sampai terjadi pengendapan. Dipisahkan filtrat dari endapan dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Ditetesi 10 tetes NaOH pada filtrat yang telah dipisahkan. Didiamkan selama beberapa menit. Jika terdapat endapan putih setelah ditambahkan 10 tetes NaOH, maka positif (+) alkaloid.

Uji flavonoid

Sebanyak 0,1gram ekstrak metanol daun pare (*Momordica charantia L.*) dimasukkan dalam tabung reaksi. Ditambahkan 5 ml etanol dan dikocok menggunakan

vortex hingga homogen. Setelah itu, dipipet 2,5 ml dari tabung pertama dan dimasukkan ke dalam tabung kedua. Pada tabung kedua, ditambahkan 2,5 mL n-heksana. Dikocok hingga homogen menggunakan vortex. Didiamkan sampai terjadi 2 lapisan. Lapisan atas (n-heksana) dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi ketiga.

Ketiga tabung tersebut masing-masing ditetesi dengan 5 tetes HCL pekat dan ditambahkan 5 tetes larutan MgCl. Setelah itu, dikocok hingga homogen menggunakan vortex. Jika terjadi perubahan warna merah, jingga, atau kuning pada masing-masing tabung, maka positif (+) flavonoid.

Uji steroid dan terpenoid

Dimasukkan dalam tabung reaksi 0,1 gram ekstrak metanol daun pare (*Momordica charantia L.*). Selanjutnya etanol ditambahkan sebanyak 3 ml. dikocok menggunakan vortex hingga homogen. Diambil 2,5 ml menggunakan pipet selanjutnya dipindahkan kedalam dalam tabung reaksi kedua. Pada tabung kedua, ditambahkan 2,5 ml n-heksana di kocok hingga homogeny. Didiamkan sampai terjadi 2 lapisan. Lapisan atas (n-heksana) dipipet dan dimasukkan kedalam tabung reaksi ketiga. Ketiga tabung tersebut masing-masing ditetesi dengan 5 tetes pereaksi Liebermann Buchard. Apabila terbentuk warna ungu atau jingga, mengindikasikan positif (+) terpenoid dan apabila terbentuk warna biru atau hijau kebiruan, maka positif (+) Steroid.

Uji saponin

Disiapkan tabung reaksi yang selanjutnya dimasukan 0,5 gram ekstrak metanol daun pare (*Momordica charantia L.*) kedalamnya. Sebanyak 2 ml aquadest ditambahkan dan dihomogenkan dengan cara dikocok. Kemudian dipanaskan selama 2-3 menit. Dibiarkan dingin dan dikocok dengan kuat. Terbentuknya busa yang konsisten selama 30 detik membuktikan bahwa sampel memiliki kandungan saponin.

Pemisahan dan Pemurnian

Kromatografi cair vakum (KCV) digunakan untuk memisahkan ekstrak n-heksana menggunakan fase diam silika gel GF₂₅₄. Fraksi yang didapatkan pada tahapan ini selanjutnya dievaluasi dengan kromatografi lapis tipis (KLT) untuk menentukan nilai Rf-nya. Isolat yang menunjukkan adanya satu noda tunggal yang terbentuk, mengindikasikan isolate tersebut telah murni.

Identifikasi Senyawa

Senyawa terpenoid diidentifikasi menggunakan spektrofotometri UV-VIS yaitu isolat daun pare (*Momordica charantia L.*) diencerkan dengan cara dilarutkan dengan metanol, dicukupkan volumenya. Dimasukkan dalam labu tentukur dan dicukupkan kembali volumenya dengan metanol sehingga diperoleh larutan dengan konsentrasi tertentu. Pengerjaan dilakukan di tempat yang gelap. Setelah itu, diukur panjang gelombang dan serapannya.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dan Fraksinasi

Proses ekstraksi yang dilakukan dalam penelitian ini merupakan ekstraksi dengan metode maserasi menggunakan pelarut metanol dikarenakan selain maserasi merupakan metode yang paling sederhana untuk dilakukan, metode maserasi ini cocok untuk sampel-sampel yang tidak tahan akan pemanasan seperti sampel daun dan bunga. Dari 250 gram sampel daun pare yang telah kering dimaserasi dengan metanol 2500 mL selama 1 x 24

jam dengan 3 kali pengadukan bertujuan untuk mengambil senyawa kimia yang ada dalam sampel daun pare tersebut. Maserat yang telah diperoleh, kemudian diuapkan (evaporasi) untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak. Maserat daun pare yang telah dievaporasi tersebut menghasilkan ekstrak kental metanol berwarna hijau sebanyak 36,25 gram dengan berat rendamen sebesar 14,5%. Proses ekstraksi ini dapat dikatakan sempurna karena presentasi rendamen yang dihasilkan masuk dalam range persen rendamen yaitu 10% -15% (Dirjen POM, 2000).

Metode partisi cair-cair (PCC) digunakan untuk memfraksinasi ekstrak metanol. Sistem PCC ini menggunakan sistem pelarut bertingkat kepolarannya. Proses pemisahan pada PCC membentuk dua fase pelarut yang tidak saling bercampur, yang dimana senyawa kimia akan terdispersi berdasarkan kelarutannya. (Gu, 2000).

Pada proses partisi ini, digunakan pelarut metanol sebagai pelarut polar dan N-heksana sebagai pelarut non polar sehingga ketika dicampurkan kedua pelarut tersebut akan mengalami pemisahan.

Setelah terjadinya pemisahan fase polar dan nonpolar maka diambil hasil partisi fase non polar (fase N-Heksana) atau fase pelarut yang ada pada bagian atas yang selanjutnya dievaporasi pada suhu 40-69°C (suhu yang digunakan sesuai dengan nilai konstanta dielektrik pelarut N-heksana) (Rohman, 2007).

Proses partisi ini menghasilkan ekstrak kental fraksi N-Heksana daun pare (*Momordica charantia L.*) sebanyak 1,25 gram dengan warna hijau kekuningan.

Uji Fitokimia

Uji Alkaloid

Alkaloid memiliki sifat basa yang ditandai dengan keberadaan satu atau lebih atom nitrogen, lebih familiar dengan system siklik (Harborne, 1987). Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia (Gambar 1) menunjukkan hasil positif adanya senyawa alkaloid yang ditandai terjadinya endapan berwarna putih. Pereaksi Mayer digunakan untuk mengidentifikasi alkaloid. Kandungan nitrogen pada alkaloid bereaksi dengan ion logam K^+ dari kalium tetraiodomercurat (II) untuk membentuk ion kompleks senyawa kalium alkaloid yang mengendap (Setyowati, 2014).

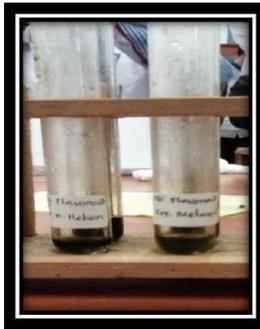


Gambar 1. Hasil Uji Skrining Alkaloid

Uji Flavonoid

Golongan flavonoida dapat digambarkan sebagai deretan senyawa C6-C3-C6, artinya kerangka karbonya terdiri atas dua gugus C6 (cincin benzena tersubstitusi) disambungkan oleh rantai alifatik tiga karbon (Robinson, 1995). Berdasarkan hasil uji skrining fitokimia senyawa flavonoid (Gambar 2) menunjukkan bahwa ekstrak daun pare tidak mengandung senyawa flavonoid karena tidak terjadi perubahan warna menjadi merah

atau jingga. Hal ini disebabkan oleh preparasi sampel yang tidak sesuai atau dalam sampel daun pare itu sendiri tidak mengandung senyawa metabolit sekunder khususnya flavonoid.



Gambar 2. Hasil Uji Skrining Flavanoid

Uji Saponin

Saponin dicirikan dengan terbentuknya busa saat terjadi proses pemutusan ikatan glikosida. (Robinson, 1995; Gunawan, et al., 2004). Berdasarkan hasil skrining fitokimia (Gambar 3) memperlihatkan bahwa ekstrak daun pare positif terkandung senyawa saponin ditandai adanya busa pada permukaan tabung reaksi. Selanjutnya dilakukan penambahan HCl 2 M dan dilihat apakah busa tetap bertahan tidak kurang dari 10 menit. Terbentuknya busa disebabkan keberadaan senyawa glikosida yang terdiri dari glikon dan aglikon dengan kemampuan menghasilkan buih ketika diintervensi dengan air yang terhidrolisis membentuk glukosa dan aglikonnya (Setyowati, 2014).



Gambar 3. Hasil Uji *Skrining* Saponin

Uji Terpenoid/Steroid

Terpenoid memiliki ikatan karbon dan hidrogen, karbon-karbon, karbon dan oksigen yang tidak memiliki sifat aromatisitas. Senyawa ini dicirikan dengan mudah menguap, yang biasanya memiliki 10 atom karbon dan merupakan penyusun minyak atsiri (Achmad, 1986).



Gambar 4. Hasil Uji Skrining Terpena/Steroid

Berdasarkan hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa ekstrak daun pare setelah direaksikan dengan pereaksi lieberman buchard terjadi perubahan warna menjadi biru. Karakteristik senyawa triterpenoid/steroid akan mengalami distorsi akibat reaksi dengan asam kuat. Sehingga produk yang terbentuk akan menghasilkan garam dengan variasi warna (Mukhlis, 2010).

Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pengujian selanjutnya adalah mengidentifikasi ekstrak dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT) menggunakan 3 macam sistem eluen dengan perbandingan yang berbeda-beda. Hal ini bertujuan untuk menentukan eluen atau pelarut yang cocok untuk digunakan pada proses selanjutnya yaitu kromatografi cair vakum (KCV). Berdasarkan hasil analisis menunjukkan bahwa perbandingan eluen atau pelarut N-heksana etil asetat memberikan 5 bercak noda (Gambar 5).



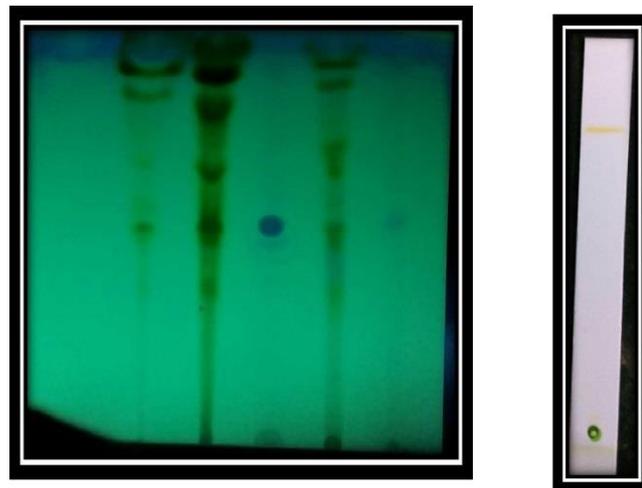
Gambar 5. Hasil Identifikasi KLT Ekstrak Etanol daun pare (*Momordica charantia L.*) Fase Gerak n-heksana : etil asetat (3 : 1)

Nilai Rf masing-masing yaitu 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 sehingga eluen yang sesuai untuk digunakan pada kromatografi cair vakum (KCV) yaitu N-heksana: etil asetat (3: 1) yang menunjukkan pemisahan noda yang jelas dan komponennya terpisah dengan baik dibandingkan dengan eluen lainnya yang bahkan tidak terlihat adanya bercak noda pada plat KLT setelah diamati dibawah sinar lampu UV 254 nm dan 366 nm.

Kromatografi Cair Vakum (KCV) dan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel berupa ekstrak metanol fraksi N-Heksana daun pare yang telah diuji fitokimia selanjutnya dilakukan pemisahan dan pemurnian menggunakan Kromatografi cair vakum (KCV). Pada proses pemisahan dan pemurnian menggunakan kromatografi cair vakum, sebanyak 1,25gram ekstrak kental metanol fraksi N heksana daun pare (*Momordica charantia L.*) dicampurkan dengan 1 gram silica gel GF₂₅₄.

Pelarut yang digunakan yaitu pelarut 100% N-heksana, campuran N-heksana dan metanol dengan perbandingan 80:20, 60:40, 40:60, 20:80 dan 100% metanol. Hasil ekstrak dari keenam fraksi yang telah di evaporasi selanjutnya diuji KLT (Kromatografi lapis tipis) dengan tujuan untuk memperoleh suatu noda tunggal. Kromatografi lapis tipis (KLT) pada proses ini menggunakan plat KLT dengan ukuran 10x10 cm. Hasil ekstrak dari keenam fraksi diencerkan dengan pelarut N-Heksana dan ditotolkan pada plat KLT menggunakan pipa kapiler. Setelah itu, dielusikan pada larutan pengembang yang terpilih pada proses kromatografi lapis tipis (KLT) yaitu pelarut n-heksana : etil asetat dengan perbandingan 3 : 1 dimana sebanyak 37,5 mL N-Heksana dan 12,5 mL etil asetat.



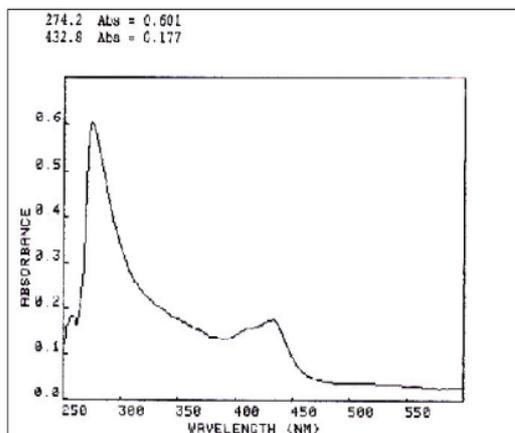
Gambar 6 . a. Hasil Identifikasi KLT 6 Fraksi Hasil KCV (Atas) Fese Gerak n-heksana : etil asetat (3 : 1). b. Hasil Identifikasi KLT Fraksi 4 daun pare (*Momordica charantia L.*) Fese Gerak n-heksana: etil asetat (3: 1)

Berdasarkan hasil analisis dengan KLT bahwa fraksi 4 dengan pelarut N-Heksana : metanol dengan perbandingan 40 : 60 terdapat 1 bercak noda sehingga ekstrak pada perbandingan 40 : 60 ini di uji KLT kembali dan menghasilkan 1 bercak noda dengan nilai $R_f = 0,7$ cm yang diduga merupakan turunan senyawa terpenoid golongan triterpenoid. Hasil penelitian membuktikan bahwa nilai R_f 0,75 dengan pendaran ungu mengindikasikan positif terpenoid. (Kusumaningtyas, 2008). Fraksi 4 menggunakan pelarut n-heksana : metanol dengan perbandingan 40 : 60 yang terdapat 1 bercak noda dengan nilai $R_f = 0,7$ selanjutnya diidentifikasi pada Spektrofotometri UV-VIS didasarkan pada panjang gelombang dan uji skrining fitokimia.

Identifikasi Isolat

Prinsip kerja spektrofotometri UV- VIS adalah cahaya yang tersistematis dengan cara berkas cahaya tersebut dilewatkan pada sebuah wadah (kuvet) yang berisi larutan, dengan respon spektrum (Ewing, 1975). Berikut diasajikan Gambar spektrum (gambar 7)

dan data panjang gelombang dan Absorbansi Isolat Daun Pare Daun Pare (Tabel 1)



Gambar 7. Hasil Identifikasi Spektrofotometri UV-Vis Isolat Daun Pare

Tabel 1. Data Panjang Gelombang dan Absorbansi Isolat Daun Pare (*Momordica charantia L.*)

NO	Panjang Gelombang (nm)	Absorbansi
1	274,2	0,601
2	432,8	0,177

Dari data tersebut dapat dilihat bahwa spektrum serapan UV-VIS memberikan dua pita serapan pada panjang gelombang 274,2 nm dan 432,8 nm. Terbentuknya dua atau lebih pita serapan pada spectrum UV-VIS diakibatkan oleh kandungan senyawa pada isolat yang memiliki struktur lebih kompleks, sehingga mengakibatkan adanya transisi elektron yang memiliki lebih dari satu panjang gelombang maksimal. Proses eksitasi elektron memiliki peranan kuat terhadap pembentukan pita spektrum UV-VIS lebih dari satu macam pada gugus molekul kompleks (Rohman, 2007).

Transisi pada panjang gelombang 274,2 nm diduga karena adanya transisi $n \rightarrow \pi^*$. Jenis transisi ini merupakan transisi dengan panjang gelombang 200-700 nm dimana kebanyakan molekul-molekul yang memiliki transisi $n \rightarrow \pi^*$, kecenderungan pada saat dasar lebih cenderung polar dibandingkan saat tereksitasi. Akibatnya transisi $n \rightarrow \pi^*$ membutuhkan energi yang lebih banyak/besar sehingga mengakibatkan terbentuknya transisi panjang gelombang kearah yang lebih kecil/pendek (Rohman, 2007).

Serapan pada panjang gelombang 432,8 nm diduga terjadi karena adanya absorbs cahaya sehingga menyebabkan terjadinya penyerapan cahaya komplementernya. Serapan pada panjang gelombang 432,8 nm merupakan absorpsi cahaya ungu (lembayung) senyawa isolat pada panjang gelombang 400-435 nm. Hal ini disebabkan oleh senyawa isolat yang berwarna hijau kekuningan akan menyerap warna ungu (lembayung) sehingga akan nampak sebagai sebagai komplemen warna yang telah diserap yaitu berwarna hijau kekuningan.

SIMPULAN

Hasil penelitian yang diperoleh membuktikan bahwa ekstrak metanol fraksi n-heksana daun pare (*Momordica charantia L.*) mengandung golongan senyawa triterpenoid yang merupakan turunan dari senyawa terpenoid. Terbentuknya pita serapan dipanjang

gelombang 274,2 nm dan 432,8 nm yang disebabkan oleh adanya transisi elektron dari $n \rightarrow \pi^*$ memperkuat dugaan tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad, Sjamsul. (1986). *Kimia Organik Bahan Alam*. Karunika Jakarta Universitas Terbuka: Jakarta.
- Achmad, Sjamsul. (2007). Ilmu Kimia dan Kegunaan Tumbuh-Tumbuhan Obat Indonesia. Dalam *Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Turunan Terpenoid Dari Fraksi N-Heksana Momordica charantia L.* ISSN 2087- 7412: 88-93.
- Agoes, G. (2007). Teknologi Bahan Alam. *Dalam Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Vol. VII No.2. 361-367.*
- Anonim. (1986). *Sediaan Galenik*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Anonim. ((1995). *Materia Medika Jilid VI*. Diktorat Jenderal POM-Depkes RI: Jakarta.
- Anonim. (2000). *Kstrak Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Diktorat Jenderal POM-Depkes RI: Jakarta.
- Anonim. (2000). *Acuan Sediaan Herbal*. Diktorat Jenderal POM-Depkes RI: Jakarta.
- Anonim. (2000). *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia: Jakarta.
- Anonim. (2009). *Farmakope Herbal Indonesia*. Diktorat Jenderal POM- Depkes RI: Jakarta.
- Arum. (2012). Isolasi dan Uji Daya Antimikroba Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*). *Jurusan Kimia FMIPA UNNES: Semarang.*
- Azhari A., Fitrianiingsih SP., Choesrina R. (2015). Uji Aktivitas Mokolitik Ekstrak Etanol Daun Pare (*Momordica charantia L.*) Secara In-Vitro. FMIPA Universitas Islam: Bandung.
- Bahri S., Rinawati. (2005). Senyawa Terpenoid Hasil Isolasi Dari Daun Lada (*Piper nigrum*, Linn) Dan Uji Bioaktivitasnya Terhadap Hama *Callosobruncus chinensis*. *Juruusan Kimia FMIPA: Lampung.*
- Creswell, C. J., Runquist, O. A., and Champbell, M. M. (1982). *Analisis Spektrum Senyawa Organik*. A. b Padmawinata, K., ITB: Bandung.
- Dalimartha. (2008). *Ensiklopedia Tanaman Obat Indonesia*. Dinamika Media: Jakarta.
- Farouq. (2003). *Ekstrak Sebagai Salah Satu Pengembangan Bentuk Obat Tradisional*. Dalam Teknik Pembuatan Simplisia Dan Ekstrak Purwoceng. 314-324.
- Gandjar IG dan Abdul R. (2008). *Kimia Farmasi Analisis*. Pustaka Pelajar: Yogyakarta.

- Grover, J.K. and S.P.Yadav. (2004). Pharmacological Actions and Potential Uses of *Momordica charantia*. *A Review J.Etanopharmacol. Dalam Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Turunan Terpenoid Dari Fraksi N-Heksana Momordica charantia L. ISSN 2087-7412: 88-93.*
- Gu, T. (2000). Liquid-Liquid Partitioning Methods for Bioseparations. Dalam Pengaruh Partisi Bertingkat Cair-cair Ekstrak Etanol Rimpang Jahe (*Zingiber officinale* Rosc.) Terhadap Profil Kandungan senyawa Kimia dan Aktifitas Antiradikalnya. Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah: Surakarta
- Harbone, J.B. (1987). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan edisi IV (Terjemahan Kosasih Padmawinata). Penerbit ITB: Bandung.
- Harbone, J.B. (1996). Metode Fitokimia Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan. ITB: Bandung.
- Harbone, J.B. (1998). Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plan Analysis 3rd Edition. *Dalam Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Vol. VII No.2. 361-367.*
- Heinrich, Michael., Barnes, Joanne., Gibbons, Simon., Williamso, Elizabeth M. (2004). *Fundamental of Pharmacognosy and Phytotherapi*. Elsevier: Hungary.
- Heyne, K. (1987). Tumbuhan Berguna Indonesia III. Dalam Kandungan Kimia Daun Pare (*Momordica charantia* LINN.) Dan Efek Antelmentik Terhadap Cacing Lambung. *Institut Sains dan Teknologi Nasional: Jakarta.*
- Juliana V., Aisyah S., Mustapha I. (2010). Isolasi Dan Karakterisasi Senyawa Turunan Terpenoid Dari Fraksi N- Heksana *Momordica charantia* L. ISSN 2087-7412: 88-93.
- Kariyawati A. (2012). Isolasi dan Karakterisasi Senyawa Kimia Dari Ekstrak Rimpang Kunyit Putih (*Kaempferia rotundus* L.). Fakultas Farmasi UNHAS: Makassar.
- Komala O., Sari BL., Sakinah N. (2012). Uji Efektivitas Ekstrak Etanol Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Sebagai Antibakteri *Salmonella typhi*. FMIPA: Bogor.
- Kristanti, A.N., dkk. (2008). Buku Ajar Fitokimia. Jilid 1. Airlangga University Press: Surabaya.
- Kusumaningtyas E., Sukmawati L., Astuti E. (2008). Penentuan Golongan Bercak Senyawa Aktif Ekstrak N-Heksana *Alpinia galanga* *Candida albicans* Dengan Bioautografi Dan Kromatografi Lapis Tipis. *Institut Sains dan Teknologi Nasional: Jakarta.*
- Mahanani R., Praharani., Purwanto. (2012). Daya Antibakteri Ekstrak Daun Pare (*Momordica charantia* L.) Dalam Menghambat Pertumbuhan *Streptococcus viridans*. Fakultas Kedokteran Gigi: Jember.

- Marliana. (2005). *Skrining* Fitokimia dan Analisis Kromatografi Lapis Tipis Komponen Kimia Buah Labu Siam (*Sechium edule* Jacq. Swartz.) dalam Ekstrak Etanol. *Dalam* *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. ISBN: 979363174-0: 271-280.
- Muharram. (2010). Isolasi dan Uji Bioaktivitas Senyawa Metabolit Sekunder Ekstrak N-Heksana Daun Pare (*Momordica charantia* L.). Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Makassar: Sulawesi Selatan.
- Mukhriani. (2014). Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alaudin: Makassar.
- Mulja, M. (1990). Aplikasi Spektrofotometer UV-VIS. Dalam Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif. Vol. VII No.2.361-367.
- Nagegowda, D.A. (2010). Plant Volatile Terpenoid Metabolism: Biosynthetic genes, Transcriptional, Regulation and Subcellular Compartmentation, *Febs Letters*, Vol. 584.
- Prashant. (2011). Phytochemical Screening and Extraction. *Dalam* *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. ISBN: 979363174-0: 271-280.
- Rachmawati, S., Adiwinata, G., Murdiati T B., Sulistianingsih. (2001). *Kandungan Kimia Daun Pare (Momordica charantia* LINN.) Dan Efek Antelmintik Terhadap Cacing *Lambung*. Institute Sains dan Teknologi Nasional: Jakarta.
- Robinson. (1995). *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi edisi IV Terjemahan*. ITB Press: Bandung.
- Rusdi. (1988). *Tumbuhan Sebagai Sumber Obat*. Pusat Studi Penelitian Universitas Andalas: Padang.
- Sarker SD., Latif Z., Gray AI. (2006). Natural Products Isolation 2nd ed. Dalam Ekstraksi, Pemisahan Senyawa, dan Identifikasi Senyawa Aktif Vol. VII No.2. 361-367.
- Setyowati. (2014). *Skrining Fitokimia dan Identifikasi Komponen Utama Ekstrak Metanol Kulit Durian (Durio zibethinus* Murr.) Varietas Petruk. *Jurusan PMIPA FKIP UNS: Surakarta*.
- Siadi. (2012). Ekstrak Bungkil Biji Jarak Pagar (*Jatropha curcas*) Sebagai Biopestisida yang Efektif dengan Penambahan Larutan NaCl. *Jurusan Kimia, FMIPA: Semarang*.
- Sidik dan H. Mudahar. (2000). Ekstraksi Tumbuhan Obat, Metode dan Faktor-Faktor yang Mempengaruhi Mutunya. *Universitas 17 Agustus 1945: Jakarta*.

- Siska., Sediarmo., Suryatin. (2011). *Daun Pare (Moordica charantia L.) Sebagai Penyubur Rambut*. Jurusan Farmasi UHAMKA: Jakarta.
- Susilawati., Hermansyah. (2014). Uji Potensi Antiplasmodium Ekstrak Buah Pare (*Momordica charantia* L.) Terhadap Plasmodium falcifarum. *Fakultas Kedokteran dan Kimia Universitas Sriwijaya: Palembang*.
- Supratman, Unang. (2008). *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjajaran: Bandung.
- Voight, R. (1994). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi V*. Universitas Gajah Mada Pres: Yogyakarta.
- Voight, R. (1995). *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi*. Alih Bahasa Drs. Soendani Noerono Soewandhi. Universitas Gajah Mada: Yogyakarta.
- Sovia Lenny. (2006). *Senyawa Terpenoida dan Steroida*. Departemen Kimia FMIPA USU: Medan.
- Subahar, Tati. (2004). *Khasiat dan Manfaat Pare, si Pahit Pembasmi Penyakit*. *Agromedia Pustaka: Jakarta*.