

KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER DALAM KALUS MENGGUDU
(*Morinda citrifolia*)

Oleh :
Dr. Sri Anggraeni, MSi
Dra. Kusdianti. MSi
Dian Kartikasari, SSi



JURUSAN PENDIDIKAN BIOLOGI
FAKULTAS PENDIDIKAN MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS PENDIDIKAN INDONESIA

2007

KANDUNGAN METABOLIT SEKUNDER DALAM KALUS MENKGUDU (*Morinda citrifolia*)

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian tentang “Kandungan Metabolit Sekunder Dalam Kalus Mengkudu (*Morinda citrifolia*)”. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam kalus Mengkudu (*Morinda citrifolia*). Eksplan yang digunakan adalah hipokotil *Morinda citrifolia* yang berumur $\pm$ satu bulan kemudian ditanam pada medium MS dengan penambahan zat pengatur tumbuh 2,4 D dengan rentang 0 - $4 \cdot 10^{-1}$ mg/L dan kinetin dengan rentang 0 - $4 \cdot 10^{-1}$ mg/L, pada medium B-5 dengan penambahan zat pengatur tumbuh NAA dengan rentang 0 - $5 \cdot 10^{-4}$ M. Pengulangan dilakukan sebanyak lima kali. Kalus diesktrak dan diuji secara kualitatif dengan menggunakan alat *Gas Chromatograph Mass Spectrometer* (GCMS). Hasil analisis secara kualitatif kandungan metabolit sekunder dengan menggunakan alat GCMS menunjukkan pada kalus yang tumbuh optimum di kedua medium tersebut adalah dari golongan alkaloid.

Kata kunci : Alkaloid, *Gas Chromatograph Mass Spectrometer* (GCMS), metabolit sekunder, *Morinda citrifolia*.

Pendahuluan

Penggunaan tanaman obat saat ini merupakan salah satu alternatif dalam bidang pengobatan karena manusia lebih memilih menggunakan bahan alami yang diyakini mempunyai efek samping yang lebih kecil dibandingkan dengan obat sintetis (Yuliani, 2001). Obat alami adalah sediaan obat, baik berupa obat tradisional dari bahan segar atau yang dikeringkan, ekstrak, kelompok senyawa atau senyawa murni yang berasal dari alam (Maheswari, 2002). Dalam perkembangannya, banyak bahan yang digunakan dalam formula obat tradisional baik yang baru ditemukan atau baru diperkenalkan atau baru digunakan untuk tujuan pengobatan. Salah satu tanaman obat yang digunakan adalah tanaman mengkudu.

Mengkudu (*Morinda citrifolia*) merupakan tanaman yang telah lama diketahui memiliki banyak khasiat tidak hanya untuk pengobatan namun juga untuk pencegahan berbagai penyakit. Tidak hanya di Indonesia saja, masyarakat Asia pun mempercayai bahwa secara tradisional mengkudu dapat mengobati berbagai penyakit. Pengujian secara klinis terhadap tanaman obat telah banyak dilakukan, pengujian ini menyangkut kandungan fitokimia, khasiat dan keamanan penggunaannya.

Dari berbagai macam penelitian yang telah dilakukan tersebut dapat diketahui bahwa hampir semua bagian tanaman mengkudu mengandung zat kimia dan nutrisi yang dapat berguna bagi kesehatan (Rukmana, 2002). Zat kimia yang terkandung diantaranya adalah damnacanthal, morindin, antraquinon, asam glutamat, asam askorbat, thiamin, glikosida dan skopoletin. Zat nutrisi yang terkandung dalam mengkudu diantaranya protein, mineral, vitamin yang berkhasiat sebagai antioksidan (Bangun & Sarwono, 2002).

Memperhatikan adanya potensi pemanfaatan serta banyaknya kandungan senyawa bioaktif berupa metabolit sekunder, perlu kiranya dilakukan pengembangan penelitian yang mengarah pada pencarian metoda yang efektif dan efisien untuk penyediaan bahan-bahan aktif bermanfaat dari mengkudu dalam jumlah lebih banyak dan dalam waktu yang lebih singkat, mengingat sampai saat ini mengkudu belum dibudidayakan secara khusus. Diharapkan dari hasil

penelitian tersebut dapat digunakan sebagai dasar dalam pengembangan produksi bahan-bahan bermanfaat khususnya metabolit sekunder yang berasal dari tanaman mengkudu.

Salah satu metoda yang sering digunakan untuk memproduksi metabolit sekunder tumbuhan adalah kultur jaringan, menurut Hendaryono & Wijayani (1994) kultur jaringan mempunyai manfaat besar dibidang farmasi karena dari usaha ini dapat menghasilkan metabolit sekunder sebagai pembuatan obat-obatan. Pada umumnya untuk mempelajari sintesis metabolit sekunder secara *in vitro* yang sering digunakan adalah kultur organ, kultur suspensi sel dan kultur kalus (Manthell dan Smith, 1983). Kultur yang lebih berpotensi untuk digunakan dalam produksi metabolit sekunder adalah kultur suspensi sel dan kultur kalus. Hasil penelitian Kusdianti, *et al*, (2005) menunjukkan pertumbuhan kalus yang paling baik dengan penambahan zat pengatur tumbuh 1.10^{-1} mg/L 2,4 D dan 3.10^{-1} mg/L kinetin (medium MS) dan dengan penambahan 5.10^{-5} M NAA (medium B-5) yang keduanya menghasilkan kalus berwarna coklat dan memiliki tekstur kompak. Berdasarkan hal tersebut maka perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui metabolit sekunder yang terkandung dalam kalus Mengkudu (*Morinda citrifolia*) tersebut.

Tanaman mengkudu tergolong tumbuhan multiguna karena hampir seluruh bagian dari tanaman ini dapat dimanfaatkan sebagai bahan obat, seperti dikemukakan Rukmana (2002) :

1. Akar tanaman mengkudu mengandung zat damnacanthal, sterol, resin, morindon, antrakuinon dan glikosida.
2. Daun tanaman mengkudu mengandung zat kapur, protein, zat besi, karoten, asam askorbat dan antrakuinon.
3. Bunga tanaman mengkudu mengandung glikosida dan antrakuinon.
4. Buah mengkudu mengandung alkaloid triterpenoid, skopoletin, antrakuinon, asam benzoat, asam oleat, asam palmitat dan glukosa.

Beberapa senyawa kimia yang telah diketahui berkhasiat obat adalah senyawa terpenoid, skopoletin, xeronine, antrakuinon dan asam askorbat.

Tumbuhan sangat penting tidak hanya sebagai bahan sandang, pangan, papan tetapi juga sebagai penghasil bermacam-macam senyawa kimia. Sebagian besar dari senyawa kimia yang diambil dari tumbuhan berupa metabolit sekunder (Mann, 1989). Metabolit sekunder merupakan hasil yang khas dari tumbuhan, dibentuk dan diakumulasikan pada bagian-bagian tertentu dari tumbuhan. Lindsey & Jones (1989) menyatakan bahwa manfaat metabolit sekunder adalah :

1. Sebagai bahan-bahan kimia alami yang bernilai komersial.
2. Berperan sebagai proteksi, digunakan tumbuhan untuk melawan penyakit, serangan serangga atau binatang pemangsanya (predator).

Kultur jaringan yang berdasar pada teori totipotensi memiliki beberapa kegunaan diantaranya adalah untuk mendapatkan tanaman baru dalam jumlah banyak dan dalam waktu yang relatif singkat, yang memiliki sifat fisiologi dan morfologi sama persis dengan tanaman induknya. Selain itu kultur jaringan juga mempunyai manfaat yang besar di bidang farmasi karena dari usaha ini dapat dihasilkan metabolit sekunder sebagai upaya pembuatan obat-obatan (Hendaryono & Wijayani, 1994). Menurut Tabata (1977) keuntungan produksi metabolit sekunder melalui kultur jaringan tumbuhan adalah sebagai berikut :

1. Melalui kultur jaringan tumbuhan dapat dibentuk senyawa yang bermanfaat dalam kondisi terkontrol dan dalam waktu yang relatif lebih singkat.
2. Sel-sel tumbuhan dapat diperbanyak dengan mudah untuk memperoleh metabolit tertentu.
3. Pertumbuhan sel secara otomatis terawasi dan proses metabolisme dapat diatur secara rasional.
4. Hasil produksi yang diperoleh lebih konsisten, baik dalam kualitas maupun kuantitas.
5. Melalui kultur jaringan tumbuhan dapat dibentuk senyawa baru yang tidak terdapat dalam tanaman induknya dan senyawa baru ini mungkin berguna untuk dikembangkan atau dimanfaatkan lebih jauh.
6. Kultur tidak bergantung pada kondisi lingkungan seperti keadaan geografis, iklim, musim dan tidak memerlukan lahan yang luas.

Kultur jaringan tumbuhan yang sering digunakan dalam produksi metabolit sekunder adalah kultur kalus dan kultur suspensi sel (Staba, 1980). Fowler (1983) juga menyatakan bahwa kultur kalus dan kultur sel tumbuhan secara *in vitro* adalah sumber yang potensial untuk produksi metabolit sekunder.

Analisis kualitatif pada tumbuhan meliputi dua tahapan yaitu isolasi/ekstraksi dan identifikasi kandungan sekunder dalam jenis tumbuhan khusus. Analisis ini juga digunakan untuk menentukan ciri senyawa aktif penyebab efek racun atau efek yang bermanfaat. Dalam hal ini cara ekstraksi dilakukan guna melacak senyawa alkaloid tersebut (Harborne, 1987). Terdapat beberapa metoda dan alat yang digunakan dalam analisis kualitatif metabolit sekunder. Salah satunya adalah *Gas Chromatography Mass Spectrometer* (GCMS). GCMS merupakan kromatografi gas yang digabung dengan alat spektroskopi massa, kromatografi gas akan memisahkan komponen-komponen dari suatu campuran sedangkan spektroskopi massanya mengkarakteristik masing-masing komponen tersebut. Alat ini sering digunakan untuk penentuan identifikasi alkaloid. Kelebihan dari alat ini yaitu dapat menganalisis sampel dalam jumlah sedikit bahkan dalam skala mikrogram. Alat ini juga memiliki kemampuan untuk menentukan bobot molekul dengan tepat sehingga dapat menghasilkan pola fragmentasi yang khas untuk senyawa tertentu (Harborne, 1987). Oleh karena metoda ini menggunakan gas bertekanan tinggi maka pemisahan dengan kromatografi gas sangat cepat dilakukan (Hendayana, 1980).

Metode Penelitian

Metode penelitian yang dilakukan bersifat eksperimen. Penelitian dilakukan di Laboratorium Fisiologi Tumbuhan Jurusan Biologi FPMIPA Universitas Pendidikan Indonesia. Eksplan yang digunakan adalah bagian hipokotil dari kecambah tanaman *Morinda citrifolia* (Mengkudu) yang berusia $\pm$ satu bulan. Penambahan Kinetin dengan rentang $0 - 4 \cdot 10^{-1}$ mg/L dan 2,4 D dengan rentang $0 - 4 \cdot 10^{-1}$ mg/L pada medium MS dan penambahan NAA dengan rentang $0 - 5 \cdot 10^{-1}$ M pada medium B-5. Ulangan dilakukan sebanyak 5 kali.

Kombinasi tersebut merupakan modifikasi dari Tewtrakul, *et al.* (1997) dan Zenk, *et al.* (dalam Bajaj, 1988).

Analisis Kualitatif Metabolit Sekunder Menggunakan GCMS

a. Ekstraksi metabolit sekunder dalam kalus

Kalus dikeluarkan dari botol kultur, kemudian diambil sebanyak 4 gr dan diekstraksi. Ekstraksi dilakukan dengan cara menggerus hipokotil atau kalus dengan sedikit etanol, lalu dimasukkan ke dalam tabung reaksi. Campuran tersebut dipanaskan di atas penangas air selama kurang lebih 30 menit kemudian hasilnya disaring dalam keadaan panas ke dalam botol sampel dan dibiarkan agar etanol menguap sebagian (Dimodifikasi dari Simes (dalam Nordin, 1985)).

b. Analisis Kualitatif dengan GCMS

Hasil ekstraksi ini kemudian dianalisis kandungan metabolit sekundernya dengan menggunakan alat GCMS.

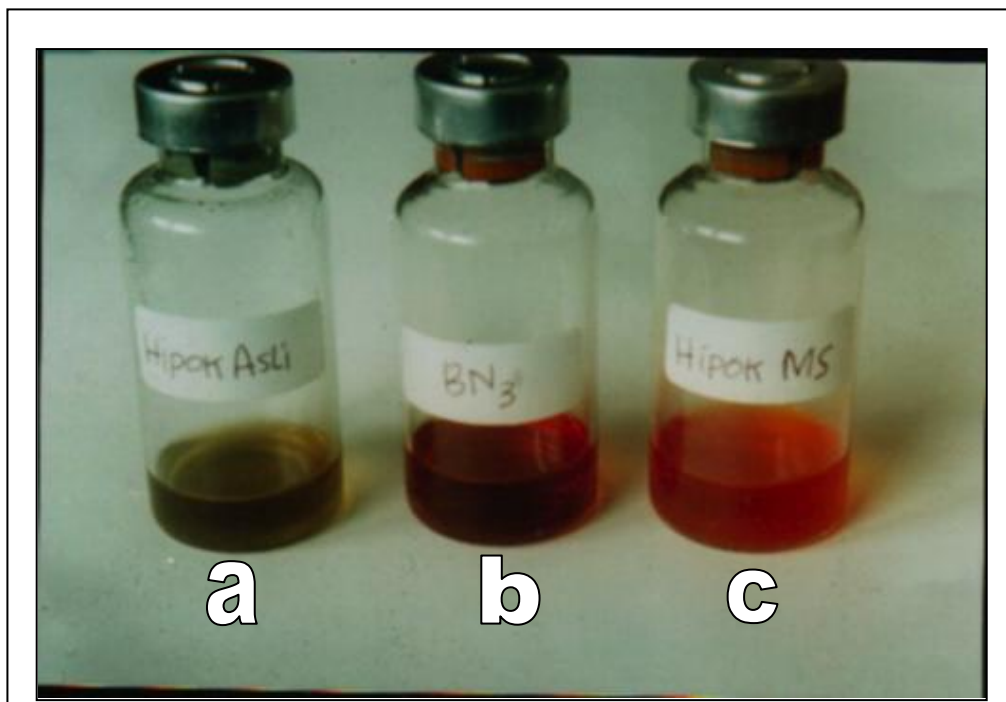
Fraaksi-fraksi hasil kromatografi dianalisis dengan menggunakan GCMS jenis QP-5050 series sebagai berikut:

- | | |
|----------------------------------|-------------------|
| 1. Jumlah sampel yang disuntikan | : 0,2 μ L |
| 2. Detektor GC | : FID |
| 3. Kondisi GC | |
| a. Laju alir | : 3 mL/menit |
| b. Suhu injeksi | : 250 °C |
| c. Suhu Detektor | : 280 °C |
| 4. Fasa Diam | : DB 5M5 |
| 5. Jenis Kolom | : Kapiler |
| 6. Ukuran Kolom | : 30 mm X 0,25 mm |
| 7. Fasa Gerak | : Gas helium |

Pustaka-pustaka yang dipakai yaitu NIST 62. LIB, WILEY 229. LIB dan PESTICID. LIB. Selain kalus, pada penelitian inipun analisis dilakukan terhadap hipokotil yang digunakan sebagai eksplan.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Analisis dengan menggunakan GCMS terhadap hipokotil umur satu bulan sebagai sumber eksplan, kalus yang memiliki pertumbuhan optimum menunjukkan terdapatnya metabolit sekunder yaitu kalus yang dikultur pada medium MS dengan penambahan 1.10^{-1} mg/L 2,4 D dan 3.10^{-1} mg/L kinetin; dan kalus yang dikultur pada medium B-5 dengan penambahan 5.10^{-5} M NAA. Kedua kalus tersebut dianalisis pada umur sembilan minggu, ketika kalus berada pada tahap stasioner. Sebelum dianalisis kalus diekstrak terlebih dahulu (Gambar 1.).



Gambar 1. Hasil Ekstrak Hipokotil *Morinda citrifolia* (a), Kalus pada Medium B-5 (b) dan Kalus pada Medium MS (c)

Gambar 1. di atas menunjukkan bahwa hasil ekstraksi dengan menggunakan pelarut dan langkah kerja yang sama ternyata memberikan hasil berupa warna yang berbeda. Hasil ekstraksi dari hipokotil sumber eksplan, kalus pada Medium B-5 dan kalus pada Medium MS berturut-turut berwarna hijau, coklat tua dan coklat kemerahan. Perbedaan warna hasil ekstraksi mungkin

disebabkan karena perbedaan kandungan senyawa kimia dalam kalus baik dari segi metabolit primer maupun metabolit sekunder.

Hasil analisis kandungan senyawa pada hipokotil sebagai sumber eksplan dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Analisis Kandungan Senyawa-senyawa Menggunakan GCMS pada Hipokotil *Morinda citrifolia* Umur Satu Bulan

No	Nama Senyawa	Golongan
1	Ethyl 3.alpha., 7.alpha., 12.alpha. -tris (dimethylethylsilyloxy)-5.beta.-cholanoate	Keton
2	Pentadeuteroethane	Hidrokarbon
3	Trimethyl-13-ethoxycarbonyl-3,7,12,14 – tetramethyl-15-propylporphyrin-2,8,18-tripropio	
4	Isomer III,.beta.-benzoyloxyprotoporphyrin-ix dimethyl ester	Alkaloid
5	1-amino-1-ortho-chlorophenyl-2-(2-quinoxaliny)	Alkaloid
6	11,17,21-tris (trimethylsilyloxy)-3,20-di (methoxymino)pregn-4-ene	Steroid
7	Neohexane	Hidrokarbon
8	1-hexene,3,5,5-trimethyl- (CAS) 3,5,5-trimethyl-1-hexene	Hidrokarbon
9	Cyanoacetylene	
10	4-Methoxybiphenyl-d5	Eter

Hasil analisis kandungan senyawa pada hipokotil sebagai sumber eksplan menunjukkan lebih banyak mengandung hidrokarbon, walaupun ditemukan pula sejumlah metabolit sekunder. Metabolit sekunder yang ditemukan pada hipokotil adalah dari golongan alkaloid.

Berdasarkan Tabel 1. dapat dilihat senyawa-senyawa yang terkandung dalam hipokotil *Morinda citrifolia* masih sangat kompleks. Senyawa kompleks ini tentunya akan menyulitkan ketika melakukan proses pemurnian. Berlin (1988) mengemukakan untuk memurnikan senyawa yang kompleks membutuhkan

pemrosesan yang rumit dan harga yang mahal, sedangkan kemurnian dari suatu senyawa sangat dibutuhkan dalam usaha produksi metabolit sekunder yang akan digunakan sebagai bahan obat atau kebutuhan farmasi.

Hasil analisis kandungan senyawa pada kalus yang ditanam dalam medium MS dengan penambahan 1.10^{-1} mg/L dan 3.10^{-1} mg/L kinetin dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Hasil Analisis Kandungan Senyawa-senyawa Menggunakan GCMS pada Kalus *Morinda citrifolia* yang Ditanam pada Medium MS dengan Penambahan 1.10^{-1} mg/L 2,4 D dan 3.10^{-1} mg/L Kinetin

No	Nama Senyawa	Golongan
1	Cyclohexanol, dodecyl- (CAS) Dodecylcyclohexanol	Alkohol
2	1H-Indene, 2-butyl-5-hexyloctahydro- (CAS) Bicyclo [4.3.0] nonane, 8-butyl-3-hexyl	Hidrokarbon
3	Dibutyl ester of decanedioic acid	Ester
4	1-Heptene, 4-methyl	Hidrokarbon
5	2-Bromoooctane	Alkil halida
6	2-undecene, 5-methyl	Hidrokarbon
7	Aziridinone,1,3 –bis (1,1)-dimethylethyl	Alkaloid

Berdasarkan tabel 2 dapat dilihat bahwa selain mengandung beberapa senyawa hidrokarbon, kalus juga mengandung metabolit sekunder dari golongan alkaloid. Hal ini menunjukkan bahwa selain melakukan pertumbuhan kalus juga melakukan metabolisme sekunder untuk membentuk metabolit sekunder. Berdasarkan kurva tumbuh dimana kurva tersebut menunjukkan pertambahan berat basah kalus yang cukup besar dari umur 1-8 minggu, menunjukkan bahwa pada umur tersebut kalus mengalami pertumbuhan.

Terdapatnya metabolit sekunder dalam kalus seperti yang dikemukakan oleh Zenk (dalam Bajaj, 1988) bahwa kemampuan sel tanaman *in vitro* untuk

mensintesis metabolit sekunder disebabkan adanya sifat totipotensi biokimia yang terdapat di dalam sel. Fowler (1983) mengemukakan bahwa hal ini bergantung pula pada kondisi pemeliharaan, bila sel tersebut dipelihara dalam lingkungan yang sesuai maka akan mampu mensintesis metabolit sekunder seperti yang disintesis oleh tanaman induknya.

Hasil analisis kandungan senyawa pada kalus yang ditanam dalam medium B-5 dengan penambahan 5.10^{-5} M NAA tertera pada Tabel 3. di bawah ini.

Tabel 3. Hasil Analisis Kandungan Senyawa-senyawa Menggunakan GCMS pada Kalus *Morinda citrifolia* yang ditanam pada Medium B-5 dengan Penambahan 5.10^{-5} M NAA

No	Nama Senyawa	Golongan
1	Beta.-ionone epoxide	
2	(mesyloxy) methyl 2-furanyl ketone	Keton
3	(cis)-4,5-dimethyl-N-methyl 1,3-dioxolan-2-imine	Alkaloid
4	1-(pent-4-ynyl) pyrano [3,4-b] indol-3-one	Alkaloid
5	Morpholine,4-5,5-dimethyl-3-(1-methylethylidene)-1-cyclohexen-1-yl	Alkaloid

Berdasarkan Tabel 3. dapat dilihat kalus mengandung lebih banyak metabolit sekunder dibandingkan metabolit primer. Metabolit sekunder yang banyak ditemukan adalah dari golongan alkaloid. Alkaloid ini merupakan salah satu kelompok metabolit sekunder tumbuhan yang banyak diteliti untuk pengadaan bahan baku obat.

Banyaknya senyawa alkaloid yang terkandung dalam kalus pada medium B-5 dengan penambahan zat pengatur tumbuh 5.10^{-5} M NAA mengakibatkan pertumbuhan kalus lambat. Dari kurva diketahui bahwa pertambahan berat basah

kalus dari 0-8 minggu relatif lebih sedikit bila dibandingkan dengan pertumbuhan kalus yang dikultur pada medium MS. Lindsey & Yeoman (1983) menyatakan bahwa terhambatnya pertumbuhan pada kultur yang menghasilkan metabolit sekunder kemungkinan disebabkan terjadinya kompetisi antara metabolisme primer dengan metabolisme sekunder untuk memperebutkan prazat yang sama.

Salah satu senyawa golongan alkaloid yang ditemukan pada kalus yang ditanam pada medium B-5 dengan penambahan zat pengatur tumbuh 5.10^{-5} M NAA adalah morpholine. Morpholine merupakan senyawa yang biasanya digunakan untuk insektisida dan herbisida, selain itu digunakan pula dalam produksi kosmetik (Robins, 1997). Senyawa morpholine ini belum ditemukan pada tanaman *Morinda citrifolia*, hal ini sesuai dengan pernyataan Fowler (1983) bahwa metode kultur jaringan dapat digunakan untuk memproduksi senyawa kimia yang biasa dihasilkan oleh tumbuhan asalnya, selain juga dapat mensintesis senyawa baru dari tanaman yang sulit tumbuh dan sumber penghasil senyawa kimia yang tidak dihasilkan oleh induknya. Berdasarkan hasil penelitian ini, kultur jaringan dapat digunakan sebagai alternatif dalam memproduksi metabolit sekunder yang bermanfaat.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan mengenai analisis kualitatif metabolit sekundernya, dapat diambil kesimpulan bahwa hasil analisis kualitatif kalus *Morinda citrifolia* yang berwarna coklat karena penambahan 1.10^{-1} mg/L 2,4 D dan 3.10^{-1} mg/L Kinetin (Medium MS) dan dengan penambahan 5.10^{-5} M NAA (Medium B-5) menunjukkan terdapat senyawa dari golongan alkaloid.

.

DAFTAR PUSTAKA

- Bajaj, Y.P.S. 1988. *Biotechnology in Agriculture and Forestry 4, Medicinal and Aromatic Plants I*. Springer Verlag. New York, London, Paris: Berlin Heidelberg.
- Bangun, A.P. & Sarwono, B. 2002. *Khasiat & Manfaat Mengkudu*. Tangerang: Agro Media.
- Fowler, M.W. 1983. *Commercial application and economic aspects of mass plant cell culture*. In: *Plant Biotechnology*. Mantell Smith, H (eds). London: Cambridge Univ. Press.
- Harbone, J. B. 1987. *Metode Fitokimia* edisi Kedua. Bandung: Penerbit ITB.
- Hendaryono, S. & Wijayani, A. 1994. *Teknik Kultur Jaringan*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Hendayana, S. 1980. *Kromatografi Gas*. Modul Kimia UPI.
- Kusdianti. 2005. *Pembentukan Kalus Mengkudu (Morinda citrifolia) yang Mengandung Metabolit Sekunder*. Bandung : UPI. Tidak Diterbitkan
- Lindsey, K. & Jones, M.G.K. 1989. *The Biology of cultured Plant Cells. Dalam: Plant Biotechnology In agriculture*. Open University Press Biotechnology Series. Milton Keynes. P 5-71.
- Lindsey, K. & Yeoman, M.M. 1983. *Novel experimental System for Studying The Production of Secondary Metabolites by Plant Tissue Culture*. In : *Plant Biotech*. Eds. Mantell, S.H & Smith, H. Cambridge University Press. Cambridge.
- Maheswari, H. 2002. *Pemanfaatan Obat Alami Potensi dan Prospek Pengembangan*. BALITRO. Bogor.
- Mann, J. 1989. *Secondary Metabolism 2nd*. Ed. P.W. Atkins, J.S.E. Holker, & A.K. Holiday. Oxford Sciences Publ.
- Manthell & Smith. 1983. *Cultural Factor that Influence Secondary Metabolites Accumulation in Plant Cell & Tissue Culture*. In : *Plant Biotechnology*. Mantell S. H. & Smith (eds). Cambridge: Cambridge Univ. Press.
- Nordin. 1985. *"Aspect of Natural Product Chemistry, Proceeding The Phyto Chemical Survey"*. Dept. Chemistry, UPM Malaysia.

Rukmana, R. 2002. Mengkudu : *Budidaya dan Prospek Agribisnis*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.

Staba, E. J. 1980. *Secondary metabolism and biotransformation*. In : *Plant Tissue Culture as a Source of Biochemical*. Ed. E. J. Staba. Florida: CRC Press, Inc. Boca Raton.

Tabata, M. 1977. *Recent Advances in The Production of Medicinal substances by Plant Tissue Culture*. Dalam: *Plant Tissue Cultures and It's Bio-Technological Applications*. Eds. W. Barz, E. Reinhard, and M.H. Zenk. Berlin: Springer Verlag.

Yuliani, S. 2001. *Prospek Pengembangan Obat Tradisional Menjadi Obat Fitofarmaka*. BALITRO. Bogor.

