

21.  
KOMUNIK

A 20

BALAI PENELITIAN KI  
SURABAYA

A 21  
NO: 30 / 1 / BALAI RISET  
DAN STANDARISASI INDUSTRI

ISOLASI BROMELAIN DARI  
NENAS

DISPERPUSIP JATIM

37  
DEPARTEMEN PERINDUSTRIAN  
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
ANEKA INDUSTRI DAN KERAJINAN

SEPTEMBER 1978

**BALAI PENELITIAN KIMIA  
SURABAYA**

---

**ISOLASI BROMELAIN DARI  
NENAS**

---

DEPARTEMEN PERINDUSTRIAN  
PUSAT PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN  
ANEKA INDUSTRI DAN KERAJINAN

---

SEPTEMBER 1978

P E N D A H U L U A N.

Enzima atau ferment adalah suatu senyawaan organik lazimnya zat putih telur, yang dapat mempengaruhi atau mempercepat suatu reaksi bio kimia, berdasarkan proses kataliser. Berbeda dengan katalisator-katalisator anorganik (logam-logam murni dan sebagainya maka enzima hanya bekerja terhadap reaksi-reaksi dan substrat-substrat spesifik. Jenis reaksi kimiawi yang dipengaruhi oleh enzima hanya terbatas pada reaksi-reaksi hidrolisa oksidasi, reduksi, kondensasi dan isolasi. Aktivitas enzima sangat tergantung pada suhu derajat asam (pH), adanya dan konsentrasi dari ion-ion dan sebagainya.

Secara kimiawi enzima sudah lama diselidiki, tetapi sampai sekarang struktur dari enzima sangat sedikit diketahui orang. Usaha-usaha meningkatkan mutu enzima sampai diperoleh standar yang dikehendaki yaitu aktivitas dan kelarutan yang tinggi masih dilakukan. Untuk pertama kali dalam sejarah: Summer (1926) berhasil mengisolasi enzima urease dalam bentuk kristal. Sejak itu enzima-enzima diusahakan untuk dikristalkan. Beberapa enzima yang berhasil dikristalkan antara lain Trypsin, Chymotryosin, Pepsin dan lain-lain, maka dari itu dalam percobaan penelitian ini ingin dicoba untuk mengkristalkan dan mengetahui aktivitas dari enzima ~~beberapa~~melain yang terdapat dalam nenas.

Ditinjau hasil buah nenas yang melimpah-limpah dari Sumatera Selatan, Kalimantan Selatan, Jawa Barat, Jawa Timur, maka dimungkinkan untuk memanfaatkan buah nenas ini lebih lanjut disamping untuk konsumsi buah-buahan.

Dari pertimbangan dan latar belakang tersebut diatas maka diadakan penelitian pada buah nenas.

## B A B. II

### TINJAUAN PUSTAKA.

#### 1. URAIAN BAHAN:

##### 1.1. Sistematik tanaman:

- Divisio : spermatophyta
- Subdivisio : Angiospermae
- C l a s s : Monocotyledonae
- O r d e : Liliales, farinales,
- Familia : Bromeliaceae
- G e n u s : A n a n a s
- Species : *Ananas comosus* Linn,  
Merr, atau *Ananas*  
*saliva* Schultf.

Beberapa varietas yang dikenal : Smooth Cayeune, Red Spanish, Green Ripley Queen, Red Repley Queen, Abbaka, Blackpene. Bullheat, Sugar Leaf dan San Darke.

##### 1.2. Anatomi dan morfologi tanaman:

*Ananas comosus* Linn, Merr atau *Ananas Sativas* Schultf merupakan herba perennis atau Biennis. Tinggi tanaman 60 sampai 120 cm, berbatang pendek dan tak berkayu. Daunnya tumbuh terkumpul dipangkal batang (Roset akar), bentuk seperti pedang (ensiformis) dengan tepi daun berduri dan berujung lancip. Daunnya kaku bagian tengah lebih tebal dari pada bagian pinggir. Bunganya termasuk bunga majemuk (inflorescentia). Letak bunga terminalis yaitu menggantikan premordia daun.

Bunga nenas dilindungi kelopak bunga yang merah warnanya dan berbentuk seperti sisik ikan. Warna kelopak makin lama makin hilang. Pada ujung bunga terbentuk - daun-daun yang akhirnya menjadi mahkota buah dan merupakan ujung dari tanaman.

Letak ovarium tenggelam (inferior). Buahnya termasuk buah buni yang majemuk, yaitu merupakan kumpulan buah buah yang terdiri atas bagian-bagian tangkai tiap-tiap bunga yang telah berubah bentuk menjadi bola lonjong. Buahnya terbentuk dalam waktu 14 - 12 bulan sejak penanaman, beratnya antara 1,75 - 2,25 kg. dan dapat dipanen sampai selama 8 - 10 tahun.

#### 1.2.1. Hasil tanaman nenas:

##### a. Buah nenas:

Merupakan hasil utama. Buah yang dipanen dari perkebunan besar biasanya diproses lebih lanjut dan menghasilkan buah dalam kalengan, jam dan jelly.

Buah nenas yang masak mengandung :

- a air : 80 - 90 %
- protein : 0,5 %
- gula total: 13% (30% dalam bentuk gula invert, 70% sakarosa).

Vitamin-vitamin tiap 100 g. buah segar mengandung Karotin bernilai.:

0,09 mg. thiamine  
0,02 " riboflamine  
0,10 " niasin  
30 -- 60 mg. vitamin C.

b. Serat nenas:

Merupakan hasil sampingan, yaitu dari daun nenas meskipun pada umumnya serat nenas berasal dari jenis tanaman lain, tetapi yang diusahakan dari jenis Ananas comosus juga ada, yaitu di Filipina dan Formosa. Serat yang diperoleh berwarna putih mengkilap, luwes dan tahan air.

c. Enzima proteolitik:

Terdapatnya enzima di alam ini sangat luas sekali, mulai dari mikro organisme, binatang-binatang dan tanaman-tanaman. Yang diperoleh dari mikro-organisme dan kini masih digunakan misalnya : lipase, hyaluromidase, penicichmase, strop tohimase. Dari tanaman misalnya: papain, ficase, bromelain dan dari binatang mis : pepsin, remin, crepsin, pancreatin dan lain-lain. Penggunaan enzima khususnya enzima proteolitik saat ini meningkat sekali baik di bidang industri maupun farmasi.

- Dalam bidang industri:

a. Untuk pelunak protein:

Tehnologi bahan makanan merupakan faktor yang penting dalam memperbaiki mutu makanan baik untuk usaha-usaha mengawetkan maupun merubahnya sehingga lebih mudah dicernakan oleh manusia.

Oleh sebab itu enzima proteolitik banyak digunakan dalam industri daging kalengan, sebagai zat pelunak daging ( tenderizing of meat ).

b. Industri minuman:

Pemakaian enzima proteolitik dalam industri minuman bir. dimaksud untuk menghidrolisa kompleks proteina-tanin, sampai tahap terbentuknya polipeptida. Selanjutnya polipeptida-polipeptida yang terbentuk akan memberikan bau yang khas, dan bersifat mempertahankan busa, seperti yang dikehendaki oleh minuman bir yang bermutu.

Selama ini masih digunakan papain untuk memenuhi kebutuhan industri bir,

c. Industri cat :

Pemakaian enzima proteolitik menurut Ronai dan Weisbert untuk memperbaiki stabilitas sistim emulsi cat.

Dalam bidang farmasi:

Digunakan antara lain sebagai :

- a. Obat pembantu pencernaan makanan.
- b. " pembersih luka-luka secara selektif yaitu mencernakan jaringan-jaringan yang sudah mati - tanpa merugikan jaringan-jaringan yang sehat.
- c. Obat cacing, yaitu mencernakan protein cacing.
- d. Obat anti radang yaitu menghilangkan bengkak-bengkak.

Seperti diketahui tanaman nenas mengandung enzima proteolitik yang disebut Bromelain.

### 1.3. Bromelain :

Bromelain adalah suatu campuran enzima-enzima proteolitik diperoleh dari tanaman Ananas comosus , yang mempunyai sifat mencerna protein dan menggumpalkan susu. Bromelain merupakan enzima proteolitik -- yang baru dan masih terus dalam penelitian untuk di produksi secara komersil maupun dalam penggunaannya, mengingat kebutuhan akan enzima proteolitik makin -- lama makin meningkat.

Bromelain dalam tanaman nenas terdapatnya dalam bentuk bebas hampir tersebar diseluruh bagian-bagian -- tanaman yaitu dibatang daun dan buah. Bromelain yang diperoleh dari batang tanaman disebut Bromelain batang ( Stern Bromelain ).

Telah pernah diadakan penelitian terhadap batang nenas, tentang kemungkinan terdapatnya Bromelain didalamnya. Destribusi Bromelain dalam batang nenas tidak merata dan tergantung dari umur tanaman. Dalam jaringan-jaringan yang belum tua, terutama yang bergetah, sangat sedikit bahkan kadang-kadang tidak -- ada sama sekali. Bagian tengah ( stele ) mengandung -- Bromelain lebih banyak jika dibandingkan dengan bagian tepi ( cortex ).

Aktivitas optimum Bromelain terhadap proteina-proteina hemoglobin, casein dan putihnya telur ( egg-albumin) pada pH : 7 sedang pada susu segar pada pH : 6,2.

1.3.1. Sifat-sifat fisika dan kimia Bromelain:

Sinonim dari Bromelain adalah Bromelain, Pineapproph concentrate dan Ananase.

Merupakan serbuk amorf, warna putih sampai kekuning-kuningan, dengan bau khas. Larut sebagian dalam air, tidak larut dalam acetone, etanol, eter dan chloroform stabil pada pH: 3,0 - 5,5. pH optimum : 6,0 - 8,0.

1.3.2. Isolasi Bromelain dari buah nenas:

Buah nenas dibusukkan dari kulitnya tumbuk halus dan peras. Dari cairan sari buah yang diperoleh dapat diendapkan Bromelainya dengan menggunakan pereaksi-pereaksi sebagai berikut : etanol, aseton, metil etil keton, metanol, isopropanol dan larutan amonium sulfat. Pisahkan endapan yang terbentuk dengan pemusingan dan keringkan.

1.3.3. Identifikasi enzima proteolitik tanaman.

Identifikasi enzima proteolitik tanaman dapat dilakukan dengan menggunakan substrat-substrat antara lain casein dan putihnya telur ( egg albumin ).

a. Substrat casein:

Diatas permukaan agar plate dari casein yang telah didapar pada pH netral, diberi enzim proteolitik yang akan diteliti.

Setelah diinkubasikan pada suhu  $37^{\circ}\text{C}$ , agar plate dari casein diwarnai dengan memakai pewarna dari Poricaea. Maka daerah yang tak terwarnai dari agar plate dari casein merupakan daerah - dimana casein telah dicernakan oleh enzima.

b. Substrat putihnya telur ( egg-albumin ).

Dibuat suspensi dari enzima proteolitik dalam air suling dan didapar pada pH.7. Kedalamnya - dimasukkan putihnya telur yang telah direbus. Disamping itu dilakukan percobaan perbandingan dengan menggunakan putihnya telur yang dimasukkan dalam air suling yang mengandung larutan - dapar pH.7. Dengan adanya enzima proteolitik - maka putihnya telur akan habis tercerna.

1.3.4. Penetapan aktivitas dari enzima proteolitik:

Untuk mengukur aktivitas suatu enzima proteolitik dapat digunakan metoda-metoda :

(a). Berdasarkan perubahan sifat fisik dari -- substrat antara lain :

- Kekentalan, diukur memakai alat Viscosi meter.

- Rotasi dapat diukur memakai Polarimeter
- Isi, diukur memakai alat Dilatometer.
- Pembentukan gumpalan, diukur memakai alat pengukur waktu.

(b). Berdasarkan habisnya substrat dan terbentuknya peptida-peptida antara lain :

- Kekoruhan, diukur serapan sinar ultra violet,
- Indeks bias, diukur memakai Refraktometer,

Diantara metoda-metoda yang paling sederhana adalah metoda yang didasarkan atas pembentukan gumpalan (cara Nicholas) menurut metoda ini.

Susu sapi segar dipusingkan selama 30 menit lapisan verium yang terbentuk diatasnya dibuang dan cairan dibawahnya dibagi-bagi dalam volume 2,5 ml, dalam tabung reaksi. Kedalamnya masing-masing ditambahkan 2,5 ml, larutan dapar fosfat pH: 6,2 dan diinkubasikan pada suhu 37°C dalam penangas air. Kedalam tiap-tiap tabung ditambahkan larutan enzima proteolitik dengan konsentrasi yang berbeda beda dari 0,4 % - 1,0 % sebanyak 5 ml. Sampai waktu terbentuknya gumpalan, diukur waktunya dengan memakai stop-watch.

Beberapa hasil percobaan penentuan aktivitas dengan memakai tablet ananase dalam satuan (unit) tiap 10 ml. larutan :

100.000	s/10 ml.	: 6 detik
90.000	s/10 ml.	: 7,3 detik
85.000	s/10 ml.	: 10 detik
80.000	s/10 ml.	: 93 detik
76.000	s/10 ml.	; 150 detik.

### B A B. III

## P E R C O B A A N.

#### 1. Bahan percobaan, alat-alat, pereaksi:

Bahannya, buah nenas segar yang diperoleh dari beberapa pasar di Surabaya, antara lain pasar Wonokromo dan Kepu tran. Buah dipilih yang hampir masak.

##### 1.1. Alat-alat percobaan:

###### (a). Untuk isolasi:

- labu Erlenmeyer 1000 ml.
- labu Erlenmeyer 250 ml.
- gelas piala 1000 ml.
- c o r o n g.
- gelas ukur.
- kertas saring.
- kain kasa.
- pipet volume.
- eksikator.
- alat pemusing (centrifuge).
- neraca analitik.

###### (b), Untuk penentuan aktifitas:

- gelas piala 1000 ml.
- tabung-tabung reaksi.
- thermometer.
- pH meter.
- stop-watch.
- neraca analitik.

## 1.2. Bahan-bahan percobaan, pereaksi:

- buah nenas segar.
- susu sapi murni segar.
- telur rebus.
- etanol 95 %
- a s e t o n.
- natrium fosfat
- natrium dihidrogen fosfat.
- air suling.

## 2. Pemeriksaan kwalitatip bahan:

Merupakan pemeriksaan langsung untuk mengetahui adanya enzima proteolitik dalam bahan untuk pemeriksaan ini dilakukan 2 cara :

(a). Buah nenas segar dipotong melintang. Diatas permukaan irisan buah diletakkan irisan tipis dari putihnya telur itik yang telah direbus. Setelah kira-kira tiga jam diadakan pemeriksaan terhadap tepi irisan putihnya telur tersebut, baik secara visuil atau kalau perlu secara mikroskopis.

Adanya enzima proteolitik, tepi dari irisan telur akan tidak rata.

(b). Buah nenas segar yang telah dibersihkan dari kulit - buah, diparut untuk diambil air sari buahnya. Hasil pamarutan, diperas dengan pertolongan kain kasa rangkap dua cairan yang diperoleh kira-kira 10 ml. dimasukkan kedalam tabung reaksi yang telah diisi 50 mg. potongan-potongan kecil putihnya telur itik yang telah direbus. Adanya enzima proteolitik maka potongan

potongan dari putihnya telur akan habis tercerna.

### 3. Isolasi Bromelain dari buah nenas:

Buah nenas segar yang telah dibersihkan dari kulit-  
b u a h , diparut untuk diambil air sari buahnya. Hasil pe-  
marutan, diperas dengan pertolongan kain kasa rangkap dua,  
cairan yang diperoleh disaring kertas saring melalui corong  
Buchner dengan pertolongan pompa penghisap. Cairan yang di-  
peroleh dibagi-bagi dalam volume sebanyak 50 g.

Kemudian kedalamnya ditambahkan etanol (95 %) atau acetone  
sebagai berikut :

Untuk tiap kelompok dilakukan lima kali percobaan .

#### (a). Dengan etanol ( 95 % ).

Kelompok I diisi dengan etanol 50 ml.

" II diisi dengan etanol 75 ml.

" III diisi dengan etanol 100 ml.

" IV diisi dengan etanol 125 ml.

" V diisi dengan etanol 150 ml.

#### (b). Dengan aseton:

Kelompok I diisi dengan aseton 50 ml.

" II diisi dengan aseton 75 ml.

" III diisi dengan aseton 100 ml.

" IV diisi dengan aseton 125 ml.

" V diisi dengan aseton 150 ml.

Kemudian campuran didiamkan ditempat yang sejuk (dibawah  
kran air) selama empat hari.

Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan jalan menyaring  
dengan kertas saring. Endapan yang diperoleh dikeringkan  
dalam eksikator. Hasil yang diperoleh ditimbang sampai di-  
dapat bobot yang tetap.

4. Identifikasi enzima proteolitik hasil isolasi:

Enzima proteolitik hasil pemisahan ditimbangkan 400 mg. disuspensi dengan 5 ml. air suling. Suspensi di buat 10 ml, dengan menambahkan larutan dapar fosfat pH. 7. Kedalamnya dimasukkan 50 mg. potongan-potongan kecil putihnya telur yang telah direbus.

Dengan adanya enzima proteolitik maka putihnya telur akan habis tercerna.

5. Penentuan aktivitas dari Bromelain hasil pemeriksaan:

Untuk mengetahui aktivitas Bromelain hasil pemisahan dilakukan menurut metoda Nicholas.

Waktu mulai ditambahkannya larutan Bromelain sampai terbentuknya gumpalan, pada tiap-tiap percobaan dicatat waktunya dengan stop-watch.

## B A B. IV

### H A S I L D A N D I S K U S I.

Penelitian-penelitian yang telah dilakukan meliputi :

#### 1. Pemeriksaan adanya Bromelain dalam buah nenas:

1.1. Hasil percobaan ini tidak menunjukkan adanya perubahan perubahan pada tepi irisan putihnya telur. Hal ini mungkin disebabkan karena :

- suhu dan derajat keasaman dari percobaan tidak sesuai.
- waktu yang dilakukan dalam percobaan kurang lama.
- Tidak adanya kandungan protein dalam buah.

1.2. Hasil percobaan, menunjukkan semua putihnya telur ha bis tercerna dalam waktu 48 jam.

Meskipun waktu hancur/tercernanya putih telur ini cukup lama, masih menunjukkan terdapatnya kandungan -- Bromelain dalam bahan.

#### 2. Isolasi Bromelain dari buah nenas:

Dalam percobaan isolasi Bromelain dari bahan digunakan dua macam pereaksi yaitu etanol 95 % dan aseton. Pemakaian kedua macam pereaksi ini dalam percobaan diatas didasarkan atas segi ekonomi dan mudah didapatkan -- serta berdasarkan sifat fisik dari enzim tersebut dimana enzim tersebut larut dalam air tapi tidak larut dalam al kohol dan aceton sehingga dapat dikristalkan/diendapkan. Ternyata dalam percobaan tersebut ada pengaruh jenis dan jumlah pereaksi terhadap jumlah pembentukan endapan Bromelain. Makin banyak pereaksi yang dipakai, makin banyak

pada endapan Bromelain yang terbentuk (lihat Tabel). Tapi pada permulaan pereaksi 125 ml, 150 ml. dan 175 ml. Kenaikan jumlah endapan tidak menunjukkan hasil yang positif, malah dalam beberapa percobaan hasil malah menurun. Atau dengan kata lain setelah penambahan pereaksi etanol 95 %, 125 ml. akan diperoleh endapan Bromelain dengan bobot hampir sama, jadi untuk memperoleh bobot maksimum dari Bromelain yang diendapkan dari 50 gram sari buah nenas dibutuhkan etanol kira kira 175 ml. Sedangkan pada pemakaian aseton, dibutuhkan kira-kira 150 ml. Dan jumlah endapan Bromelain yang diperoleh dan pereaksi aseton jauh lebih banyak dari jumlah endapan dengan memakai pereaksi alkohol.

TABEL: I Bobot Bromelain (mg) yang diperoleh dari 50 gram sari buah nenas dengan memakai alkohol.

No.	A L K O H O L					
	50	75	100	125	150	175
1	138,1	267,7	339,5	382,5	391,3	392,4
2	138,3	256,3	278,2	302,1	355,1	361,4
3	198,8	169,2	202,6	228,4	225,0	232,4
4	134,2	178,7	296,0	330,3	344,2	352,4
5	140,3	182,0	302,4	359,4	362,4	368,2
$\bar{x}$	129,94	200,78	284,78	324,54	338,6	342,48
$\Sigma \bar{x}$	649,7	1003,9	1423,7	1629,7	1678	1712,4

$\bar{x}^2$	85653,67	207909,3	474815,01	571625,67	579644,1	602817,52
SD	17,54	35,64	43,92	54,74	57,45	57,19

**TABEL: II:** Bobot Bromelain (mg) yang diperoleh dari 50 gram sari buah nenas dengan memakai acetone.

No.	A C E T O N					
	50	75	100	125	150	175
1	375,9	447,9	450,4	537,2	559,3	548,5
2	337,9	482,5	556,1	591,5	619,0	598,6
3	276,2	358,1	394,9	547,9	558,5	550,2
4	352,4	442,8	512,0	554,8	591,3	590,2
5	370,8	462,8	504,8	558,2	602,4	592,3
$\bar{x}$	342,14	438,82	483,64	557,42	584,7	575,9
$\sum \bar{x}$	1713,2	2194,1	2418,2	2789,6	2923,5	2879,8
$\sum \bar{x}^2$	592442,06	971911,95	1185020,4	1558040,7	1711804,1	1661049,5
SD	35,86	42,65	55,04	18,20	22,06	21,90

3. Identifikasi enzima proteolitik hasil isolasi:

Ternyata semua putihnya telur habis **tercerna** dalam waktu 48 jam. Pada percobaan perbandingan yang hanya menggunakan campuran air suling dan larutan dapar fosfat pH.7. dengan volume yang sama sebanyak 10 ml. tidak menunjukkan adanya perubahan-pe

robahan yang berarti dari potongan-potongan putihnya telur. Terlihat waktu pencernaan dari larutan/suspensi Bromelain terhadap proteina dari putihnya telur masih cukup lama, maka hal ini mungkin disebabkan suhu dari percobaan kurang sesuai, atau kepekatan dari Bromelain yang dari dipakai masih terlalu kecil.

4. Penentuan aktivitas Bromelain hasil isolasi:

Dipakai metoda NICHOLAS,

Dalam percobaan digunakan 10 ml. larutan/suspensi Bromelain yang didapar dengan larutan dapar fosfat pH. 6,2. Kepekatan dibuat dari 0,4 - 1,0 %. Ternyata pada kepekatan dari 0,5 - 1,0 % masih dapat dituangkan aktivitas dari Bromelain. Makin tinggi konsentrasi makin besar aktifitasnya.

Hal ini dapat ditunjukkan dengan cepatnya waktu penggumpalan. Tabel dibawah menunjukkan hasil percobaan penentuan aktivitas dari Bromelain yang telah dipisahkan.

TABEL : Hasil percobaan penentuan aktivitas.

No.	Konsentrasi larutan %	Waktu menit
1	0,5	5,8
2	0,6	4,6
3	0,7	3,6
4	0,8	3,0
5	0,9	2,4
6	1,0	1,6

## B A B. V

### KESIMPULAN DAN SARAN.

1. Bromelain yang diperoleh berbanding lurus dengan jumlah pelarut yang digunakan dan akhirnya diperoleh harga maksimum.
2. Buah nenas yang diperoleh untuk percobaan isolasi ini, tidak membedakan jenis tanaman dan umur buah nenas, maka masih perlu diadakan penelitian lebih lanjut tentang kemungkinan adanya perbedaan kadar Bromelain.
3. Percobaan isolasi Bromelain hanya dilakukan dengan memakai etanol dan aseton, maka perlu dijadikan obyek penelitian lebih lanjut tentang pemakaian bahan-bahan/pereaksi kimia yang lain untuk mengetahui pereaksi mana yang lebih baik untuk isolasi Bromelain.
4. Hasil isolasi Bromelain belum diperiksa kemurniannya, tetapi aktivitas dan bermacam-macam konsentrasi telah dapat ditunjukkan.
5. Kadar yang diperoleh masih dihitung dari bobot sari buah hasil perasan memakai tangan, maka dianjurkan untuk melanjutkan penelitian ini dengan memakai alat perasan mekanik, sehingga diperoleh kadar yang mendekati dari keseluruhan bobot buah.

B A B. VI.

DAFTAR PUSTAKA.

1. BENSON.L,  
Plant Classification. D.C.Heath and Company.  
Lexington. Massachusetts 1959.
2. COLOWICK and KAPLAN,  
Methods in Engymology Vol.II.  
Academic Press Inc, Publisher. New York.1955.
3. ENSYKLOPAEDIE BRITANNICA Vol. 17.  
Publisher. Chicago. London.Toronto. 1960.
4. ENSIKLOPEDIA INDONESIA, M.Van. Hoeve, Bandung.
5. HEINECKE R.M. CORTNER W.A,  
Chemical Abstract. Department of Chemistry.  
Princepple Research Instutute of Hawaii,  
Honolulu. Economic Botany. Vol. 11. 1957.
6. HILL A.F,  
Economic Botany. A. Textbook of Useful  
Plants and Plant Products. Second. Edition.  
Kogakusha Company Ltd. Tokyo, 1952.
7. NELSON. A,  
Medical Botany. E. & S. Levingstone Ltd.1951.
8. NICHOLS. M.E. MARCH W.L,  
Chemical Abstract Vol.64. The American  
Chemical Society. Echio May, 1977.
9. TAN HOAN TJAY. Drs. TJOA KIAN KTE Drs,  
Obat-obat penting.  
Kashiat dan Penggunaannya.

9. TAN HOAN TJAY Drs. TJOA KIAN KIE Drs.,  
Obat-obat penting.  
Kashiat dan Penggunaannya.

10. TJITROSUPOMO C. Ir.,  
Marphologi tumbuh-tumbuhan.  
Diterbitkan oleh Soeharto.  
Kepala T.U. Fak. Biologi UNIV.  
Gajah Mada Yogyakarta. 1970.

DISPERPUSIP JATIM