LAPORAN PENELITIAN

ANALISA SECARA MIKROSKOPIS DAN KIMIA OBAT ASLI INDONESIA (TRADISIONIL) YANG DIPAKAI SEBAGAI ANALGETIKA

oleh :

SOEMADI
WAHJO DYATMIKO
NOOR CHOLIES
GUNAWAN INDRAYANTO
NOOR IFANSYAH

FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS AIRLANGGA

1978

DIP 1977/1978.

Laporan Penelitian Pelita 1977 - 1978.

ANALISA SECARA MIKROSKOPIS DAN KIMIA OBAT ASLI INDONESIA (TRADISIONAL) YANG DIPAKAI SEBAGAI ANALGETIKA.

Oleh :

Soemadi
Wahjo Dyatmiko
Noor Cholies
Gunawan Indrayanto
Noor Ifansyah

FAKULTAS FARMASI UNIVERSITAS AIRLANGGA

1978

PENDAHULUAN.

1. Umum.

Sudah sejak zaman dahulu obat asli (tradisional) dikenal dan dipergunakan oleh masyarakat umum. Pada saat ini penggunaannya dan peredarannya mengalami kemajuan yang pesat, nampak dari distribusi yang makin merata sampai kepelosok-pelosok, dari segi perdagangan kelihatan dari volume penjualan yang makin meningkat dari tahun ketahun.

Dengan makin bertambahnya volume peredaran obat asli Indonesia akan timbul masalah-masalah yang perlu dicarikan langkah-langkah untuk mengatasinya.

Problema-problema tersebut dapat dikelompokkan menjadi beberapa bagian antara lain :

(1) Apakah benar obat asli yang dipakai mempunyai khasiat seperti yang diharapkan. Untuk mengatasi masalah ini diperlukan penelitian farmakologis.

(2) Segi keamanan dari pemakaian obat asli terhadap kerja sampingan, keracunan akut dan keracunan khronis yang diakibatkan oleh pemakaian obat asli yang terus-menerus dalam jangka waktu yang cukup lama.

(3) Segi kontrol kualitas, untuk melindungi konsumen terhadap adanya pemalsuan, penggantian ataupun penambahan bahan-bahan yang dapat membahayakan/merugikan sipemakai.

(4) Pemberian informasi yang berlebihan dalam rangka sales - promotion yang sering kali merupakan penipuan terhadap konsumen.

(5) Kelestarian sumber alam hayati yang dipakai sebagai obat-asli.

Penelitian ini merupakan satu segi dari kontrol kualitas yaitu mengidentifikasi simplisia penyusun obat asli secara mikroskopis dan kimia.

Ada beberapa pertimbangan yang mendorong dilakukannya penelitian ini :

a) Masih kurangnya penelitian/pengawasan mutu obat asli bila dibandingkan dengan pengawasan mutu obat modern/patent.

b) Masih kurangnya data-data yang dapat dipakai untuk pemeriksaam mutu simplisia dan obat asli, terutama simplisia yang berasal dari tanaman tropis yang tumbuh di Indonesia.

Disebabkan karena lingkup penelitian ini cukup luas dan mengingat banyak sekali macam obat asli yang beredar, maka penelitian dibatasi pada obat asli yang dipakai sebagai analgetika , dimana diharapkan setelah ini penelitian pada macam obat asli lain dapat dilanjutkan.

2. Masalah dan ruang lingkup penelitian.

Simplisia ialah bagian tanaman/seluruh tanaman yang telah dikeringkan pada persyaratan suhu tertentu agar dapat dihindari peruraian kandungannya. Simplisia dapat berupa herba (seluruh-tanaman), folia (daun), radix (akar), semen (biji), fructus (buah), cortex (kulit batang), lignum (kayu), flores (bunga).

Bilamana simplisia diserbuk, maka akan nampak dibawah mikroskop bagian tanaman yang disebut fragmen dengan bentuk yang beraneka ragam, dengan penambahan pereaksi kimia akan memberikan warna tertentu.

Masing-masing simplisia memiliki kekhususan bentuk fragmen, ada yang begitu jelas dan cepat dapat diamati bentuk spesific tersebut ada pula yang perbedaannya tidak mudah untuk dilihat dengan cepat.

Susunan anatomi tanaman/simplisia dibedakan menjadi jaringan dasar (parenkim), jaringan penguat (sklerenkim/sel batu), jaringan pengangkutan (floem/xilem), epidermis, jaringan gabus, rambut penutup glandulair/non grandulair, kutikula. Didalam jaringan tanaman sering ditemui butir pati/aleuron , hablur Calsium oksalat.

Pemakaian simplisia sebagai obat disebabkan adanya kandungan bahan kimia yang memiliki khasiat pengobatan. Untuk memudahkan cara identifikasi, isolasi dan kemungkinan khasiat suatu tanaman, maka farmakognosi membagi kandungan tanaman menjadi beberapa kelompok antara lain : alkaloida, glikosida, minyak atsiri, damar, karbohidrat, minyak lemak, steroida, saponin, tannin.

Tidak seperti obat modern dimana komponen penyusunnya merupakan bahan kimia murni yang sudah tertentu struktur kimianya, maka pada obat asli komponen penyusunnya berupa simplisia/bahan nabati yang kandungannya merupakan bahan kimia dimana struktur kimia serta jumlahnya secara tepat belum diketahui.

Kandungan kimia suatu tanaman/simplisia sangat tergantung pada keadaan geografis, keadaan tanah, umur tanaman, cara pemanenan dan cara pengeringan.

Pada waktu ini analisa simplisia yang paling banyak dilakukan adalah metoda pengamatan mikroskopis, selain murah dan sederhana hasilnya cukup memuaskan.

Cara mikroskopis dikerjakan dengan mengidentifikasi,mengevaluasi fragmen yang khas atau tidak khas dari masing-masing simplisia. Kelemahan cara ini a.l. untuk simplisia dengan fragmen khas yang bersamaan atau untuk simplisia yang hampir tidak memiliki tanda khas yang mudah diamati.

Cara kimia yang dipilih pada penelitian ini adalah cara kromatografi lapisan tipis yang cukup baik bila kita bandingkan dengan cara kromatografi kertas atau spot test. Pada penelitian ini dicoba untuk melakukan kombinasi cara mikroskopis dan kromatografi lapisan tipis untuk menutupi kekurangan yang ada pada kedua cara tersebut. Lingkup penelitian dibatasi pada obat asli yang pada kemasannya dicantumkan komponen penyusun.

TUJUAN PENELITIAN.

1. Mencari data-data mikroskopis simplisia penyusun jamu.
2. Mencari data-data hasil kromatografi lapisan tipis (kromatogram).
3. Hasil evaluasi dari kedua data diatas dipakai sebagai pegangan untuk mengidentifikasi simplisia penyusun atau analisa obat asli dalam rangka pengawasan kualitas obat asli yang beredar dipasaran.

HIPOTESA.

1. Pemeriksaan secara mikroskopis harus dibarengi dengan cara analisa kimia (kromatografi lapisan tipis) untuk identifikasi simplisia penyusun/obat asli .
2. Cara kromatografi lapisan tipis adalah cara yang tepat/efisien untuk mengetahui adanya penambahan/pengurangan simplisia , atau bahan kimia lain pada ramuan jamu.

BAHAN PENELITIAN DAN METODA PENELITIAN.

BAHAN PENELITIAN :

1. Simplisia penyusun obat tradisional.

- Zingiberis Rhizoma
- Zingiberis Cassumnar Rhizoma
- Curcuma Rhizoma
- Curcuma domesticae Rhizoma
- Zingiberis amaricans Rhizoma
- Galangae Rhizoma
- Kaempferiae pandurati Rhizoma
- Colae Semen
- Myristicae Semen
- Piperis nigri Fructus
- Cubebae Fructus
- Retrofracti Fructus
- Sappan Lignum
- Cinnamomi Cassiae Cortex
- Helicteris isorae Fructus
- Phyllanthi niruri Folia
- Biglobosae Semen
- Belericae Semen
- Equiseti Herba
- Blumeae Folium
- Glycyrrhizae Radix

2. Obat Tradisionil dari tiga pabrik : A, B dan C.

METODA PENELITIAN.

1. Pemeriksaan secara mikroskopis.

1.1. preparat dalam air untuk melihat butir amilumm kristal Ca. oksalat.

- preparat dalam chloralhydrat, untuk menjernihkan sehingga fragmen dapat jelas nampak.

1.2. Pewarnaan preparat.

- Pereaksi Solutio Yodii, untuk pereaksi amilum.
- Pereaksi phloroglusin-HCl., fragmen mengandung zat - kayu akan berwarna merah : sel batu, sklerenkim, berkas pembuluh, gabus.
- Pereaksi Sudan III.

  Minyak lemak/atsiri berwarna merah.

2. Pemeriksaan secara kromatografi lapisan tipis.

2.1. Minyak atsiri.

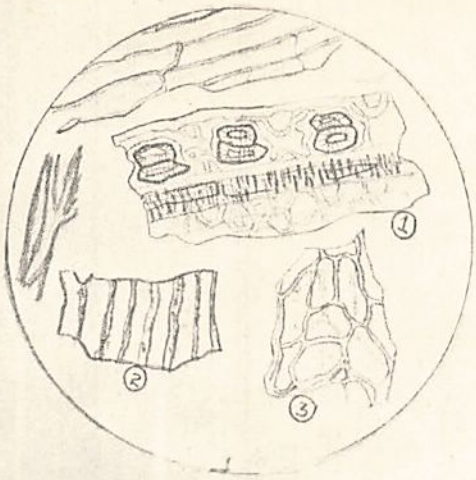
Fase diam	: Kieselgel GF. 254 precoated E.Merck.
Fase bergerak	: Benzen Benzen - Chloroform = 1 : 1
Penampak noda	: Vanillin-H_2SO_4, panaskan 110° 5' Anisaldehide-H_2SO_4, panaskan 110° 5'

2.2. Zat warna.

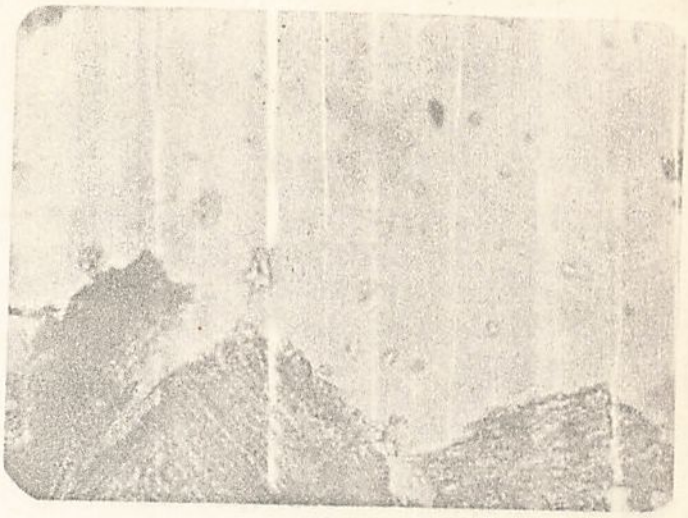
Fase diam	: Kieselgel GF. 254 precoated E.Merck.
Fase bergerak	: Benzen-Chloroform-Etanol =45:45:10
Penampak noda	: Asam borat-asam sulfat-metanol.

HASIL PENELITIAN.

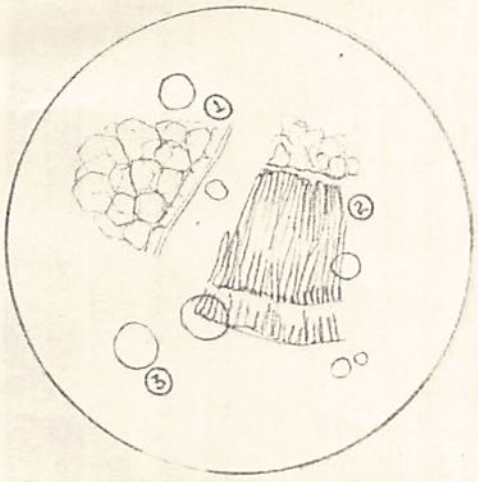
Equiseti Herba.



1. Stomata
2. Fragmen dari biji



Biglobosae Semen

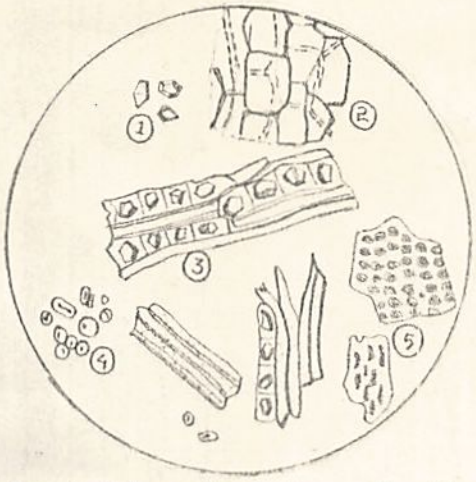


1. endosperm
2. epicarp
3. gelembung/tetes minyak

Sappan Lignum

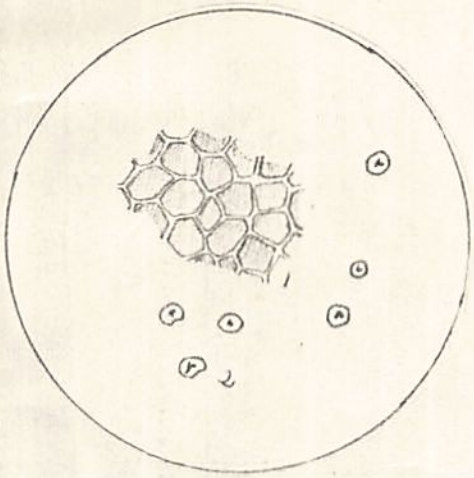
1. -2.-4. sklerenkim
3. berkas pembuluh

Glycyrrhizae Radix



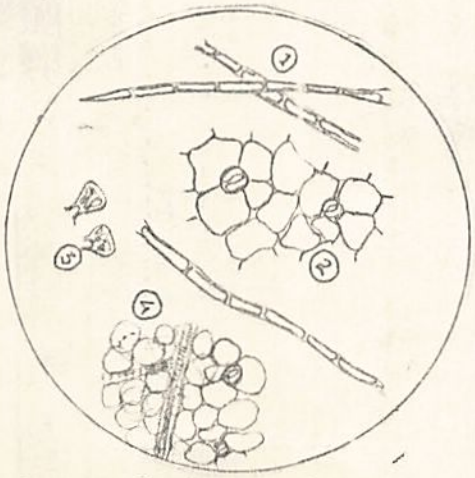
1. hablur kalsium oksalat
3. serabut kristal
2. parenkim
4. pati
5. berkas pembuluh

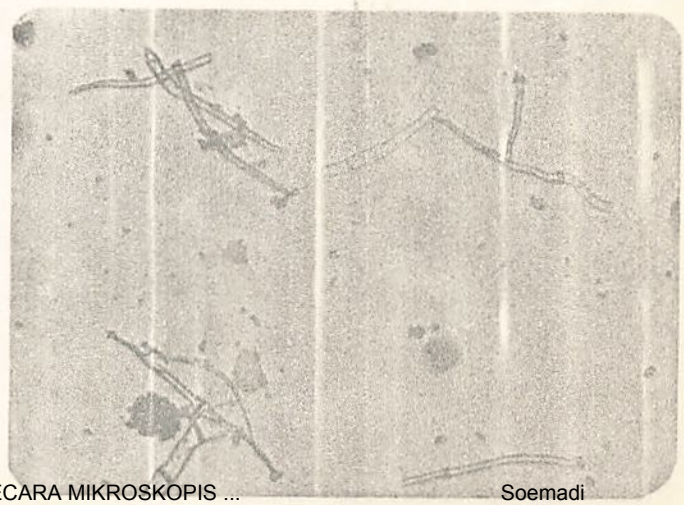
Colae Semen



1. endosperm
2. pati

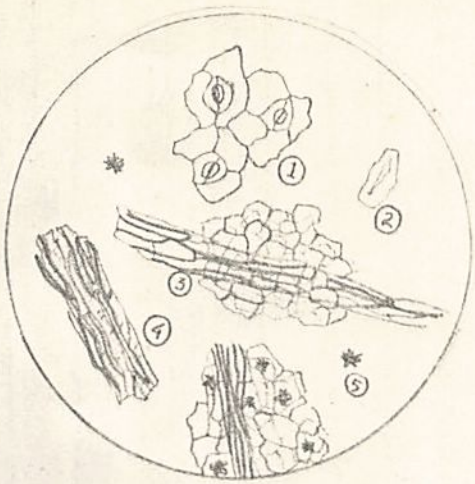
Blumeae Folium





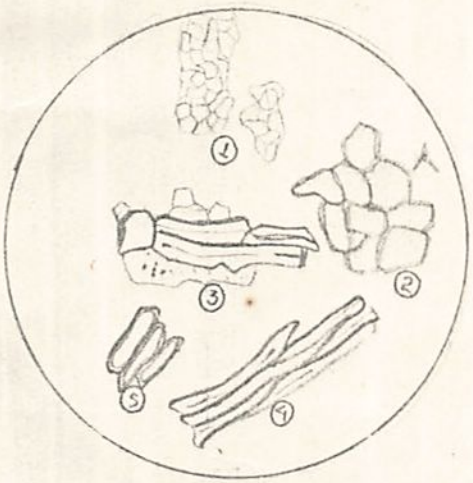
1. rambut penutup
2. stomata
3. rambut kelenjar
4. parenkim dg. tulang daun

Phyllanthi niruri Folium



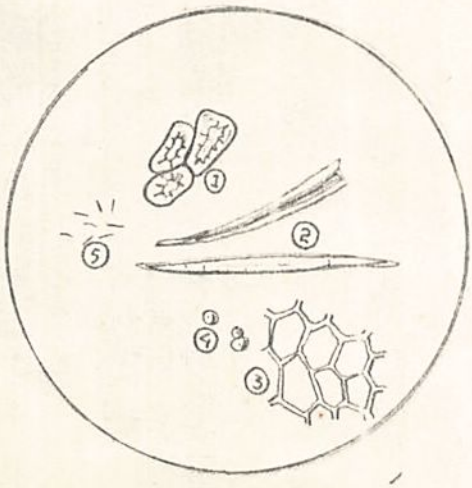
1. stomata
2. -4. fragmen dari buah
3. parenkim dg. hablur kalsium oksalat

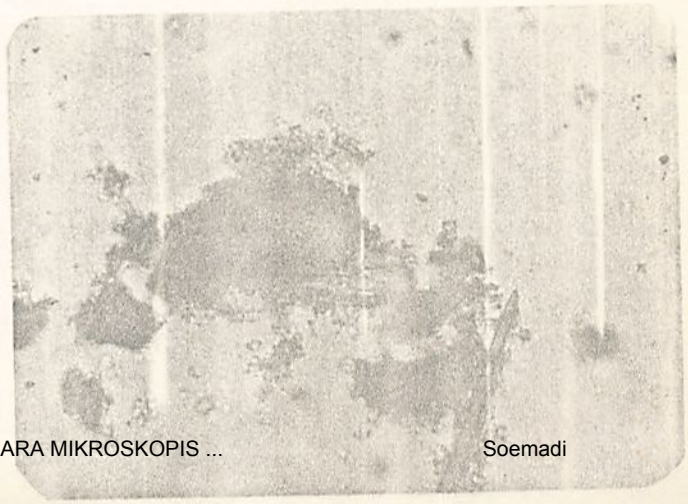
Belericae Semen



1. endosperm
2. perisperm
3. -4. -5. sklerenkim

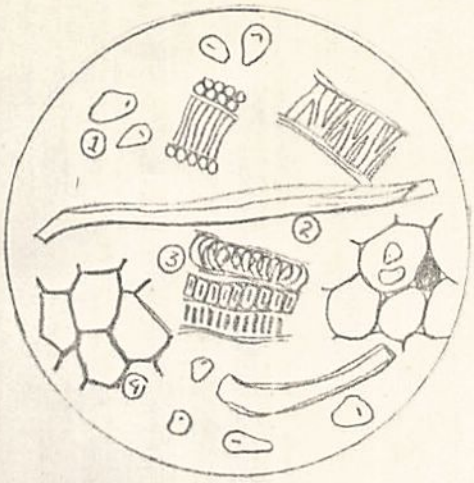
Cinnamomi Cassiae Cortex

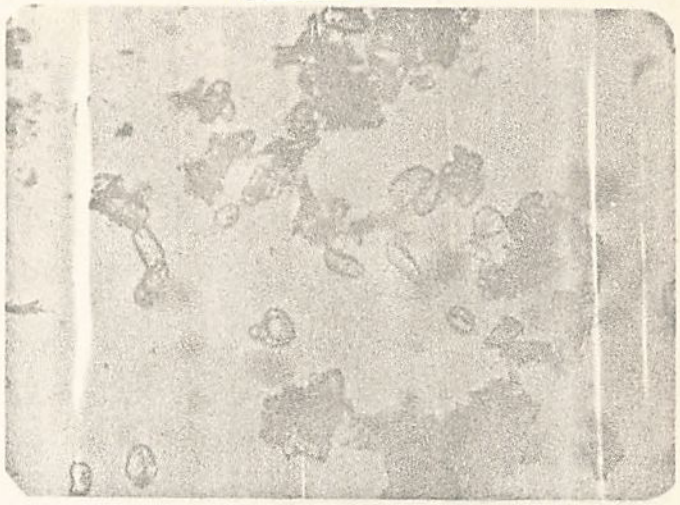




1. sel batu
2. sklerenkim
3. parenkim
4. pati

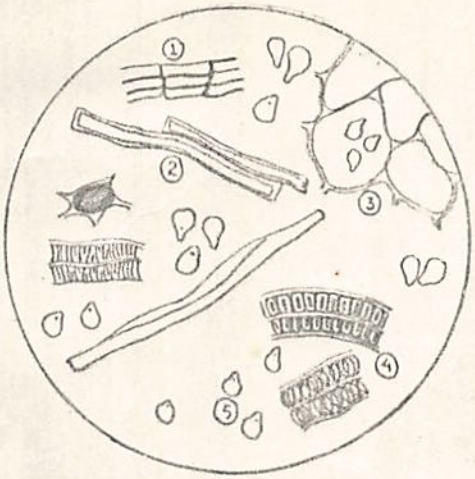
Curcuma Rhizoma





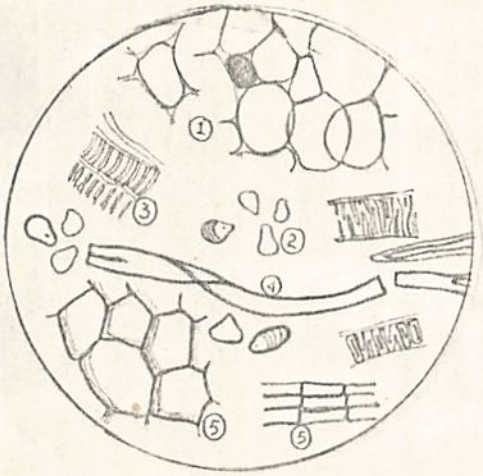
1. pati
2. sklerenkim
3. berkas pembuluh
4. parenkim

Zingiberis Rhizoma



1. gabus
2. sklerenkim
3. parenkim
4. berkas pembuluh
5. pati

Curcuma domesticae Rhizoma

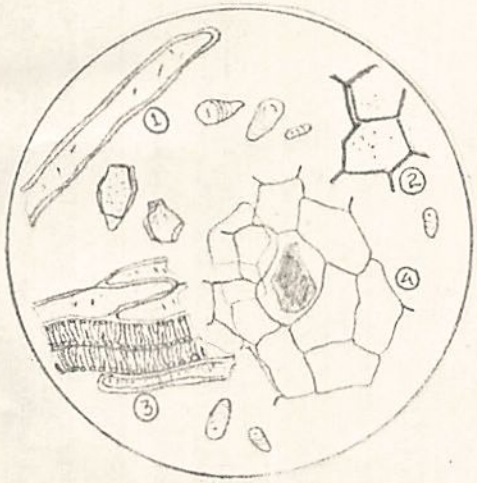


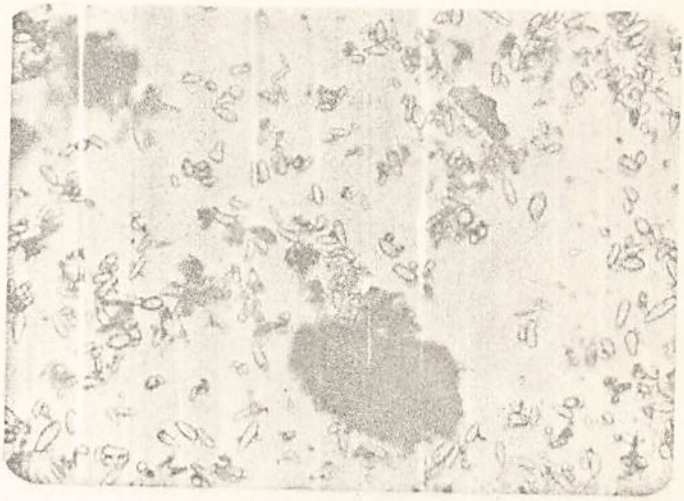
1. parenkim
2. pati
3. berkas pembuluh
4. sklerenkim
5. gabus

Curcuma Rhizona

1. sklerenkim
2. pati
3. parenkim
4. berkas pembuluh

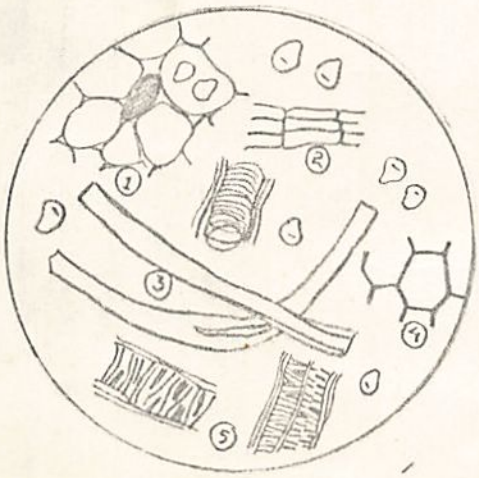
Galangae Rhizoma





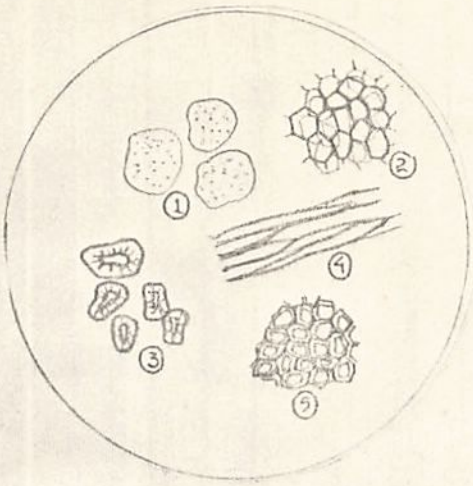
1. sklerenkim
2. parenkim
3. berpas pembuluh
4. gabus

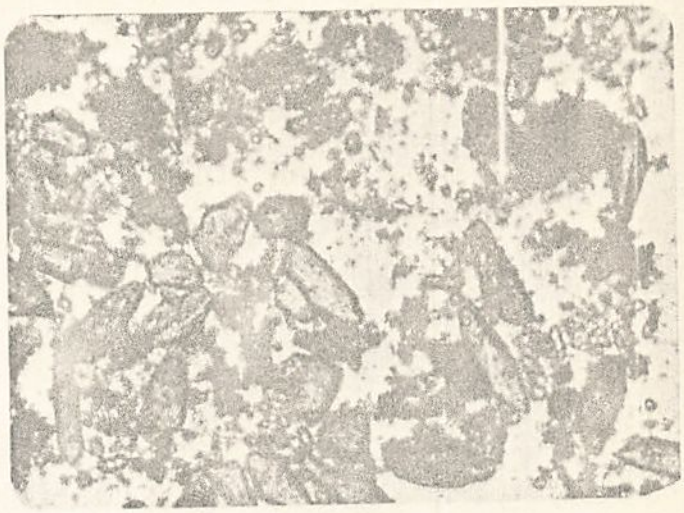
Kaempferiae pandurati Rhizoma



1. 1-4 parenkim
2. gabus
3. sklerenkim
4. pati
5. berkas pembuluh

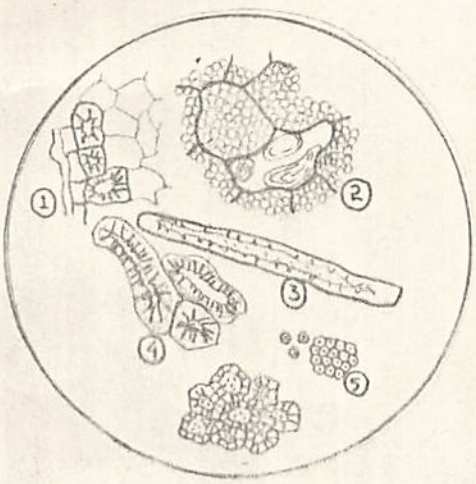
Retrofracti Fructus





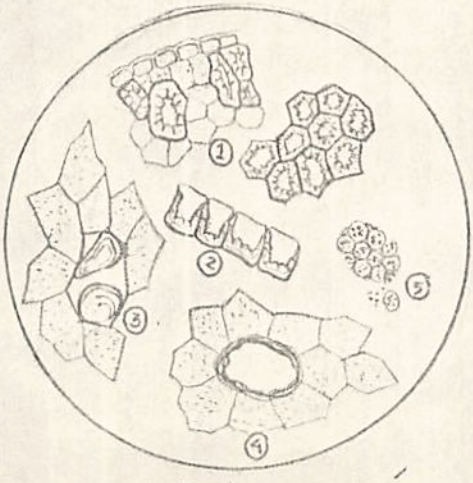
1. perisperm
2.-5. epicarp.
3. sel batu

Cubebae Fructus



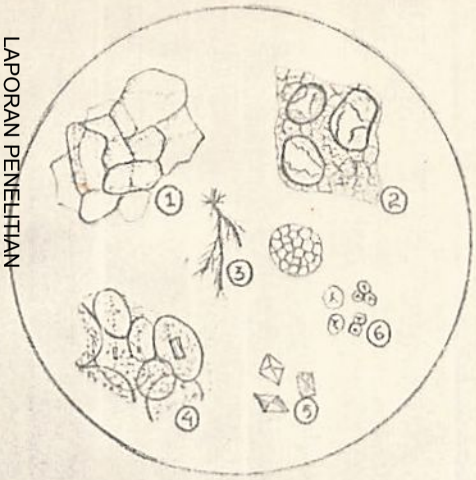
1. -3. -4. -5. sel batu
2. perisperm

Piperis nigri Fructus



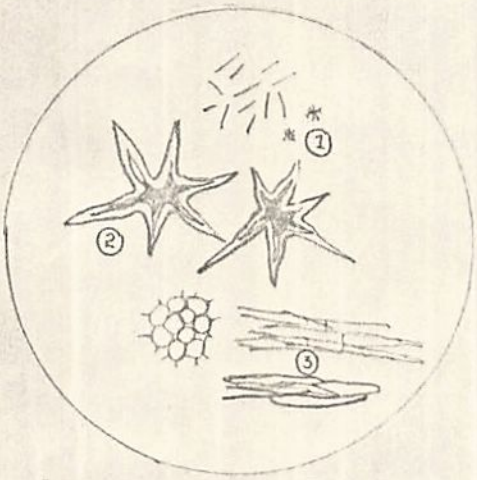
1. -2. sel batu
3. perisperm
4. perisperm dg. ruang minyak
5. endosperm

Myristicae Semen



1. endosperm
2. ruang minyak
3. kristal lemak
4. perisperm
5. hablur kalsium oksalat

Helicteris isorae Fructus



1. hablur kalsium oksalat
2. rambut penutup
3. parenkim dengan sklerenkim

Jamu : A.

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen
Penampak noda : Anisaldehide
Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Piperis nigri		Blumeae Folium		Equiseti debile		Jamu		Camp. spt. jamu		Phyllanthus		Zingg. cass.		Alpinia galanga	
	B	93,3	B	35,4	J	18,3	BU	93,3	BU	94,6	BU	95,8	UB	95,8	B	92,5
	BU	44,2	B	25.	B	10,8	B	90.	B	91,7	B	92,5	B	92,5	B	67,5
	U	35,8	J	19,2	H	5,8	B	84,2	B	59,6	J	18,3	BU	50.	B	56,7
	BU	26,7	B	15.			B	68,3	B	55,8	B	10	B	38,3	BU	21,7
	J	20	B	10,8			B	58,3	BU	50.	H	5	B	23,3	J	19,2
	UB	15.	H	5,8			BU	52,5	U	39,6			J	19,6	B	11,7
	K	5,8					B	48,3	BU	32,5			BU	15,8	BU	5
							B	44,2	B	29,2			B	11,3		
							U	39,6	B	25.			B	7,1		
							B	32,5	B	20,8			U	4,2		
							B	22,9	H	14,6						
							H	14,6	B	10,8						
							B	10,4	KH	7,5						
							KH	6,7								

KESIMPULAN : (1) Pip. nigri --- kuning (Rf 5,8) jamu, kuning hijau (Rf 6,7)
(2) Zingg. Cass., biru ungu (Rf 50) jamu, biru ungu (Rf 52,5)

KETERANGAN : B = biru
BU = biru ungu
U = ungu
J = jingga
UB = ungu biru
K = kuning
H = hijau
KH = kuning hijau
I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

Jamu : A.

Fase diam : Kieselgel GF 254

Fase bergerak : Benzen - Kloroform

Penampak noda : Anisaldehida

Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Piperis nigri		Blumeae Folium		Equiseti debile		Jamu		Camp. spt. jamu		Phyllanthus		Zingg. Cass.		Alp. galanga	
	UM	76,7	U	68,3	J	29,2	BU	97,5	BU	93,3	J	26,7	BU	83,3	B	41,7
	BU	37,5	U	35,8	H	26,7	BH	90.	BU	87,5	H	18,3	B	75.	B	35,8
	J	30,8	HJ	27,5	H	10.	U	85,8	B	80,8	AU	15,8	B	60,8	J	23,3
	K	17,5	MU	19,2	H	6,7	B	80,8	U	73,3	H	8,3	B	53,3	B	5,8
	HK	7,5	HK	10,8			BU	76,7	HB	65,8	H	5,8	B	41,7		
			B	5,8			MU	73,3	HB	60,8			B	31,7		
							HB	66,7	B	56,7			J	25.		
							HB	62,5	B	47,5			A	18,3		
							B	51,7	BU	37,5			B	14,2		
							B	41,7	H	31,7			B	10,8		
							AB	36,7	BU	26,7			J	8,3		
							AB	30,8	KH	19,2			B	5		
							KH	20,8	JH	11,7						
							BH	8,3								

KESIMPULAN : Piperis nigri --- kuning (Rf 17,5) jamu, kuning hijau (Rf 20,8)

KETERANGAN : UM = ungu merah K = kuning MU = merah ungu A = Abu-2
BU = biru ungu HK = hijau kuning H = hijau
J = jingga HJ = hijau jingga B = biru

Jamu R.

Fase diam : Kieselgel GF 254

Fase bergerak : Benzen - $CHCl_3$ = 1 : 1

Penampak noda : Vanillin - H_2SO_4

Identifikasi : Minyak atsiri.

I	Helict.		Zingg. Off.		Cinnamm. Cassian.		Liq.Rad.		Jamu		Camp. spt jamu		Kaempf. pandur.		Curc. Xanthr.		Caesasae. Sappan		Curc. domest.	
	BH	27,5	B	94,2	BU	92,5	J	30,8	H	95,8	U	95,8	B	91,7	B	94,2	-	-	U	70,8
	BH	23,3	H	89,2	BU	88,3	B	24,2	B	91,7	B	91,7	H	83,3	B	73,3			U	42,5
			U	72,5																
			B	49,2	BU	83,3			B	87,5	B	87,5	U	70,8	U	70.			BU	29,2
			B	39,2	BU	64,2			BH	79,2	BH	78,3	B	37,5	U	62,5			BU	14,2
			B	34,2	BU	36,7			U	70,8	U	70,8	K	31,7	U	51,7			C	5,8
			B	27,5	J	28,3			BHt	62,5	BH	62,5	J	14,2	U	35			C	2,5
			HB	13,3	B	21,7			BHt	52,5	UB	50,8	C	11,7	U	30.				
			HB	11,7					H	44,2	H	41,7			C	11,7				
									U	37,5	B	36,7			U	8,3				
									B	33,3	B	33,3			Ht	2,5				
									C	12.	B	30,8								
									H	4,2	C	13,3								
											Ht	4,2								

KETERANGAN : BH = biru hijau
B = biru
H = hijau
U = ungu
HB = hijau biru
J = jingga

BU = biru hijau
BHt = biru hitam
C = coklat
K = kuning
Ht = hitam

I = Simplisia jamu
II = Warna / Rf.

Jamu : A.

Fase diam : Kieselgel GF 254

Fase bergerak : Benzen

Penampak noda : Vanillin - H_2SO_4

Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Helica-isorae		Zingg. off.		Cinnam. caes.		Liq.Rad.		Jamu		Camp. jamu		Kaempf. Pandur.		Curc. Xanthr.		Caesal. sappan		Curc. domest.	
	J	19,2	B	90	B	90.	B	53,3	U	86,7	U	87,5	B	87,5	BU	88,3	BU	87,5	BU	87,5
	B	13,3	H	81,7	U	87,5	J	20.	KH	75.	B	84,2	H	77,5	MU	85	BU	53,3	MU	60.
	B	5	MU	57,5	J	48,3	BU	12,5	H	65,8	K	65.	H	68,3	BU	75.	MU	32,5	MU	53,3
			MU	52,5	J	20,8			MU	58,3	MU	53,3	K	65	U	54,2	B	22,5	BU	44,2
			U	37,5	BU	12,5			MU	53,3	MU	45,8	MU	60.	BU	47,5	B	15,8	BU	30.
			H	25					MU	50,8	U	36,7	MU	56,7	BU	43,3	B	12,5	CU	20,8
			J	20.					U	45,8	MU	30,8	MU	52,5	BU	35,8	B	3,3	B	15,8
			BU	14,2					U	35.	MU	26,7	MU	45,8	MU	26,7			BU	12,5
			B	7,5					U	30,8	U	20.	BU	38,3	BU	25,8			U	8,3
			B	3,3					H	25,8	BU	16,7	H	30,8	MU	19,2			U	5,8
									J	20.	U	13,3	H	26,7	BU	15,8			C	3,3
									B	13,3	BU	9,2	J	20,8	MU	13,3				
									U	8,3	C	5	U	13,3	B	10.				
									C	4,2			B	10.	BU	6,7				
													UC	6,7	C	4,2				

KETERANGAN :

J = jingga
B = biru
H = hijau
MU = merah ungu
U = ungu

KH = kuning hijau
UC = ungu coklat
C = coklat
CU = coklat ungu

I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

Jamu : A.

Fase diam : Kieselgel GF 254

Fase bergerak : Benzen - $CHCl_3$ - Etanol (45:45:1

Penampak noda : Asam borat

Identifikasi : Zat warna

I / II	Helica. Isora		Zingg. Off.		Cinnam. Cass.		Liq.		Laempf. Pandur.		Curc. Xanthor.		Caesal. Sappan		Curc. domest.		Camp. jamu		Jamu	
	-	-	J	75	-	-	K	37,5	J	70,8	J	70,8	U	12,5	J	66,7	J	66,7	J	66,7
			J	50					J	62,5	J	41,7			J	45,8	J	45,8	J	33,3
									J	45,8	J	29,2			J	29,2	J	26,7	J	18,3
									J	33,3							U	12,5		

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

J = jingga
K = kuning
U = ungu

Jamu B.

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen
Penampak noda : Anisaldehide
Identifikasi : minyak atsisi

I	Liq. Radix		Cubebae		Belle-ricae		Colae		Jamu		Camp. Jamu		Cinnam. Cassia.		Myristi-ciae		Zingg.		Pip. nigri		Pip. retrof.		Biglob.	
	-	-	U	85.	U	10	-	-	U	90,8	KU	83,3	U	90,8	U	90,8	U	15,8	U	94,2	U	91,7	U	94,2
			UB	62,5					U	55,8	U	54,2	U	8,3	U	72,5	U	11,7	U	29,2	U	25	U	12,5
			UHt	45					UB	32,5	U	33,3			U	53,3			U	16,7	U	20.		
			UHt	35.					UB	16,7	HtU	20.			U	35,8			K	4,2	K	4,2		
			UHt	29,2					[illegible]J	12,5	U	11,7			C	25								
			B	20.					K	8,5	K	4,2			U	20.								
			U	3,3					U	4,2					U	8,3								

KESIMPULAN : (1) Adanya Myristica fragrans ditunjukkan oleh noda dengan warna ungu (Rf 53,3) yang dengan noda pada jamu dengan warna U (Rf 55,8)

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

U = ungu
K = kuning
C = coklat

UB = ungu biru
HtU = hitam ungu
UHt = ungu hitam

Jamu B.

Fase diam : Kieselgel GF 254

Fase bergerak : Benzen - Kloroform (1 : 1)

Penampak noda : Vanillin

Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Liq.Rad		Cubebae		Beleri ceae		Cabe		Cinnam cass.		Jamu		Camp. jamu		Myris-ticae		Zingg.		Pip. nigri		Pip. retrof.		Biglob.	
	B	43,1	B	65,4	B	43,8	B	75,4	B	70,8	BU	40,8	B	66,9	B	64,6	B	75,4	B	74,6	B	69,2	B	44,6
	B	15,4	U	40,8	B	44,2	B	3,8	B	43,8	U	33,1	B	45,4	U	42,3	B	24,6	U	30,8	B	42,3	B	23,1
	B	9,2	BU	20,8	B	6,2			B	35,4	U	25,4	BU	36,9	U	33,8	BU	8,5	BU	19,2	BU	33,8	B	10
			B	6,2					B	10,8	BU	19,2	BU	19,2	U	22,3			BU	15,4	B	20		
											B	9,2	B	12,3	U	9,2			K	6,9	B	16,9		
											B	6,2	B	8,5							K	10,8		

KETERANGAN : I = Simplisia jamu
II = Warna / Rf.

B = biru
U = ungu
BU = biru ungu
K = kuning

Jamu : B.

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen
Penampak noda : Vanillin
Identifikasi : Minyak atsiri

I	Liq. Rad.		Cubebae		Beleri-ceae		Colae		Cinn. cass.		Jamu		Camp. jamu		Myris-ticae		Zingg.		Pip. nigri		Pip. retrof.		Biglob.	
	BU	50	B	87,5	BU	51,7	B	98,3	B	99,2	B	57,5	B	95,8	B	98,3	B	98,3	B	99,2	B	99,2	B	99,2
			U	41,7	BU	4,2			U	93,3	B	50,	B	58,3	B	91,7	HB	20,8	U	33,3	U	93,3	U	95.
			BU	19,2					BU	54,2	B	35,8	BU	37,5	U	54,2	B	9,2	U	23,3	U	46,7	BU	55,8
			BU	5					BU	10	B	30,8	B	20,8	U	38,3	B	3,3	U	14,2	U	35	U	21,7
									BU	5	B	25,8	B	12,5	U	27,5			K	4,2	BU	25.	U	15.
											B	18,3	BU	8,3	BU	20,8					K	6,7	U	8,3
											B	6,7			BU	15,8								

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

BU = biru ungu
B = biru
U = ungu
K = kuning

Jamu : B.

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen - Kloroform
Penampak noda : Anisaldehide
Identifikasi : Minyak atsiri

I \ II	Liq.		Cubeba		Beleri=cae		Colae		Jamu		Comp. Iboe		Cinnamom. Cass.		Myristicae		Zingg.		Pip. nigri		Pip. Retrof.		Biglob.	
	-	-	MC	87,5	-	-	-	-	M	92,5	M	92,5	M	91,2	M	91,2	M	30,8	M	93,3	M	91,7	C	93,3
			MC	62,5					M	70	K	58,3			BU	77,5	M	23,3	M	45	M	35,8	C	17,5
			MC	40					M	56,7	M	46,7			M	65	C	5,8	M	27,5	K	15	C	8,3
			B	27,5					MC	33,3	M	35,8			M	32,5			K	12,5				
			KC	18,3					H	2'	H	30,8			C	24,2								
			M	11,7					K	14,2	H	25,8			C	19,2								
			C	5					C	7,5	K	14,2			MC	10,8								
									C	3,3	C	9,3			KC	5								
											C	3,3												

KESIMPULAN : Adanya Cubebae fruct. ditunjukkan oleh noda dengan warna merah coklat (Rf 40) dengan no
(1)da jamu dengan warna merah coklat (Rf. 33,3)
(2) Adanya Pip. nigri ditunjukkan oleh noda kuning (Rf 12,5) jamu, kuning (Rf 14,2)
(3) Adanya Pip. retrofrac. ditunjukkan oleh noda kuning (Rf 15) jamu, warna kuning (Rf 14,2)

KETERANGAN :
I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

MC = merah coklat
B = biru
KC = kuning coklat
M = merah

C = coklat
H = hijau
K = kuning
BU = biru ungu

Jamu : b.

Fase diam : Kieselgel GF 254

Fase bergerak : Benzen - $CHCl_3$ - Etanol = 45 : 45 : 10

Penampak noda : Asam borat

Identifikasi : Zat warna

I	Liq. Rad.		Pip. Cubebae		Beleri cae		Colae		Cinnam. Burma.		Camp. jamu		Jamu		Myristi cae		Zingib.		Pip. albi		Pip. retrof.		Big-lob.	
	K	40,5	O	53,3	O	53,3	-	-	-	-	O	3,1	K	95,2	K	61,9	O	45,2	K	71,4	K	71,4	-	-
			O	47,6	O	47,6					K	26,2	H	76,2	K	53,3	C	40,5	K	42,9	K	42,9		
			O	38,1	O	38,1					O	23,8	H	57,1	BM	42,9	K	35,7	K	23,8	K	26,2		
											K	21,4	O	33,3	O	38,1	K	31.			K	23,8		
											K	19.	K	28,6	K	35,7	K	21,4						
											K	16,7	O	23,8	K	33,3	K	11,9						
											K	14,3	K	19.	K	28,6								
											C	9,5	K	14,3	K	16,7								
													K	11,9	K	14,3								
													C	9,5										

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

O = orange
K = kuning
H = hijau
C = coklat

Jamu : C.
Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen
Penampak noda : Anisaldehide
Identifikasi : Minyak atsiri.

I / II	Helic-teres		Zingiber off.		Cinnam. Cass.		Liq.		Jamu		Camp. spt. jamu		Kaempf. pandur.		Curc. xanth.		Caesal. sappan		Curcu. domest.	
	-	-	U	17,5	CU	94,2	-	-	U	94,2	U	92,5	U	94,2	U	80,8	-	-	C	60,8
			U	14,2	CU	12,5			U	70,8	U	83,3	C	81,7	U	58,3			U	54,2
			CU	2,5	C	4,2			U	63,3	U	60.	C	80,8	U	50			U	20,8
									U	49,2	U	12,5	U	61,7	U	45.			U	16,7
									U	37,5	C	4,2	U	47,5	U	38,3			U	14,2
									U	29,2			U	29,2	U	20,8			U	12,5
									U	22,5			U	22,5	U	15,8			C	4,2
									U	14,2			U	14,2	U	9,2				
									U	10.			CU	10	C	4,2				
									C	4,2										

KESIMPULAN : (1) Curc. Xanthr. --- coklat (Rf 4,2) jamu, coklat (Rf 4,2)
(2) Curc. domest. --- coklat (Rf 4,2) jamu, coklat (Rf 4,2)

KETERANGAN : I = Simplisia jamu
II = Warna/Rf.

U = ungu
CU = coklat ungu
C = coklat

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen-Chloroform
Penampak noda : Anisaldehide
Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Helict.		Zingg. off.		Cinnamom Cass.		Liq.Rad.		Jamu		Camp. jamu		Kaempf pandur.		Curc. Xanthr.		Caesal. sappan		Curc. domest.	
	-	-	MU	91,7	MU	92,[illegible]	-	-	MU	87,5	MU	90,8	MU	90,8	C	90	-	-	MU	90,8
			KC	40	C	24,2			KM	71,7	C	80,8	C	77,5	MU	80.			KC	75
			C	32,5					MU	57,5	MC	68,3	MC	68,3	MU	69,2			U	70.
			C	25,8					MK	48,3	MC	50,8	M	45,8	MU	62,5			KC	46,7
			CHt	10,8					C	39,2	MC	40,8	MC	31,7	MU	55.			MU	32,5
									CH	32,5	C	29,2	C	14,2	MU	40,8			KC	25.
									MC	25,8	HC	23,3			MU	30,8			C	10,8
									HC	18,3	C	10,8			KC	20.			C	4,2
									C	12,5	MC	5,8			C	19,8				
									C	5	C	3,3			MC	6,7				
															C	4,2				

KESIMPULAN : (1) Kaempf. pandur, merah ungu (Rf 90,8) jamu, merah ungu (Rf 87,5)
(2) Curc. xanthr, coklat (Rf 10,8) jamu, coklat (Rf 12,5)
(3) Curc. domest. coklat (Rf 10,8) jamu, coklat (Rf. 12,5)

KETERANGAN : MU = merah ungu
KC = kuning coklat
C = coklat
CHt = coklat hitam
KM = kuning merah
MK = merah kuning
CH = coklat hijau
MC = merah coklat
HC = hitam coklat

I = Simplisia jamu
II = Warna / Rf.

Jamu : C.

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen
Penampak noda : Vanillin - H_2SO_4
Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Piperis nigri		Blumeae Folium		Equiseti Debile		Jamu		Campuran spt. jamu		Phyllan thus.		Zingg. Cassum.		Alpi. galanga	
	B	95,2	BU	93,6	BU	95,2	U	94,4	U	94,4	U	94,4	U	94,4	BU	96
	U	34,4	K	72.	U	12,8	B	54,4	U	73,6	U	73,6	U	78,4	BU	48
	C	27,2	B	53,6	H	6,4	BU	47,4	U	36.	U	12,8	U	12	B	37,6
	U	17,6	U	34,4			U	36	U	24,8	HB	7,2	H	4	B	28.
	B	8,8	U	21,6			U	28	U	18,4	K	3,2			BU	22,4
	K	4	U	16,8			U	20.	U	9,6					BU	16.
			U	12.			U	14,4	H	7,2					B	10,4
			HC	5,6			H	9,6	K	3,2					CU	5,6
							KH	4,8								

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

B = biru
U = ungu
C = coklat
K = kuning
BU = biru ungu

HC = hijau coklat
H = hijau
HB = hijau biru
KH = kuning hijau
CU = coklat ungu

Jamu : C.

Fase diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen - Kloroform (1 : 1)
Penampak noda : Vanillin - H_2SO_4
Identifikasi : Minyak atsiri

I / II	Piperis nigri		Blumeae Folium		Equiseti Debille		Jamu		Camp. spt. jamu		Phyllan-thus		Zing. Cassum.		Alp. galanga	
	B	93,3	B	93,3	B	95,8	U	95,8	U	95,8	U	94,2	U	95,8	B	95,8
	U	54,2	BU	79,2	U	20,8	B	91,7	BU	66,7	B	79,2	B	93,3	U	66,7
	CH	38,3	B	66,7	BH	10	U	79,2	U	54,2	U	54,2	B	83,3	BU	54,2
	B	30.	U	54,2			U	50.	B	37,5	U	29,2	B	37,5	B	35.
	C	12,5	BU	30,8			BU	37,5	HB	21,7	HB	21,7	U	29,2	B	21,7
	H	8,3	HB	21,7			B	31,7	K	12,5	HK	10,8	H	21,7	U	16,7
	B	5	MU	16,7			H	21,7	H	8,3			H	10,8	B	10,8
			U	14,2			K	12,5	BU	5					U	5,8
			H	12,5			U	5								
			U	8,3												

KESIMPULAN :
(1) Pip. nigri --- warna ungu (Rf 54,2) jamu, ungu (Rf 50)
(2) Blumeae Fol. --- hijau biru (Rf 21,7) jamu, hijau (Rf 21,7)
(3) Phyllanthus niruri, hijau kuning (Rf 10,8) jamu, kuning (Rf 12,5)
(4) Zing. Cass., hijau (Rf 21,7) jamu, hijau (Rf 21,7)

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

B = biru
U = ungu
CB = coklat biru
H = hijau
BU = biru ungu
HB = hijau biru

MU = merah ungu
BH = biru hijau
HK = hijau kuning

Jamu : C.

Fase diam : Kieselgel GF 254.

Fase bergerak : Benzen - $CHCl_3$ - Etanol (45 : 45 : 10)

Penampak noda : Asam borat

Identifikasi : Zat warna

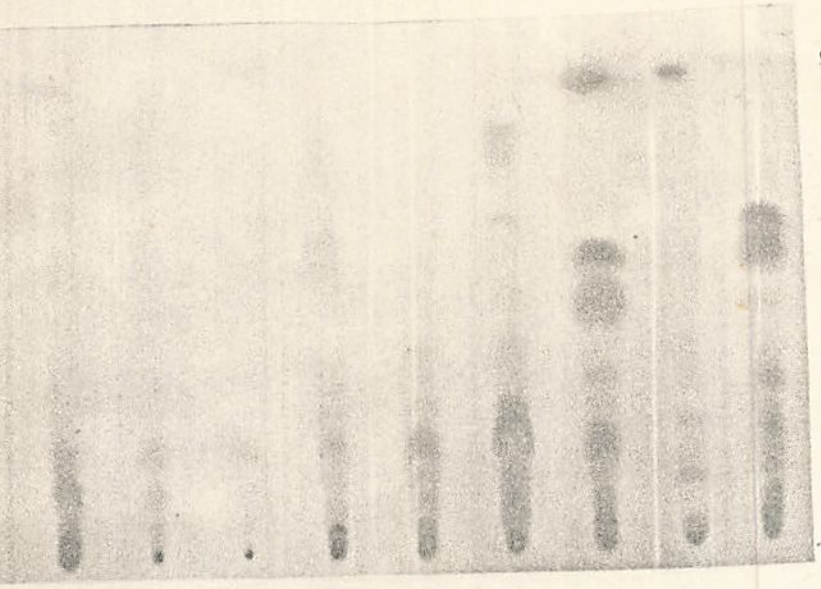
I / II	Piperis nigri		Blumeae Folium		Equiseti Debile		Jamu		Camp. spt. jamu		Phyllan-thus		Zingg. Cass.		Alp. galanga	
	-	-	-	-	-	-	CH V	86,4 13,6	CH	86,4	-	-	HC	86,4	-	-

KETERANGAN : I = simplisia jamu
II = warna / Rf.

CH = coklat hijau
HC = hijau coklat
V = violet

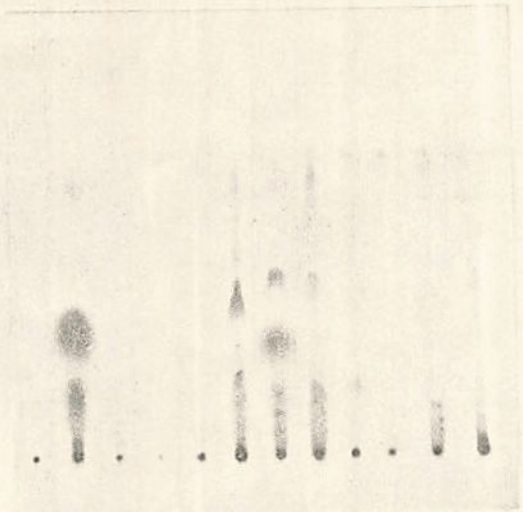
KROMATOGRAFI LAPISAN TIPIS UNTUK ZAT GOLONGAN MINYAK ATSIRI

Fase Diam : Kieselgel GF 254
Fase Bergerak : Benzen
Penampak Noda : Vanillin - Asam Sulfat



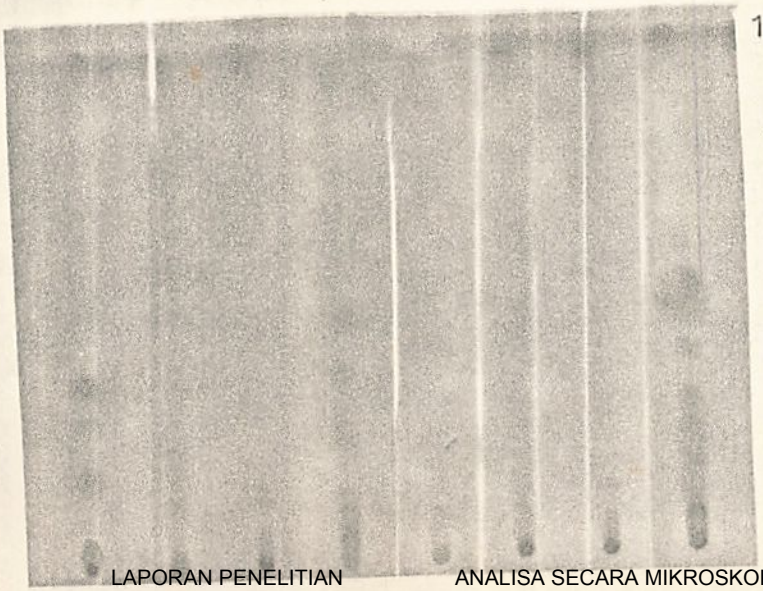
Jamu A.

1. Helict. isora
2. Zingg. off.
3. Cinnamom. Cass.
4. Liq. Rad.
5. Camp. Jamu
6. Jamu A.
7. Kaempf. Pandur.
8. Curc. Xanthr.
9. Caesalp. Sappan
10. Curc. Domest.



Jamu B.

1. Liq. Rad.
2. Cubebae
3. Bellericae
4. Colae
5. Camp. Jamu
6. Jamu B.
7. Cinnam. Cass.
8. Myristicae
9. Zingg.
10. Pip. Nigri
11. Pip. Retrof.
12. Biglob.

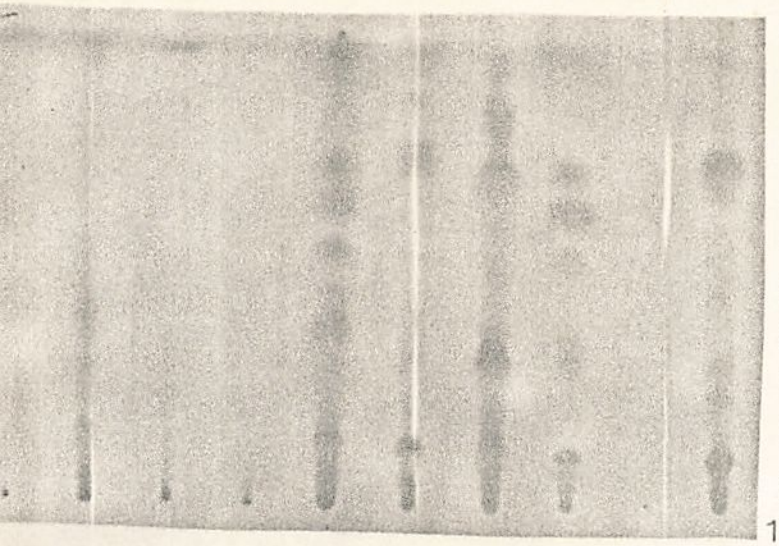


Jamu C.

1. Pip. Nigri
2. Blumeae Fol.
3. Equiseti debil.
4. Camp. Jamu
5. Jamu C
6. Phyllanthus
7. Zingg. Cassum.
8. Alpin galanga

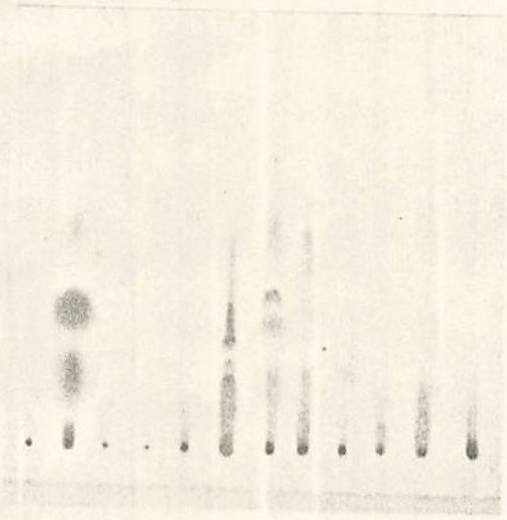
KROMATOGRAFI LAPISAN TIPIS UNTUK ZAT GOLONGAN MINYAK ATSIRI

Fase Diam : Kieselgel GF 254
Fase Bergerak : Benzen - Kloroform
Penampak Noda : Vanillin - Asam Sulfat



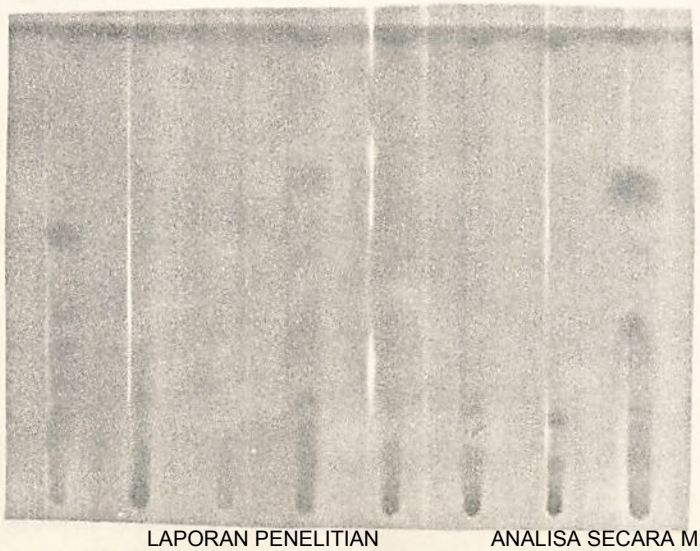
Jamu A.

1. Helict. isora
2. Zingg. off.
3. Cinnam. Cass.
4. Liq. Rad.
5. Camp. Jamu
6. Jamu A.
7. Kaempf. Pandur.
8. Curc. Xanthr.
9. Caesalp. Sâppan
10. Curc. domest.



Jamu B.

1. Liq. Rad.
2. Cubebae
3. Bellericae
4. Colae
5. Camp. Jamu
6 Jamu B.
7. Cinnam. Cass.
8. Myristicae
9. Zingg.
10. Pip. Nigri
11. Pip. Retrof.
12. Biglob.

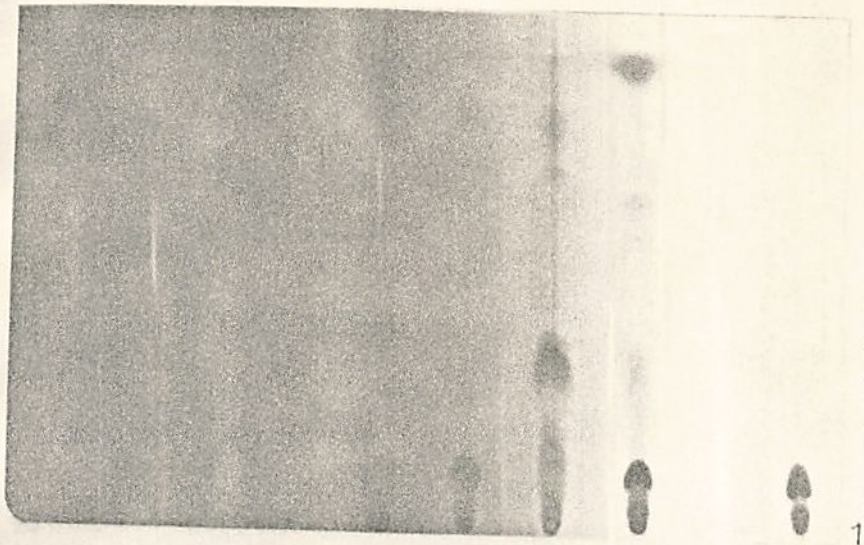


Jamu C.

1. Pip. Nigri
2. Blumeae Fol.
3. Equiseti debil.
4. Camp. Jamu
5. Jamu C.
6. Phyllanthus
7. Zingg. Cassum.
8. Alpin galanga

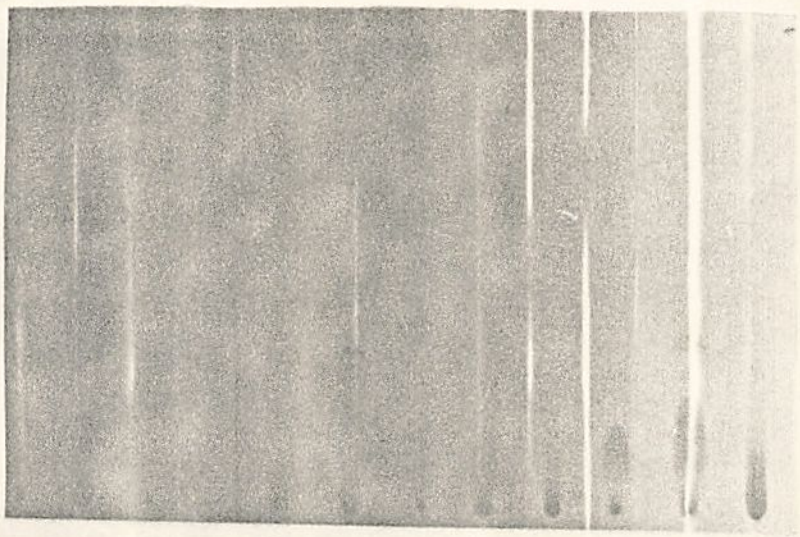
KROMATOGRAFI LAPISAN TIPIS UNTUK ZAT GOLONGAN MINYAK ATSIRI

Fase Diam : Kieselgel GF 254
Fase Bergerak : Benzen - Kloroform
Penampak Noda : Anis Aldehid - Asam Sulfat



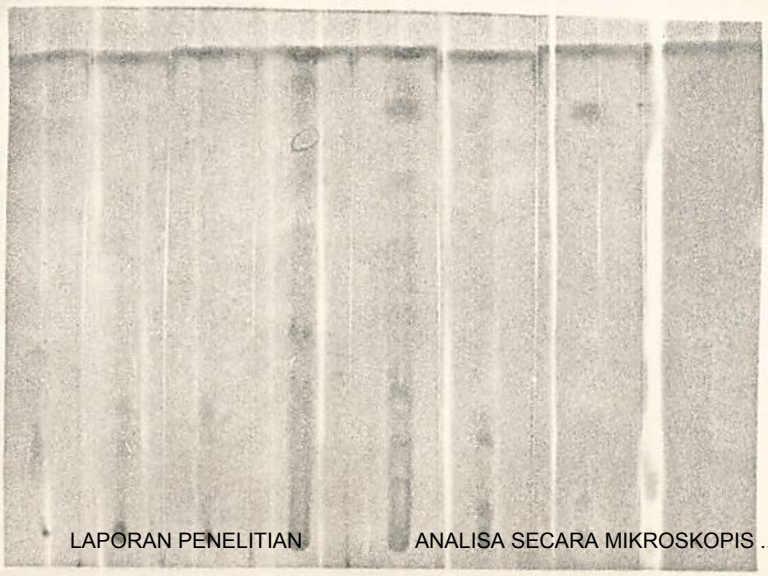
Jamu A.

1. Helict. isora
2. Zingg. off.
3. Cinnam. Cass.
4. Liq. Rad.
5. Camp. Jamu
6. Jamu A.
7. Kaempf. Pandur.
8. Cuec. Xanthr.
9. Caesalp. Sapp.
10. Curc. domest.



Jamu B.

1. Liq. Rad.
2. Cubebae
3. Belleriacae
4. Colae
5. Camp. Jamu
6. Jamu B.
7. Cinnam. Cass.
8. Myristicae
9. Zingg.
10. Pip. Nigri
11. Pip. Retrof.
12. Biglob.

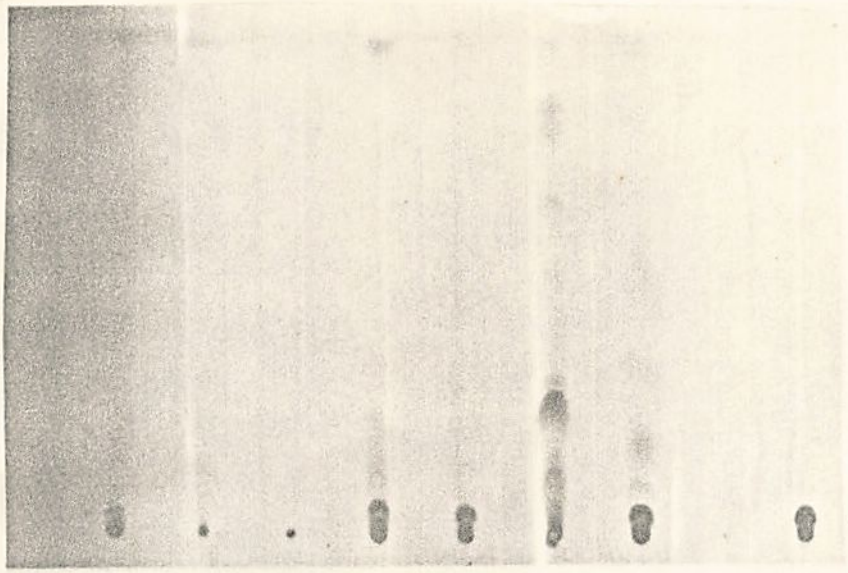


Jamu C.

1. Pip. Nigri
2. Blumeae Fol.
3. Equiseti debil.
4. Camp. Jamu
5. Jamu C.
6. Phyllanthus
7. Zingg. Cassum.
8. Alpin galanga

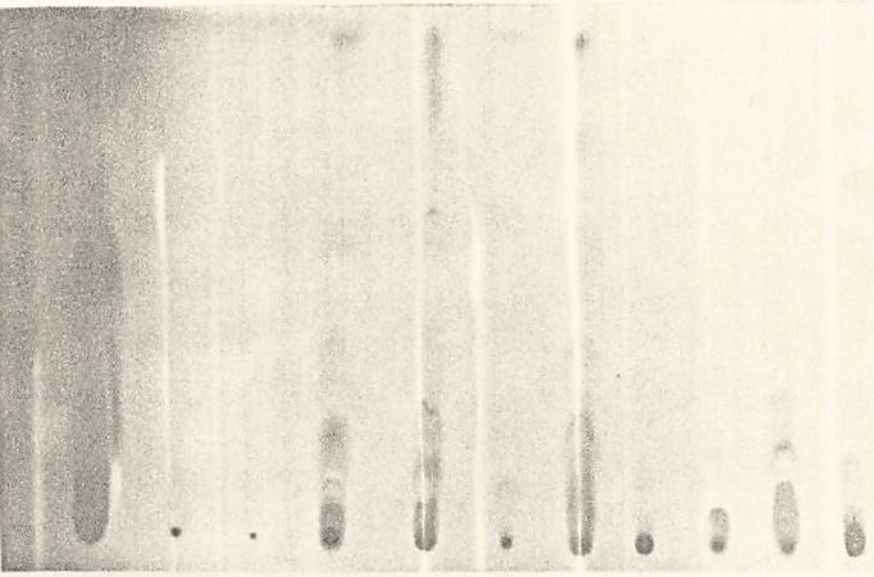
KROMATOGRAFI LAPISAN TIPIS UNTUK ZAT GOLONGAN MINYAK ATSIRI

Fase Diam : Kieselgel GF 254
Fase bergerak : Benzen
Penampak Noda : Anisaldehid - Asam Sulfat



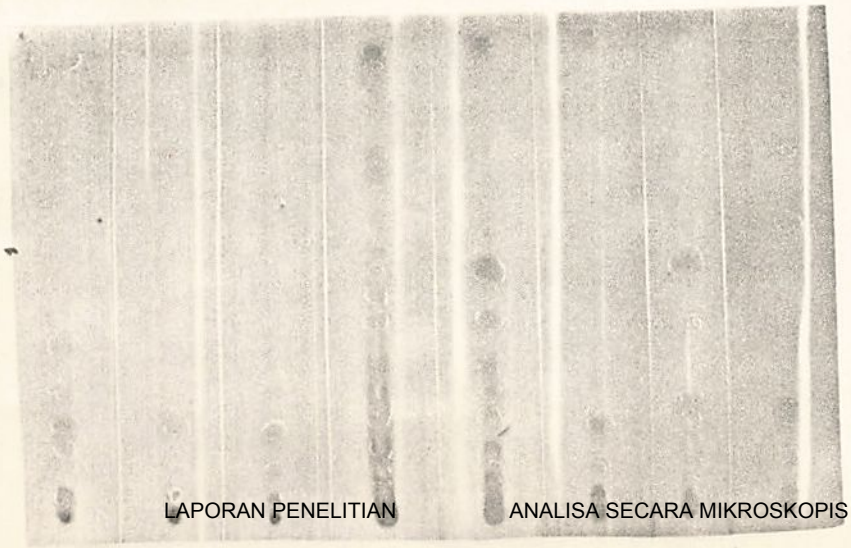
Jamu A.

1. Helict. isora.
2. Zingg. off.
3. Cinnam. Cass.
4. Liq. Rad.
5. Camp. Jamu
6. Jamu A.
7. Kaempferia Pandur.
8. Curc. Xanthr.
9. Caesalp. Sappan
10. Curc. Domest.



Jamu B.

1. Liq. Rad.
2. Cubebae
3. Bellericae
4. Colae
5. Camp. Jamu
6. Jamu B.
7. Cinnam. Cass.
8. Myristicae
9. Zingg.
10. Pip. Nigri
11. Pip. Retrof.
12. Biglob.

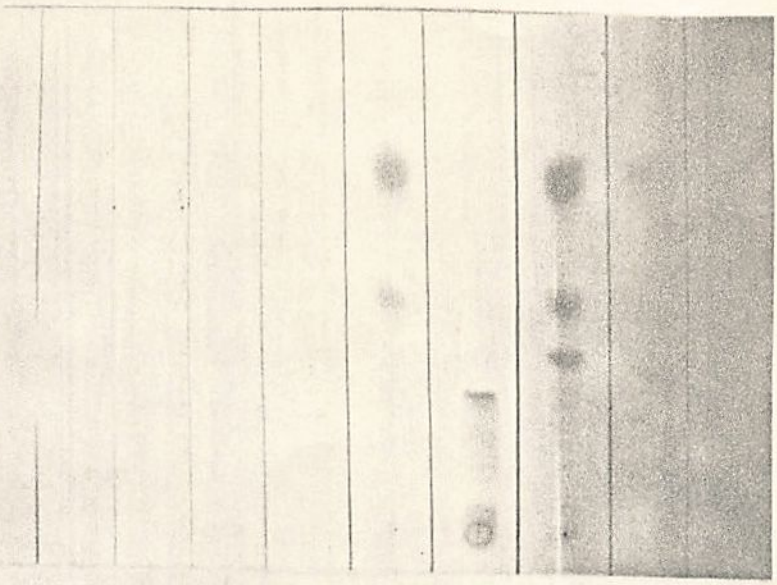


Jamu C.

1. Pip. Nigri
2. Blumeae Fol.
3. Equiseti debil.
4. Camp. Jamu
5. Jamu C
6. Phyllanthus
7. Zingg. Cassum.
8. Alpin galanga

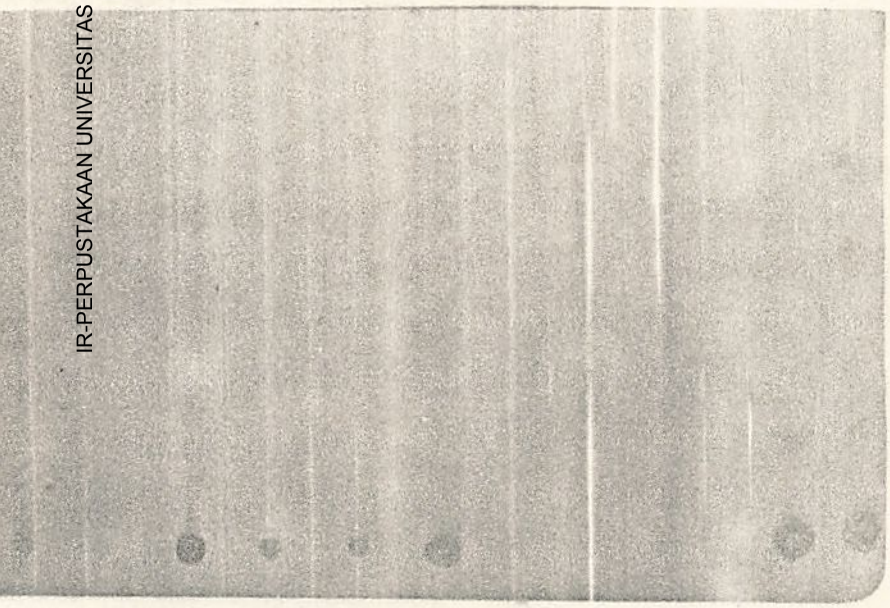
KROMATOGRAFI LAPISAN TIPIS UNTUK ZAT GOLONGAN ZAT WARNA

Fase Diam : Kieselgwl GF 254
Fase Bergerak : Benzen - Kloroform - Etanol
Penampak Noda : Asam Borat



Jamu A.

1. Helict. isora
2. Zing . off.
3. Cinnam. Cass.
4. Liq. Rad.
5. Camp. Jamu
6. Jamu A.
7. Kaempf. Pandur.
8. Curc. Xanthr.
9. Caesalp. Sapp.
10. Curc. domest.



Jamu B.

1. Liq. Rad.
2. Cubebae
3. Belleriaceae
4. Colae
5. Camp. Jamu
6. Jamu B.
7. Cinnam. Cass.
8. Myristicae
9. Zingg.
10. Pip. nigri
11. Pip. retrof.
12. Biglob.

Jamu C.

1. Pip. nigri
2. Blumeae Fol.
3. Equiseti debil.
4. Camp. Jamu
5. Jamu C.
6. Phyllanthus
7. Zingg. Cassum.
8. Alpin galanga

PEMBICARAAN.

Penelitian ini telah dilakukan pemeriksaan mikroskopis dan kromatografi lapisan tipis terhadap simplisia penyusun dan obat asli. Bila dilihat komposisi obat asli, maka simplisia penyusun dapat digolongkan menjadi beberapa kelompok berdasarkan familia tanaman. Kelompok pertama, familia Piperaceae dengan simplisia Cubebae Fructus, Retrofracti Fructus dan Piperis albi Fructus. Kelompok kedua, familia Zingiberaceae yang terdiri dari 3 species Zingiber, 2 species Curcuma, 1 species Kaempferia dan 1 species Alpinia.

Kellompok ketiga terdiri dari banyak familia yang masing- masing terdiri dari satu simplisia.

Pemeriksaan mikroskopis.

Dari familia Piperaceae ketiga macam simplisia ini dapat dibedakan dari bentuk sel batu dan besar sel batu. Khusus sel-batu dari Piperis albi ada yang berbentuk U, perisperm dari ketiga simplisia memiliki kesamaan. Piper retrofractum fragmen mesocarp bentuk dan warnanya yang kuning dapat dipakai sebagai pegangan.

Simplisia yang termasuk familia Zingiberaceae agak sukar dibedakan, secara sederhana dari pemeriksaan organoleptis dapat dibedakan bau, rasa dan warna. Pengamatan dibawah mikroskop hampir seluruh simplisia memiliki persamaan bentuk parenkim, berkas pembuluh, gabus, sklerenkim. Perbedaannya dapat diamati dari bentuk-bentuk amilum serta ukurannya. Bentuk sklerenkim Zingiber off. cukup khas dengan ujung meruncing dan dinding berkelok-kelok.

Untuk simplisia yang termasuk kelompok ketiga adanya fragmen yang khas dapat digunakan sebagai pertimbangan untuk identifikasi simplisia dalam analisa obat asli.

Blumeae Folium	: rambut penutup terdiri 3 - 5 sel, bentuknya memanjang.
Equiseti Herba	: fragmen seperti bentuk stomata.
Phyllanthi niruri Herba	: hablur Ca. Oksalat berbentuk bintang dalam parenkim.
Helicteris isorae Fructus	: rambut penutup bentuk bintang dengan pereaksi phloroglusin-HCl berwarna - merah.
Cinnamomi cassiae Cortex	: Sklerenkim seperti tombak mengandung zat kayu.
Sappan Lignum	: hampir seluruh fragmen berwarna merah, banyak terdapat sklerenkim.
Glycyrrhizae Radix	: serabut kristal
Myristicae Semen	: preparat dalam chloralhidrat terlihat rambut-rambut seperti bintang.
Colae Semen	: endosperm warna coklat, amilum dengan hilus pecah.
Belericae Semen	:
Bigbobosae Semen	: fragmen epicarpium dan tetes minyak.

Pada pemeriksaan obat asli a, B dan C data-data khas dari masing-masing simplisia dapat ditemukan kembali.

Pemeriksaan kromatografi lapisan tipis.

Setelah dilakukan pemeriksaan, dengan keterbatasan pelarut dan pereaksi warna tidak semua simplisia penyusun obat asli menunjukkan warna noda yang khas dan disertai harga Rf tertentu. Simplisia yang memiliki kekhususan warna dan harga Rf noda antara lain :

- Zingiber cassumunar : pelarut/pereaksi Benzen/Vanillin - H_2SO_4 menunjukkan noda ungu biru.
- Piper nigri : Benzen-Kloroform-Anisaldehide, noda kuning.
- Piper cubeba : noda kuning
- Caesalpinia sappan : noda merah ungu.
- Myristica fragrans : ungu, Benzen-Anisaldehide.
- Simplisia fam. Zingiberaceae kecuali alpina galanga menunjukkan reaksi positip untuk zat warna, dengan pereaksi asam borat timbul warna merah oranye.

Untuk simplisia yang lain masih perlu diadakan penelitian lebih lanjut untuk mencari pelarut dan pereaksi warna yang dapat memisahkan serta memberikan warna noda yang khas sehingga dapat dipakai sebagai pegangan.

Pemeriksaan K.L.T. pada obat asli A, B dan C menghasilkan noda yang bertumpang tindih sehingga cukup menyulitkan untuk dipakai dalam analisa masing-masing simplisia kecuali beberapa simplisia dapat langsung ditunjukkan.

Pemeriksaan obat asli A.

Komposisi obat asli banyak terdiri dari simplisia fam. Zingiberaceae, pemeriksaan untuk zat warna menunjukkan warna kuning oranye untuk curcumin sedang pada caesalpinia sappan timbul noda ungu merah. Myristica fragrans dengan pereaksi benzen-anisaldehide timbul noda ungu. Curcuma xanthorrhiza dan curcuma domestika, noda ungu, noda coklat . Noda coklat dengan pereaksi anisaldehide membedakan Kaempferia panduratum dari simplisia fam. Zingiberaceae yang lain.

Pemeriksaan obat asli B.

Tiga jenis Piper spp. ada dalam ramuan obat asli ini dan ditunjukkan dengan noda kuning. Myristicae fragrans menimbulkan warna ungu dengan pereaksi benzen-anisaldehide.

Pemeriksaan obat asli C.

Simplisia Zingiber cassumnar, noda ungu biru (Benzen-Vanillin), khas untuk membedakan dengan simplisia lain. Noda kuning dan noda ungu (Benzen-Vanillin) membuktikan adanya Piperis nigri. Pada pemeriksaan zat warna, Zingiber casumnar positip sedang Alpina galanga negatif. Noda ungu merah tidak terdapat pada campuran simplisia yang disusun menurut komposisi jamu menunjukkan bahwa dalam obat asli terdapat komponen lain yang tidak tercantum dalam kemasan, diduga pada obat asli ini dicampur dengan Caesalpinia sappan.

KESIMPULAN.

1. Metoda mikroskopis untuk analisa obat tradisional ternyata lebih mudah dilakukan bila dibandingkan dengan analisa secara kimia dan berpedoman pada fragmen spesifik dari masing-masing simplisia.

2. Metoda kromatografi lapisan tipis untuk analisa obat tradisional sukar dilaksanakan tanpa dibantu dengan cara mikroskopis.

3. Metoda kromatografi lapisan tipis dapat digunakan untuk mengetahui adanya penambahan/pengurangan komponen penyusun obat tradisional.

4. Identifikasi simplisia yang tergolong familia Zingiberaceae dengan dukungan metoda kromatografi lapisan tipis sangat membantu metoda mikroskopis dalam analisa obat tradisional.

5. Ketiga jenis Fructus Piperis spp. yang sering digunakan dalam ramuan obat tradisional dapat dibedakan dari bentuk sel batu dan warna noda kromatogram.

6. Dari hasil pengamatan warna noda kromatogram dan pemeriksaan mikroskopis ternyata pada beberapa jamu ditemukan komponen lain yang tidak tertera dalam kemasan.

7. Analisa jamu baik secara mikroskopis maupun metoda kromatografi lapisan tipis sulit dilakukan terhadap obat tradisional yang tidak mencantumkan susunan simplisia pada kemasannya.

SARAN - SARAN.

1. Mengingat belum adanya kepastian kandungan bahan kimia suatu simplisia, sedangkan hasil pemeriksaan secara kromatografi lapisan tipis jumlah noda dan intensitas warna sangat dipengaruhi oleh kadar kandungannya, maka oleh Lembaga Pemerintah perlu dikeluarkan monografi simplisia baku dengan segala persyaratannya yang harus dipenuhi oleh bahan baku pabrik obat-tradisional.
2. Sehubungan tidak adanya peraturan yang mengharuskan pencantuman semua macam simplisia pada kemasan dan dengan pertimbangan bahwa analisa obat tradisional lebih sulit bila dibandingkan dengan analisa obat modern, maka usaha pemerintah untuk melakukan pengawasan mutu obat tradisional akan mengalami kesulitan. Disarankan kepada pihak yang berwenang untuk menetapkan peraturan yang mengharuskan pabrik obat tradisional mencantumkan semua simplisia dan zat tambahan lain pada kemasan.
3. Pengawasan terhadap obat tradisional hanya menyangkut masalah identifikasi kembali simplisia penyusun tetapi banyak tugas yang harus diselesaikan, a.l. : pemeriksaan khasiat, kerja sampingan, toksisitas akut dan kronis, penyediaan simplisia yang memenuhi persyaratan, pemeliharaan kelestarian sumber bahan baku dsb., untuk ini Pemerintah perlu mengusahakan perencanaan program operasionilnya.

4. Pada penelitian ini, pemeriksaan dengan metoda kromatografi-lapisan tipis hanya digunakan pelarut-pereaksi kimia yang terbatas sehingga hasil yang dicapai masih belum optimal; penelitian lanjutan masih harus dilakukan.

5. Berhubung masih belum lengkapnya data-data baik mikroskopis maupun kimia dari simplisia yang dipakai dalam ramuan obat tradisional terutama data yang dapat digunakan secara cepat dan tepat dalam analisa, maka perlu segera dilakukan penelitian kearah ini guna penyusunan buku pedoman analisa simplisia.

KEPUSTAKAAN :

1. Claus E.P., Tyler,E.V., Brady, L.A., Pharmacognosy, sixth ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1973, hal 1-33, 164, 1214.

2. Eschrich, W., Pulver-Atlas der Drogen, Gustav Fischer verlag, Stuttgart, 1972, 40, 28, 29, 168, 169.

3. Johansen, D.A., Plant Micro Technique, Mcgraw-Hill Book Comp., New York 1968.

4. Karsten, Weber, Stahl, Lehr buch de Pharmakognosie, Gustav - Fischer Verlag, Stuttgart, 1962, 42, 77-87, 465-470.

5. Stahl, E., Chromatographische und mikroskopische Analyse von drogen, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, 1970, 141-145.

6. Stahl, E., Dunnschicht Chromatographie, zweite Auflage, Springer-verlag, Berlin-Heidelberg New York, 1967, 405-449, 203-231.

7. Youngken, H.W., Text Book of Pharmacognosy, sixth ed., Blakiston Comp. Philadelphia, Toronto, 1950, 244-253, 221-230.

-0-