

AKTIVITAS ANTIVIRUS FRAKSI AIR DAN FRAKSI ETER EKSTRAK ETANOL DAUN KI TOLOD
(*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) TERHADAP VIRUS *NEWCASTLE DISEASE* DAN PROFIL
KROMATOGRAFI LAPIS TIPISNYA

Rizki Kurniagusti Pertiwi, Diniatik, Suparman,

Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Purwokerto
Jl. Raya Dukuwaluh Purwokerto 53182, Jawa Tengah,
Indonesia PO.Box 202

Abstrak

Telah dilakukan uji aktivitas antivirus fraksi air dan fraksi eter ekstrak etanol daun Ki tolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) terhadap virus *Newcastle Disease* dan profil kromatografi lapis tipisnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengeksplorasi potensi fraksi air dan fraksi eter dari ekstrak daun Ki tolod sebagai antivirus, mengetahui profil kromatografi lapis tipis dan mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalamnya.

Metode untuk mengetahui aktivitas antivirus fraksi air dan fraksi eter dari ekstrak daun Ki tolod menggunakan uji hemaglutinasi. Penelitian ini menggunakan fraksi air dan fraksi eter ekstrak etanol daun ki tolod dan telur ayam berembrio dengan umur 9-12, dengan variasi konsentrasi sebesar 150 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml. Data yang diamati adalah persentase penghambatan pertumbuhan virus. Data tersebut dianalisis secara statistik dengan ANAVA dua arah dengan taraf kepercayaan 95 %. Hasil analisis golongan senyawa menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT).

Hasil uji aktivitas antivirus terhadap virus *Newcastle Disease* pada fraksi air konsentrasi dosis 150 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml menunjukkan daya hambat rata-rata tiap konsentrasi yaitu 91,66 %, 89,58 %, 79,17 %. Pada fraksi eter konsentrasi dosis 150 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml menunjukkan daya hambat rata-rata tiap konsentrasi yaitu 98,69 %, 95,83 %, 66,67 %. Pada kontrol positif oseltamivir menunjukkan daya hambat rata-rata sebesar 94,79 %. Hasil pengujian kromatografi lapis tipis menunjukkan bahwa fraksi air ekstrak daun ki tolod mengandung golongan senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid, fraksi eter ekstrak daun ki tolod mengandung golongan senyawa flavonoid dan alkaloid.

Kata kunci : *Laurentia longiflora* (L.) Peterm, Virus *Newcastle Disease*

Abstract

Antiviral activity of water fraction and ether fraction of ethanolic extract of Ki Tolod Leaves (Laurentia longiflora (L.) Peterm) to Newcastle Disease Virus and profil of thin layer chromatography (TLC) was done. The aims of this research was exploring potential of Water Fraction and Ether Fraction of Ethanolic Extract of Ki Tolod Leaves as antiviral, to know thin layer chromatography profile , and to know group of compounds

that contain in Ki Tolod Leaves. Hemagglutination test was done to determine the antiviral activity of water fractions and ether fraction ethanolic extract of Ki Tolod Leaves. This research used Water Fraction and Ether Fraction of Ethanolic Extract of Ki Tolod Leaves and 9-12 days chicken eggs embryo with 150 µg/ml, 100 µg/ml, 50 µg/ml variation of concentration. The data was observed as virus inhibition percentage. Data were analyzed statistically with two-way ANOVA with 95% confidence level. The results of analysis compound used thin-layer chromatography (TLC). Test results of antiviral activity to ND virus in the water fraction 150, 100, 50 ug/ml concentrations doses showed average of each concentration inhibitory ability 91,66%; 89,58%; 79,17%. The ether fraction 150 ug/ml, 100 ug/ml, 50 ug/ml concentration doses showed average of each concentration inhibitory ability 98,69%; 95,83%; 66,67%. The positive controls showed the average of oseltamivir inhibitory ability 94.79%. The thin layer chromatography test results showed that the water fraction of ethanolic Extract of Ki Tolod Leaves contained flavonoids, saponin and alkaloid, whereas the ether fraction of ethanolic extract flavonoids and alkaloid.

Keywords: *Laurentia longiflora* (L.) Peterm, Virus Newcastle Disease

Pendahuluan

Virus merupakan parasit intrasel. Replikasi virus terutama bergantung pada proses sintesis sel inang (host, pejamu). (Katzung 1998). Siklus replikasi virus yang dianggap sangat mirip dengan metabolisme normal manusia menyebabkan setiap usaha untuk menekan reproduksi virus juga dapat membahayakan sel yang terinfeksi (Anonim, 2007).

Newcastle Disease adalah virus yang termasuk dalam famili Paramyxoviridae, genus Para-myxovirus. *Newcastle Disease* merupakan virus yang banyak menyerang unggas, dan mamalia lainnya. *Newcastle Disease* (ND) juga dikenal dengan sampar ayam atau tetelo yaitu penyakit yang disebabkan

oleh *Newcastle Disease*. Genome virus *Newcastle Disease* ini adalah suatu rantai tunggal RNA. Virus ini menyerang alat pernapasan, susunan jaringan syaraf, serta alat-alat reproduksi telur dan menyebar dengan cepat serta menular pada banyak spesies unggas yang bersifat akut, epidemik (mewabah) dan sangat patogen (Ganwarin, 2008). Pada manusia virus ini menyebabkan suatu peradangan konjungtiva. Penyembuhan lengkap terjadi dalam 10-14 hari. Sehingga digunakan virus *Newcastle Disease* sebagai model virus atau media untuk uji aktivitas antivirus (Jawest,1986).

Konjungtivitis adalah peradangan akut dari konjungtiva (lapisan terluar dari mata dan permukaan bagian dalam kelopak mata). Konjungtivitis ini

paling sering disebabkan oleh infeksi virus, tetapi infeksi bakteri, alergi, iritasi lain dan kekeringan juga menjadi penyebab umum kejadian tersebut. Umumnya, infeksi konjungtiva dapat ditularkan dari orang-orang, tapi juga dapat menyebar melalui benda-benda yang terkontaminasi atau air.

Pada penelitian ini akan membahas tentang konjungtivitis akibat virus. Daun Ki Tolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) secara tradisional telah digunakan untuk mengobati gangguan mata seperti mata gatal, merah dan me-ngeluarkan kotoran. Sebelumnya telah dilakukan penelitian uji anti bakteri ekstrak daun Ki Tolod pada pasien konjungtivitis oleh Ismailova (2008), namun untuk penelitian Ki Tolod dalam menghambat aktivitas virus belum pernah dilakukan. Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan hasil ilmiah sebagai bukti bahwa daun Ki Tolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) dapat digunakan sebagai antivirus dan dapat mengetahui golongan sen-yawa yang mempunyai aktivitas sebagai antivirus. Berdasarkan hal-hal tersebut diatas, maka perlu dilakukan penelitian tentang aktivitas antivirus fraksi air dan fraksi eter dari

ekstrak etanol daun Ki Tolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm).

Metode Penelitian

Bahan

Bahan yang digunakan adalah daun Ki Tolod yang diperoleh dari Desa Wirasari, Kecamatan Ke-dawung Kotamadya Cirebon Jawa Barat; uji aktivitas antivirus diguna-kan telur ayam kampung berembrio umur 9-12 hari (Dinas Peternakan Bantul, Yogyakarta) dan virus *New-castle Disease* dari vaksin Medivac ND La Sota termasuk vaksin aktif; bahan kimia yang digunakan adalah aquadest, etanol 96 % teknis (Bra-tacem), Etanol 70 % teknis (Brataco chemical), eter (Brataco chemical), antibiotik ampicillin dan strep-tomisin, PBS (*Phosphate Buffer Saline*) (Sigma), eritrosit ayam, parafin cair (E.Merck), betadine (E.Merck), silica gel, selulosa.

Alat

Alat-alat yang digunakan adalah alat-alat gelas (Pyrex), mesin pen-yerbuk, pengayak, LAF (*Laminar Air Flow*), sendok pengaduk, maserator (toples), timbangan analitik, bor pelubang, pensil, pinset tajam, nampan telur, lemari es, spuit 1 mL dan 5 mL,

inkubator (Nuairé™ IR autoflow), lampu teropong telur, tabung reaksi (pyrex), mikropipet (Gilson), lampu spiritus, diluter (Gilson), oven, autoclave (Nebauer), bejana KLT, pipa kapiler, alat penyemprot bercak, lampu UV, vorteks (Genie), flakon, bejana KLT, Lempeng selulosa (Merck), lempeng silica gel F₂₅₄ (Merck), 96 well plate, evendop, kolom kromatografi.

Lokasi Penelitian

Penelitian dilaksanakan di Laboratorium Botani dan Genetika Program Studi Pendidikan Biologi FKIP UMP untuk determinasi, di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gadjah Mada untuk uji aktivitas anti-virus dan Laboratorium Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Uni-versitas Muhammadiyah Purwokerto untuk ekstraksi, fraksinasi menggunakan kromatografi kolom, dan profil kromatografi lapis tipis daun ki tolod.

Determinasi Tanaman

Determinasi tanaman ber-pedoman pada buku Flora of Java Vol II karangan (Backer dan Vanden Brink (1965).

Pengumpulan dan pengeringan bahan

Bahan yang diambil adalah daun segar dari tanaman daun Ki Tolod yang diambil di Desa Wirasari, Kecamatan Kedawung Kotamadya Cirebon pada bulan Januari- Februari 2011. Bahan dicuci dengan air yang mengalir untuk meng-hilangkan kotoran yang menempel Kemudian daun dikeringkan pada lemari pengering selama 2-3 hari pada suhu 60°C- 70°C (Anonin, 1985). sampai daun tersebut berbunyi kres dan renyah jika diremas. Setelah itu diblender untuk mengecilkan ukuran partikel.

Ekstraksi

sebanyak 600 gram serbuk ditambah etanol 96% sebanyak 6 L diaduk selama ±6 jam Filtrat yang dihasilkan disimpan dalam bejana dan endapannya digunakan lagi untuk proses remaserasi (proses maserasi yang berulang). Maserat atau filtrat diuapkan penyaringnya hingga di-peroleh ekstrak kental etanol daun Ki Tolod.

Fraksinasi

dilakukan pemisahan menggunakan kromatografi kolom yang dialiri dengan

air dan eter, diuapkan hingga menjadi fraksi air dan fraksi eter

Uji aktivitas antivirus terhadap virus Newcastle Disease

Dalam Uji aktivitas antivirus ini dilakukan dengan beberapa tahap diantaranya yaitu Persiapan telur uji, Inokulasi virus dan sampel ke dalam ruang alantois, Membuka telur berembrio yang diinokulasi virus, Uji Hemaglutinasi. Uji aktivitas antivirus menggunakan telur ayam berembrio dengan umur 9-12 hari sebanyak 30 butir, masing-masing kelompok perlakuan terdiri dari 3 telur berembrio dan dibagi dalam 7 kelompok perlakuan dengan berbagai seri konsentrasi yaitu 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml, kontrol positif oseltamivir, kontrol pelarut DMSO dan etanol.

Identifikasi Golongan Senyawa dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

Identifikasi uji reaksi warna dan Kromatografi Lapis Tipis adalah sebagai berikut:

a. Flavonoid

Fase Diam = Selulosa

Fase Gerak = n-Butanol : Asam asetat : Air (4 : 1 : 5)

Pembanding = Rutin

Deteksi = Sinar UV 366 nm dan pereaksi semprot Sitroborat (Markham, 1988).

b. Saponin

Fase Diam = silika gel

Fase Gerak = kloroform : metanol : air (64 : 50 : 10)

Deteksi = Sinar tampak dan pereaksi semprot vanilin-asam sulfat (Stahl, 1985).

c. Alkaloid

Fase Diam = Silika gel G

Fase Gerak = Metanol-NH₄OH pekat (200 : 3).

Deteksi = Sinar UV 254 dan 366 nm dan pereaksi semprot Dragendrof (Harborne, 1987).

Hasil dan Pembahasan

Ekstraksi

Ekstrak kental etanol DAUN Ki Tolod yang diperoleh sebanyak 87,3 gram.

Fraksinasi

Fraksi air dan fraksi eter yang telah diuapkan diperoleh masing-masing untuk fraksi eter sebanyak 0,014 gram atau 14 mg dan untuk fraksi air sebanyak 25,8 mg. Setelah itu fraksi air

dan fraksi eter dilarutkan dengan menggunakan DMSO untuk fraksi eter sebanyak 298 μ L, dan untuk fraksi air sebanyak 258 μ L. Masing-masing fraksi yang sudah dilarutkan dengan DMSO digunakan sebagai larutan stok. Larutan stok tersebut yang kemudian nantinya dilakukan uji aktivitasnya terhadap virus *Newcastle Disease* dengan konsentrasi 150 μ g/mL, 100 μ g/mL, 50 μ g/mL menggunakan pengenceran.

Uji aktivitas antivirus terhadap virus *Newcastle Disease*

1. Persiapan telur uji

Telur berembrio yang telah dieramkan 9-12 hari diperiksa dengan lampu teropong. Telur diteropong dimaksudkan agar dapat diketahui apakah telur mengandung embrio yang sehat dan hidup karena virus tidak dapat hidup seperti bakteri yang bisa hidup dengan biakan pada media agar atau yang lain dan juga virus bereplikasi tergantung pada mesin sel hospes, karena tidak dapat tumbuh sendiri.

2. Inokulasi virus dan sampel ke dalam ruang alantois

Inokulasi virus dan sampel dengan cara pada bagian telur ayam berembrio yang sudah ditandai diberi iodine yang berfungsi sebagai

desinfektan agar tidak terjadi kontaminasi ketika penanaman virus. Setelah diberi desinfektan telur ayam dilubangi dengan menggunakan bor dibagian pembuluh darah dan dekat rongga udara. Telur ayam diberi lubang 2, karena ketika menginjeksi cairan akan menambah volume yang ada didalam ruang tersebut dan menyebabkan penekanan dalam telur yang mengakibatkan lapisan rongga udara menjadi pecah dan sampel yang diinjeksikan akan keluar kembali.

Sampel dengan beberapa kelompok uji dan virus kemudian diinjeksikan kedalam telur yang sudah diberi lubang sebanyak 0,1 ml suspensi yang sebelumnya sudah dilarutkan dengan menggunakan PBS melalui lubang yang berada di-dekat pembuluh darah. Kemudian diberi parafin cair pada kedua lubang tersebut. Parafin cair tersebut di-diamkan hingga memadat, setelah itu telur berembrio dimasukan ke dalam mesin penetas selama 2-3 hari untuk diinkubasi dengan suhu 37°C. Tujuan diinkubasi agar telur dapat bertahan setelah diberi perlakuan

dan virus dapat bereplikasi (cepat tumbuh).

3. Membuka telur berembrio yang diinokulasi virus

Setelah dieramkan selama 2-3 hari, telur disimpan dalam lemari es semalam (18 jam), bertujuan agar embrio yang ada didalam telur tersebut mati perlahan-lahan dan cairan alantois mudah untuk diambil.

Pada Kutub yang tumpul telur berembrio didesinfeksi dengan alkohol 70% agar tidak terkontaminasi oleh mikroba. Kerabang telur dipecahkan dengan pinset tajam, kemudian dibuat lubang sebesar atau lebih kecil dari rongga hawa. Embrio ditekan ke samping dengan pinset, cairan alantois yang diambil adalah cairan yang bening, jika cairan tersebut keruh berarti ada kontaminasi. Cairan yang terdapat di sisi embrio dihisap dengan spuit 5 ml. Dalam hal ini semua tahap yang dilakukan harus steril,

4. Uji hemaglutinasi

Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antivirus adalah metode Hemaglutinasi (HA). Metode Hemaglutinasi (HA) merupakan

metode yang melihat hemaglutinin yang berikatan atau menginfeksi sel darah merah pada perlakuan tersebut. Hemaglutinin merupakan suatu protein virus yang khas pada virus *Newcastle Disease*.

Cara melakukan uji hemaglutinasi ini yaitu, cairan alantois yang ada di dalam telur diambil dengan menggunakan spuit sebanyak 5 mL untuk masing-masing kelompok uji, kemudian di-masukan kedalam evendop dan di-tambahkan dengan menggunakan pe-larut PBS hingga 1 mL. Dari larutan tersebut diambil sebanyak 50 μ L dan dimasukkan ke dalam 96 *well plate* yang berisi 12 sumuran untuk tiap kelompok uji.

Hasil analisis dilakukan perhitungan titer dari cairan alantois, dengan sistem hemaglutinasi (HA) menggunakan 96 *well plate*. Per-hitungan persentase peng-hambatan oleh fraksi air, fraksi eter ekstrak etanol daun Ki Tolod yang digunakan, menggunakan rumus:

$$P = ((A - B) / A) \times 100\%$$

Dimana:

P : persentase penghambatan infeksi

A : jumlah titer pada telur ayam ber-

embrio tanpa perlakuan fraksi air,

fraksi eter ekstrak etanol daun Ki

Tolod

B : jumlah titer pada telur ayam

berembrio dengan perlakuan fraksi

air, fraksi eter ekstrak etanol daun

Ki Tolod (Kuswandi, 2008).

Tabel 1. Hasil Titer Daya Hambat Antivirus pada Perlakuan Fraksi Air

Replikasi	Perlakuan			Kontrol virus	amivir	iol	MSO
	150 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml				
I	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁶	2 ⁹	2 ⁵	2 ⁹	2 ⁹
II	2 ⁶	2 ⁵	2 ⁷	2 ⁹	2 ⁴	2 ⁹	2 ⁹
III	2 ⁵	2 ⁶	2 ⁷	2 ⁹	2 ⁵	2 ⁹	2 ⁹

Tabel 2. Persentase Daya Hambat Antivirus Fraksi Air *Laurentia longiflora* (L.)
Peterm (Daun Ki Tolod)

Replikasi	Persentase daya hambat antivirus pada perlakuan (%)			
	150 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	Osetamivir
I	93,75	87,50	87,50	93,75
II	87,50	93,75	75	96,87
III	93,75	87,50	75	93,75

Tabel 3. Hasil Titer Daya Hambat Antivirus pada Perlakuan Fraksi Eter

Replikasi	Perlakuan			Kontrol virus	Osetamivir	Etanol	DMSO
	150 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml				
I	2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁹	2 ⁵	2 ⁹	2 ⁹
II	2 ⁴	2 ⁵	2 ⁸	2 ⁹	2 ⁴	2 ⁹	2 ⁹
III	2 ¹	2 ⁴	2 ⁷	2 ⁹	2 ⁵	2 ⁹	2 ⁹

Tabel 4. Persentase Daya Hambat Antivirus Fraksi Eter *Laurentia longiflora* (L.) Peterm (Daun Ki Tolod)

Replikasi	Persentase daya hambat antivirus pada perlakuan (%)			
	150 µg/ml	100 µg/ml	50 µg/ml	Oseltamivir
I	99,61	96,87	75	93,75
II	96,87	93,75	50	96,87
III	99,61	96,87	75	93,75

Dilanjutkan dengan analisis menggunakan ANAVA 2 arah. Analisis ANAVA 2 arah digunakan dalam penelitian ini karena pada variabel independen (variabel bebas) yang menunjukkan faktor pembeda ada 2 yaitu fraksi dan perlakuan. Hasil ANAVA 2 arah dengan taraf kepercayaan 95% dimana $F_{hitung} 8,217 > F_{tabel} 2,85$ yang berarti ada perbedaan yang signifikan.

Setelah dilihat adanya perbedaan maka dilakukan uji BNT untuk melihat adanya perbedaan yang bermakna. Dari hasil uji BNT menunjukkan bahwa antara fraksi air, fraksi eter, dan kontrol positif mempunyai perbedaan yang signifikan yang berarti bahwa perbedaan perlakuan mempengaruhi hasil persen daya hambat.

Identifikasi Golongan Senyawa dengan Metode Kromatografi Lapis Tipis

1. Hasil identifikasi flavonoid

Hasil yang diperoleh untuk identifikasi flavonoid pada fraksi air dan fraksi eter yaitu positif, dimana pada kromatogram terdapat bercak

kuning setelah disemprot sitroborat, diuap dengan amoniak dan dibaca pada UV 366 nm.

2. Hasil identifikasi saponin

Hasil yang diperoleh untuk identifikasi saponin pada fraksi air yaitu positif, dimana pada kromatogram terdapat bercak kuning setelah disemprot vanillin-asam sulfat dan dibaca pada sinar tampak. Sedangkan untuk fraksi eter yaitu negatif, dimana tidak terdapat bercak pada kromatogram setelah disemprot vanillin-asam sulfat dan

dibaca pada sinar tampak. Tidak adanya bercak pada fraksi eter dikarenakan senyawa yang terdapat pada eter bersifat aglikon, sedangkan senyawa saponin cenderung bersifat glikon atau polar.

3. Hasil identifikasi Alkaloid

Hasil yang diperoleh untuk identifikasi alkaloid pada fraksi air yaitu positif, dimana pada kromatogram terdapat bercak setelah disemprot dragendrof dan dibaca pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Sedangkan untuk fraksi eter yaitu positif, dimana terdapat bercak pula pada kromatogram setelah disemprot dragendrof dan dibaca pada sinar UV 254 nm dan UV 366 nm. Senyawa alkaloid yang terdapat pada fraksi air dan eter yaitu alkaloid. Alkaloid dengan penampak bercak dragendrof dibawah UV akan menghasilkan bercak berwarna biru, dan coklat jingga berlatar belakang kuning (Harbone, 1989).

.Hasil uji aktivitas antivirus ekstrak etanolik fraksi air dan fraksi eter ekstrak etanol daun Ki tolod me-nunjukkan adanya hambatan terhadap hemaglutinasi sehingga terdapat

senyawa yang mampu menghambat perkembangan virus *Newcastle Disease* pada telur ayam berembrio. Setelah ekstrak fraksi air dan fraksi eter dideteksi golongan senyawanya menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan beberapa pereaksi warna menunjukkan bahwa pada pada fraksi air ekstrak daun Ki tolod tersebut mengandung suatu golongan senyawa flavonoid, saponin dan alkaloid. Sedangkan untuk fraksi eter mengandung suatu golongan senyawa flavonoid dan alkaloid.

Flavonoid mempunyai salah satu sifat yaitu menghambat enzim reverse transkriptase virus (Robinson, 1995) sehingga RNA virus tidak dapat dirubah menjadi cDNA dan mRNA, tidak dapat membuat protein dan enzim-enzim yang dibutuhkan oleh virus, terutama protein amplop virus sehingga kapsul virus tidak dapat terbentuk akibatnya virus tidak dapat bereplikasi.

Kesimpulan

1. Fraksi eter ekstrak daun Ki Tolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) memiliki potensi aktivitas

antivirus pada konsentrasi 150 µg/ml

2. Hasil analisis Kromatografi Lapis Tipis menunjukkan bahwa fraksi air mengandung senyawa *flavonoid*, saponin, dan alkaloid dan fraksi eter ekstrak daun Ki Tolod (*Laurentia longiflora* (L.) Peterm) mengandung senyawa flavonoid dan alkaloid.
3. Golongan senyawa yang diduga memiliki aktivitas antivirus adalah flavonoid dan saponin.

Ucapan Terima Kasih

Penulis mengucapkan Terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu selama penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim. 1985. *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Anonim. 2007. *Farmakologi dan Terapi Edisi V*. Jakarta : Departemen Farmakologi dan Terapeutik, Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia.
- Ganwarin, M. S.. 2008. *Newcastle Disease Virus*. Jurnal *Mikrobiologi Farmasi Indonesia*:abstrak[html].[terhubungberkala].<http://mikrobia.wordpress.com/2008/05/16/newcastle-disease-virus/>. [18 Desember 2010]
- Harbone, J.b.. 1987. *Metode Fitokimia, Penuntun dan Cara Menganalisis Tumbuhan Edisi ke 2* (Terjemahan) Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro. Bandung : Penerbit ITB , Hal 70, 75, 102-103, 234-235, 239.
- Ismailova, Mayna. 2008. *Uji Aktivitas antibakteri Ekstrak Daun Ki Tolod (Laurentia longiflora (L.) Peterm) Terhadap Bakteri yang diisolasi dan Pasien Penderita Konjungtivitis*. Abstrak. [Terhubung Berkala] <http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=read&id=jbptitbpp-gdl-maynaismai>. . [18 Mei 2011].
- Jawetz, E, et al.. 1986. *Mikrobiologi Untuk Profesi Kesehatan (Review of Medical Microbiology) edisi 16*. Jakarta: EGC Penerbit Kedokteran.
- Katzung, Bertram G. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik Edisi Delapan*. Bagian farmakologi fakultas kedokteran universitas airangga. Penerjemah dan editor. Terjemahan dari: *Basic & Clinical Pharmacology Eighth Edition*.
- Kuswandi, M., et al.. 2008. *Uji Daya Antiviral Infus Biji Srikaya*

(*Annona Squamosa L*) pada Embrio Telur Ayam dengan Virus Newcastle Disease hal 1-3. [terhubung berkala]. [http://farmsarea.blogspot.com/2008/07/ uji daya antiviral biji srikaya.html](http://farmsarea.blogspot.com/2008/07/uji%20daya%20antiviral%20biji%20srikaya.html). [16 Desember 2008].

Markham, K. R.. 1988. *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*. Bandung :Penerbit ITB.

Robinson, T.. 1995. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi, (Terjemahan)* Kosasih Padmawinata. Bandung : Penerbit ITB , hal 157, 208.

Stahl, E.. 1985. *Analisis Obat Secara Kromatografi dan Mikroskopi*. Bandung: Penerbit ITB, hal 3.