

Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Turunan Clerodin Dari Fraksi *n*-Butanol Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn)

Miguel J. A. Winokan*, Rymond J. Rumampuk, Emma J. Pongoh

^aJurusan Kimia, Universitas Negeri Manado, 95619, Indonesia

INFO ARTIKEL

Diterima : 11 Juni 2024

Disetujui : 21 Agustus 2024

Key word:

Clerodendrum minahassae Teijsm. & Binn

¹H-NMR

n-Butanol Fraction

Leilem

Clerodin

Kata kunci:

Clerodendrum minahassae Teijsm. & Binn

¹H-RMI

Fraksi *n*-Butanol

Leilem

Clerodin

ABSTRACT

The clerodin compound has been identified in various plants of the *Clerodendrum* genus, this compound has antifeedant properties. Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm & Binn) belongs to the genus *Clerodendrum*. Leilem is an endemic plant to North Sulawesi, which is widely used as a food ingredient and traditional medicine. This research aims to isolate and identify clerodin derivative compounds from the *n*-butanol fraction of leilem leaves. The stages of compound isolation were solid-liquid extraction using maceration, fractionation using the liquid-liquid extraction method, separation of chemical components using the gravity column chromatography (KKG) and thin layer chromatography (TLC) methods, so that 2.1 mg of Fm1 isolate was obtained. Compound identification using the Proton Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy (1H-RMI) technique. The results identified the Fm1 isolate as a clerodin derivative compound.

ABSTRAK

Senyawa clerodin telah teridentifikasi pada berbagai tumbuhan genus *Clerodendrum*, senyawa ini bersifat *antifeedant*. Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm & Binn) tergolong dalam genus *Clerodendrum*. Leilem merupakan tumbuhan endemik Sulawesi Utara, yang banyak dimanfaatkan sebagai bahan makanan dan obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk mengisolasi dan mengidentifikasi senyawa turunan clerodin dari fraksi *n*-butanol daun leilem. Tahapan isolasi senyawa yaitu ekstraksi padat-cair dengan cara maserasi, fraksinasi dengan metode ekstraksi cair-cair, pemisahan komponen kimia dengan metode kromatografi kolom gravitasi (KKG) dan kromatografi lapis tipis (KLT), sehingga diperoleh isolat F_{m1} sebanyak 2,1 mg. Identifikasi senyawa menggunakan teknik Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti Proton (¹H-RMI). Hasil identifikasi isolat F_{m1} sebagai senyawa turunan clerodin.

*e-mail:

miguelwinokan12345@gmail.com

Pendahuluan

Senyawa bahan alam pada genus *Clerodendrum* seperti clerodin dan clerodane diterpene dari *Clerodendrum splendens* banyak teridentifikasi [1]. Clerodin merupakan senyawa yang bersifat *antifeedant* [2]. Senyawa clerodin dan turunannya teridentifikasi pada beberapa tumbuhan genus *Clerodendrum* yaitu pada *Clerodendrum trichotonum*, *Clerodendrum infortunatum*, *Clerodendrum phlomidis*, *Clerodendrum brachyanthum* [3] [4] [5].

Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. &

Binn) tergolong dalam genus *Clerodendrum* dan secara etnomedikal berbagai spesies tumbuhan dari genus ini, banyak dimanfaatkan dalam bidang kesehatan [6]. Leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn) merupakan tumbuhan endemik provinsi Sulawesi Utara, pada umumnya masyarakat di daerah Sulawesi Utara memanfaatkan daun leilem sebagai sayuran dan juga sebagai bahan obat tradisional. Masyarakat disana percaya bahwa leilem dapat mengobati sakit perut, cacingan dan penyakit paru-paru [7]. Golongan senyawa

metabolit sekunder yang terkandung pada daun leilem yaitu, alkaloid, saponin, flavonoid, steroid dan fenolik [8].

Penelitian sebelumnya mengenai isolasi senyawa metabolit sekunder pada fraksi n-heksan daun leilem terdapat senyawa golongan terpenoid yaitu 14,15-dimetil-8,13(14)-dienklerodin [9], golongan steroid yaitu Stigmasta-5,22-dien-3-ol [10] dan golongan flavonoid yaitu 3,5,2'-trihidroksi-6-metil-3,4-divinil flavan [11].

Senyawa turunan clerodin merupakan metabolit sekunder yang dihasilkan tumbuhan dapat diperoleh dengan cara isolasi dan pemurnian, senyawa metabolit ini dihasilkan tumbuhan untuk menunjang kehidupannya. Senyawa yang dihasilkan dapat berbeda pada setiap tumbuhan dan senyawa yang dihasilkan dapat dipengaruhi oleh lingkungannya.

Penelitian sebelumnya belum dilanjutkan pada fraksi *n*-butanol daun leilem dan berdasarkan manfaat dan potensi aktivitas biologi daun leilem maka peneliti tertarik untuk melakukan isolasi dan identifikasi senyawa turunan oktahidronaftalen pada fraksi *n*-butanol daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn).

Metode

Alat

Seperangkat alat rotary evaporator, seperangkat alat pemancar sinar UV, gelas beker, gelas ukur, pipet tetes, corong pisah, kertas saring, neraca analitik, botol vial, spatula, batang pengaduk, chamber, hot plate, corong, Instrumen Resonansi Magnetik Inti Proton (¹H-RMI)

Bahan

Daun leilem (*Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn), etanol, *n*-heksan, etil asetat, *n*-butanol, metanol, plat KLT 60 F₂₅₄, H₂SO₄ 10 % dalam metanol, reagen Wagner, reagen Mayer, FeCl₃, kloroform, ammonia, NaOH, aquades

Prosedur Kerja

Preparasi Sampel Daun Leilem

Daun leilem dipetik dari pohon, dicuci, ditimbang.

Skrining Fitokimia

Uji Fenolik

- Sampel diekstraksi dengan etanol sebanyak 3 mL
- Disaring dengan kapas
- Dipindahkan ke tabung lain
- Ditambahkan FeCl₃ 5% sebanyak 2-3 tetes
- Sampel (+) mengandung fenolik bila mengalami perubahan warna menjadi biru kehitaman.

Uji Tannin

- Sampel diekstraksi dengan air panas sebanyak 5 mL
- Disaring dengan kapas
- Dipindahkan ke tabung lain
- Ditambahkan FeCl₃ 10% sebanyak 2-3 tetes
- Sampel (+) mengandung tannin bila mengalami perubahan warna menjadi biru kehitaman

Uji Saponin

- Diekstraksi dengan etanol sebanyak 5 mL
- Disaring dengan kapas
- Dipindahkan ke tabung lain
- Dikocok kuat dan didiamkan selama 10 menit
- Sampel (+) mengandung saponin bila terdapat buih dengan intensitas yang banyak dan konsisten selama 10 menit

Uji Terpen dan Steroid

- Sampel sebanyak 5 g diekstraksi dengan etanol sebanyak 5 mL
- Disaring dengan kapas
- Dipindahkan ke gelas beker
- Dipanaskan sampai kering
- Diekstraksi dengan kloroform & air (1:1)
- Ekstrak kloroform diteteskan pada plat tetes sebanyak 2 tetes
- Dibiarkan sampai kering
- Ditambahkan asam sulfat pekat
- Sampel (+) bila mengalami perubahan warna merah atau coklat mengandung terpenoid (triterpen), biru, ungu atau hijau mengandung steroid

Uji Alkaloid

- 4 g sampel, digerus dan diekstraksi dengan kloroform sebanyak 5 mL
- Ekstrak kloroform dimasukkan kedalam tabung A, dan B sebanyak 10 tetes
- Ditambahkan 2 tetes ammonia
- Tabung A dan B masing-masing ditambahkan H₂SO₄ 2N sebanyak 10 tetes

- Dikocok kuat
- Tabung A ditambahkan reagen Wagner 2 tetes
- Tabung B ditambahkan reagen Mayer 2 tetes
- Tabung A (+) bila endapan kecoklatan, tabung B (+) bila endapan krem

Uji Flavonoid

- Dimasukkan sampel kedalam tabung A dan B, masing-masing sebanyak 2 g
- Diekstraksi dengan metanol sebanyak 3 mL
- Disaring dengan kapas
- Masing-masing dipindahkan ke tabung lain
- Sampel dari tabung A ditambahkan H₂SO₄ sebanyak 2 tetes, dikocok kuat
- Sampel dari tabung B ditambahkan NaOH 10% sebanyak 2 tetes, dikocok kuat

Sampel dari tabung A (+) mengandung flavonoid bila terjadi perubahan warna yang sangat mencolok (kuning, merah atau coklat) sedangkan sampel dari tabung B (+) mengandung flavonoid bila terjadi perubahan warna yang sangat mencolok (kuning, merah, coklat atau hijau)

Ekstraksi dan Fraksinasi

Ekstraksi padat cair serbuk leilem dilakukan dengan metode maserasi dan fraksinasi dengan ekstraksi cair-cair. Maserasi dilakukan untuk melarutkan zat aktif dalam larutan penyari karena adanya perbedaan konsentrasi larutan zat aktif dalam sel dan luar sel [12]. Fraksinasi pada prinsipnya adalah proses penarikan senyawa pada suatu ekstrak dengan menggunakan dua macam pelarut yang tidak saling bercampur, pelarut yang umumnya dipakai untuk fraksinasi adalah air, n-heksan, etil asetat, dan metanol [13].

Serbuk leilem sebanyak 750 g ditempatkan dalam maserator, ditambahkan pelarut etanol 70% hingga semua simplisia terendam, didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam sambil sesekali diaduk, setelah 24 jam simplisia disaring sehingga diperoleh filtrat dan residu. Residu diremaserasi dengan prosedur yang sama, remaserasi dilakukan sebanyak tiga kali, dilakukan penyaringan dan pergantian pelarut setiap 1 × 24 jam. Filtrat ditampung dan diperoleh sebanyak 9 liter, selanjutnya filtrat diuapkan dengan alat rotari evaporator hingga diperoleh ekstrak kental etanol sebanyak 28,5 g.

Selanjutnya dilakukan fraksinasi pada ekstrak kental etanol, fraksinasi dilakukan dengan metode ekstraksi cair-cair. Biasanya ekstrak kental dilarutkan kedalam air dan dipartisi berturut-turut dengan n-heksan, etil asetat dan n-butanol dengan perbandingan terhadap air (1:1). Ekstrak kental etanol dilarutkan dengan aquades 100 mL dimasukkan kedalam corong pisah, sebanyak 100 mL n-heksan ditambahkan kedalam corong pisah dicampurkan dengan cara di gojok, didiamkan selama 1 × 24 jam setelah itu dipisahkan lapisan n-heksan dan air, dipartisi dengan n-heksan dilakukan terus menerus dengan prosedur yang sama hingga lapisan n-heksan yang terbentuk tidak berwarna/bening, filtrat ditampung dan diuapkan dengan alat rotary evaporator. Selanjutnya dipartisi dengan etil asetat kemudian n-butanol dengan prosedur yang sama. Diperoleh ekstrak kental fraksi n-heksan sebanyak 4,04 g, fraksi etil asetat sebanyak 1,07 g, fraksi n-butanol sebanyak 2,33 g.

Pemisahan dan Pemurnian

Pemisahan dan pemurnian ekstrak fraksi n-butanol dilakukan dengan metode kromatografi kolomgravitasi. Kromatografi kolom gravitasi merupakan metode pemisahan yang didasarkan atas diferensial komponen sampel diantara fasa diam (silika gel) dan fasa gerak (eluen) [14].

Ekstrak fraksi n-butanol dianalisis dengan uji KLT untuk memilih eluen dengan pola pemisahan noda yang baik, pelat KLT (silika gel G₆₀ F₂₅₄) dielusi dengan pelarut etil asetat : metanol (7:3, 6:4). Setelah dielusi pelat KLT disemprotkan H₂SO₄ 10% dalam metanol, lalu dipanaskan. Hasil pola pemisahan yang baik ditunjukkan pada perbandingan (6:4).

Ekstrak fraksi n-butanol daun leilem dikromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan fasa gerak eluen etil asetat : metanol (6 : 4) dan fasa diam silika gel, eluat hasil KKG ditampung dalam vial, 1 mL/vial.

Hasil KKG diperoleh 75 vial, vial-vial dianalisis dengan uji KLT, berdasarkan hasil uji KLT vial-vial digabung, digabung vial 1-14 (F₁) 391,0 mg dan vial 15-75 (F₂) 408,2 mg. F₁ dan F₂ dianalisis dengan KLT eluen etil asetat : metanol (6:4, 7:3), berdasarkan pola pemisahan F₁ yang

kemudian direkromatografi dengan fasa gerak etil asetat : metanol (7:3) dan fasa diam silika gel.

Hasil rekromatografi F_1 diperoleh 80 botol vial, tiap botol vial dianalisis dengan KLT. Vial-vial digabung berdasarkan hasil uji KLT, vial 1-4 ($F_{1.1}$) 3,4 mg dan vial 5-80 ($F_{1.2}$) 93 mg

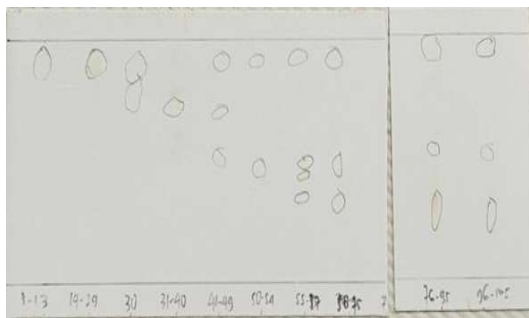
$F_{1.1}$ dan $F_{1.2}$ dianalisis dengan uji KLT dengan eluen etil asetat : metanol (7:3, 9:1) untuk melihat pola pemisahan. Berdasarkan hasil uji KLT, $F_{1.2}$ direkromatografi kolom gravitasi (KKG) dengan fasa gerak etil asetat : metanol (9:1) dan fasa diam silika gel.

Hasil KKG $F_{1.2}$ diperoleh 105 botol vial, tiap botol vial dianalisis dengan uji KLT dengan eluen etil asetat : metanol (9:1). Vial-vial dengan nilai R_f yang sama digabung sehingga diperoleh vial 1-13 ($F_{1.2.1}$) 0,7 mg, vial 14-29 ($F_{1.2.2}$) 1,4 mg, ($F_{1.2.3}$) 3 mg, ($F_{1.2.4}$) 2,3 mg, ($F_{1.2.5}$) 1,6 mg, ($F_{1.2.6}$) 1,0 mg, ($F_{1.2.7}$) 1,1 mg, ($F_{1.2.8}$) 2 mg, ($F_{1.2.9}$) 3 mg, ($F_{1.2.10}$) 1,1 mg.

$F_{1.2.1}$ – $F_{1.2.10}$ dianalisis dengan KLT, hasil uji KLT menunjukkan $F_{1.2.1}$ dan $F_{1.2.2}$ relatif murni ditandai dengan satu noda pada pelat KLT sehingga disebut isolat. Isolat $F_{1.2.1}$ dan $F_{1.2.2}$ memiliki nilai R_f yang sama dan digabung sehingga diperoleh isolat F_{m1} . Isolat F_{m1} kemudian diidentifikasi dengan spektroskopi resonansi magnetik inti proton (1H -NMR). Hasil identifikasi diperoleh pergeseran kimia proton yang ditunjukkan pada tabel 2.

Hasil dan Pembahasan

Berikut gambar hasil KLT ditunjukkan pada gambar 1 dan gambar 2.



Gambar 1. Uji KLT $F_{1.2.1}$ – $F_{1.2.10}$

Hasil uji KLT $F_{1.2.1}$ dan $F_{1.2.2}$ dilanjutkan untuk diidentifikasi karena menunjukkan satu noda yang relatif murni pada pelat yang disemprotkan dengan penampak noda H_2SO_4 10 % dalam metanol dan pada lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm.



Gambar 2. Pelat KLT $F_{1.2.1}$ dan $F_{1.2.2}$ disinari lampu UV pada panjang gelombang 366 nm

Isolat $F_{1.2.1}$ dan $F_{1.2.2}$ juga memiliki noda dengan nilai r_f yang sama (0,78) sehingga digabung dan diperoleh isolat F_{m1} sebanyak 2,1 mg. Isolat F_{m1} selanjutnya diidentifikasi dengan instrument Resonansi Magnetik Inti Proton (1H RMI) untuk menentukan struktur senyawa.

Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Sampel Daun Leilem

No	Golongan metabolit Sekunder	Hasil
1	Fenolik	+
2	Tannin	++
3	Saponin	-
4	Terpenoid	+
5	Steroid	+
6	Alkaloid	++
7	Flavonoid	++

Hasil skrining fitokimia terdapat beberapa golongan senyawa metabolit sekunder pada sampel daun leilem yaitu fenolik, tannin, terpenoid, steroid alkaloid dan flavonoid. Hasil tersebut menunjukkan terdapat banyak senyawa golongan tannin, alkaloid dan flavonoid pada sampel daun leilem.

Identifikasi Senyawa

Data tabulasi ditunjukkan pada tabel 2. Metode identifikasi senyawa digunakan instrumen 1H -RMI. Spektroskopi 1H -RMI didasarkan pada penyerapan gelombang radio oleh inti-inti proton dalam molekul organik, apabila molekul ini berada dalam medan magnet yang kuat [15].

Isolat F_{m1} diidentifikasi dengan spektroskopi resonansi magnetik inti proton (1H -NMR) bruker 700 MHz, menggunakan pelarut *dimethyl sulfoxide-d₆* (DMSO). Pergeseran proton yang diperoleh

ditabulasikan dengan jurnal pembandingan [2].

Tabel 2. Tabulasi Data Pergeseran Proton Isolat F_{m1} dan Pembandingan

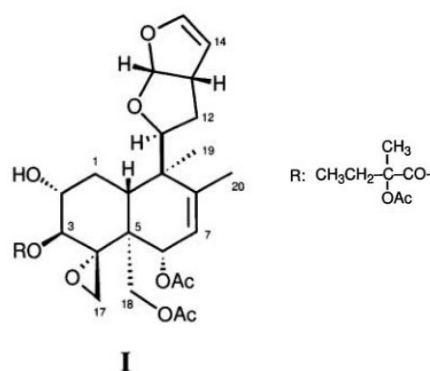
Posisi ¹ H	Pergeseran ¹ H RMI (ppm)	
	Isolat F _{m1}	Jurnal Pembandingan [2]
H-1	2.603m	2.67m
H-2	3.81m	3.61m
H-3	5.40d	5.48d
H-6	5.33 br s	5.23 br s
H-7	4.73br s	5.03br s
H-11	3.90dd	4.07 dd
H-13	3.57 br t	3.49br t
H-14	4.72t	4.80t
H-15	5.76t	6.43t
H-16	5.63d	6.06d
H-17a	2.606d	2.82d
H-17b	2.52d	2.63d
H-18a	4.72d	4.61d
H-18b	4.39d	4.45d
H-19	1.24s	1.23s
H-20	1.53br s	1.67br s
H-2'	-	-
H-3'	1.87m	1.8m
H-4'	0.88t	0.94t
2'Me	1.63s	1.56s
OAc	2.18s	2.14s
OAc	2.09s	2.09s
OAc	2.01s	2.00s

Dari data tabulasi Tabel 2 menunjukkan bahwa terdapat beberapa sinyal proton yang khas pada inti naftalen dengan substituenya. Interpretasi data tabulasi pergeseran kimia proton pada isolat F_{m1} adalah sebagai berikut:

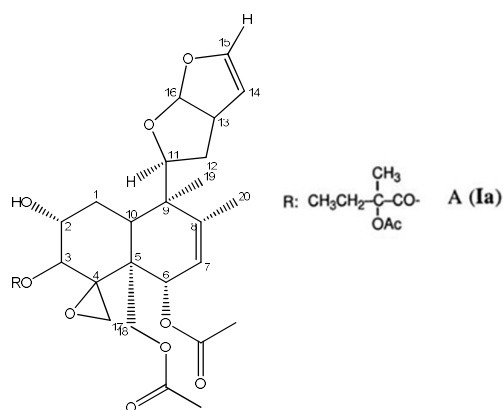
- Sinyal pada pergeseran δH 3.81m mengindikasikan proton pada karbon sekunder dalam inti oktahidronaftalen, yang berikatan dengan gugus OH
- Sinyal pada pergeseran δH 5.33br s mengindikasikan proton pada karbon sekunder dalam inti oktahidronaftalen yang berikatan dengan gugus OAc
- Sinyal pada pergeseran δH 4.73br s mengindikasikan proton pada karbon yang berikatan rangkap pada inti oktahidronaftalen
- Sinyal pada pergeseran 2.18s, 2.09s dan 2.01s mengindikasikan karbon primer pada gugus OAc ($-\text{CH}_3$)
- Sinyal pada pergeseran δH 5.76t mengindikasikan proton pada karbon sekunder pada inti tetrahidrofuro. Pergeseran δH 5.76t merupakan pergeseran yang khas pada karbon ikatan rangkap dua.

Berdasarkan data pergeseran proton (δH) isolat F_{m1} yang dibandingkan dengan data pergeseran kimia proton (δH) dalam literatur [2] maka dibuat usulan struktur seperti pada

Gambar 3 dan pembandingan pada Gambar 4.



Gambar 3. Usulan struktur isolat F_{m1}



Gambar 4. Struktur senyawa pembandingan Clerodin A (Ia) [2]

Kesimpulan

Berdasarkan data pergeseran Resonansi Magnetik Inti Proton (¹H-RMI) isolat F_{m1} dibandingkan dengan literatur penelitian senyawa Clerodin A (Ia) [2] mempunyai kemiripan, sehingga struktur senyawa usulan hanya mengikuti senyawa pembandingan. Disimpulkan bahwa Isolat F_{m1} dari fraksi *n*-butanol daun leilem *Clerodendrum minahassae* Teijsm. & Binn mengindikasikan suatu senyawa turunan clerodin.

Daftar Pustaka

1. Faiella, L.; Temraz, A.; Cotugno, R.; De Tommasi, N.; Braca, A. Diterpenes and Phenylpropanoids from *Clerodendrum Splendens*. *Planta Med* **2013**, *79*, 1341–1347, doi:10.1055/s-0033-1350648.
2. Gebbinck, E.A.K.; Jansen, B.J.M.; de Groot, A. Insect Antifeedant Activity of Clerodane Diterpenes and Related Model Compounds. *Phytochemistry* **2002**, *61*, 737–770.
3. Kawai, K.; Amano, T.; Nishida, R.; Kuwahara, Y.; Fukami, H. Clerodendrins from *Clerodendron trichotomum* and Their Feeding Stimulant Activity for the Turnip Sawfly. *Phytochemistry* **1998**, *49*,

- 1975–1980, doi:10.1016/S0031-9422(98)00431-2.
4. Kumar, P.; Kumar, H.; Kumar, D.; Kumar, J. Isolation of clerodin from *Clerodendron infortunatum* Linn. and its anthelmintic activity. *International Journal of Academic Research and Development* **2018**, *3*, 508-512.
 5. Sen, A.; Kar, P.; Goyal, A.; Das, A. Antioxidant and Pharmaceutical Potential of *Clerodendrum* L.: An Overview. *Int J Green Pharm* **2014**, *8*, 210, doi:10.4103/0973-8258.142671.
 6. Shrivastava, N.; Patel, T. *Clerodendrum* and Healthcare: An Overview. *Medicinal and Aromatic Plant Science and Biotechnology* **2007**, *1*, 142-150.
 7. Astuty Lolo, W.; Yudistira, A. Pelatihan Pembuatan Teh Celup Daun Leilem (*Clerodendrum Minahassae* L.) Sebagai Upaya Pemanfaatan Tanaman Endemik Berkhasiat Obat Bagi Masyarakat Kelurahan Watulambot Kecamatan Tondano Barat Kabupaten Minahasa. *lentera* **2022**, *3*, 45–49, doi:10.57207/lentera.v3i2.29.
 8. Wurarah, M.; Mokosuli, Y.S. Inhibition of bacterial growth of Leilem leaf extract (*Clerodendrum minhassae* Teijsm. & Binn): Inhibition of bacterial growth of Leilem leaf extract. *JBT* **2022**, *22*, 549–556, doi:10.29303/jbt.v22i2.3394.
 9. Kiroyan, B. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Diterpenoid dari Fraksi n-Heksan Pada Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*) [Skripsi]. Manado: *Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian Universitas Negeri Manado* **2015**.
 10. Tampubolon, E. Isolasi dan Identifikasi Stigmasterol Fraksi n-Heksan Dari Tumbuhan Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*) [Skripsi]. Manado: *Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian Universitas Negeri Manado* **2015**.
 11. Wowor, J. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Flavonoid dari Fraksi n-Heksan pada Daun Leilem (*Clerodendrum minahassae*) [Skripsi]. Manado: *Fakultas Matematika Ilmu Pengetahuan Alam dan Kebumian Universitas Negeri Manado* **2015**.
 12. Hujjatusnaidi, N.; Indah, B.; Afitri, E.; Widyastuti, R.; Ardiansyah. Buku Referensi Ekstraksi. *Insitut Agama Islam Negeri Palangkaraya* **2021**.
 13. Nurdia. Isolasi dan Identifikasi Antioksidan Terhadap Daun Pedada (*Sonneratia caseolaris* L.) [Skripsi]. *Universitas Negeri Alauddin Makassar* **2017**.
 14. Soebagio.; Budiasih, E.; Ibnu, S. M.; Widarti, R. H.; Munzil. *Kimia Analitik II*. Malang : Penerbit *Universitas Negeri Malang* **2005**, Hal. 1-200
 15. Fessenden, R. J.; Fessenden, J. S. *Kimia Organik Jilid I*. Edisi ke-3. Jakarta: Penerbit *Erlangga* **1986**.