

# Analisis Korelasi antara Efek Proliferasi Limfosit dengan Kandungan Fenolik dan Flavonoid Subfraksi Etil Asetat *Myrmecodia tuberosa* (Non Jack) Bl. secara *In Vitro* pada Mencit BALB/C

## (Correlation Analysis between Lymphocyte Proliferation Effect with Phenolic and Flavonoid Contents of Ethyl acetate Subfraction of *Myrmecodia tuberosa* (Non Jack) Bl. in BALB/C Mice, *In Vitro*)

AKHMAD KHUMAIDI<sup>1\*</sup>, TRIANA HERTIANI<sup>2\*</sup>, EDIATI SASMITO<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Farmakognosi-Fitokimia, Prodi Farmasi Universitas Tadulako, Palu, 94118.

<sup>2</sup>Laboratorium Fitokimia, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281.

<sup>3</sup>Laboratorium Kimia Medisinal, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta, 55281.

Diterima 1 Mei 2014, Disetujui 27 Februari 2015

**Abstrak:** Fraksi etil asetat tumbuhan sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl.) memiliki efek sebagai imunomodulator berdasarkan penelitian sebelumnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan indeks stimulasi dari masing-masing subfraksi terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit mencit BALB/C secara *in vitro* dan untuk mengetahui aktivitas proliferasi sel limfosit tersebut berkorelasi dengan kandungan flavonoid total dan fenolik total atau tidak. Uji aktivitas proliferasi sel limfosit dilakukan dengan metode MTT. Penetapan kadar flavonoid total dilakukan dengan metode kolorimetri dan fenolik total dengan metode Folin-Ciocalteu. Hasil penelitian menunjukkan profil indeks stimulasi berkorelasi positif dengan kadar flavonoid total ( $R^2 = 0,606$ ), sedangkan terhadap kadar fenolik total berpengaruh lemah ( $R^2 = 0,167$ ).

**Kata kunci:** *Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl., proliferasi limfosit, metode MTT.

**Abstract:** Ethyl acetate fraction of *Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl. expressed potential immunomodulatory effect in preliminary study. This study was aimed to determine the stimulation index of each subfraction towards lymphocyte of BALB/C mice by *in vitro* technique and to explore the activity of lymphocyte proliferation correlated to total flavonoid and total phenolic contents. Lymphocyte proliferation assay was performed by MTT. Determination of total flavonoid content was done by a colorimetric method while the total phenolic was tested by the Folin-Ciocalteu method. The results showed stimulation index profile was positively correlated with the total flavonoid content ( $R^2 = 0,606$ ) while weak correlation was observed on the total phenolic content ( $R^2 = 0,167$ ).

**Keywords:** *Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl., lymphocyte proliferation, MTT method

### PENDAHULUAN

INDONESIA merupakan negara kepulauan dengan luas wilayah mencakup 7,7 juta km<sup>2</sup> yang terdiri atas luas daratan seluas 1,9 juta km<sup>2</sup> dan sisanya merupakan

luas perairan. Daratan Indonesia mencakup sekitar 17.000 pulau<sup>(1)</sup>. Jenis tumbuhan yang tumbuh di Indonesia mencapai 30.000 jenis dari total 40.000 jenis tumbuhan di dunia yang tersebar dari berbagai pulau tersebut dan 940 jenis diantaranya merupakan tumbuhan berkhasiat obat (90% dari jumlah tumbuhan obat di Asia). Sekitar 78% tumbuhan obat diperoleh

\* Penulis korespondensi, Hp. 081354379620  
e-mail: akhmad\_khumaidi@yahoo.co.id

dengan cara pengambilan langsung dari hutan dan sekitar 20-22% yang telah dibudidayakan<sup>(2)</sup>.

Pemanfaatan tumbuhan berkhasiat obat oleh masyarakat salah satunya adalah untuk mengatasi masalah kesehatan. Pemanfaatan tersebut umumnya merupakan hasil pewarisan secara turun-temurun<sup>(3)</sup>. Salah satu jenis tumbuhan obat yang telah digunakan di daerah Papua dan juga daerah-daerah lainnya adalah tumbuhan sarang semut/ *Myrmecodia* sp.<sup>(4)</sup>. Tumbuhan sarang semut digunakan untuk mengobati penyakit antara lain diare, maag, rematik, wasir, diabetes, TBC, jantung koroner, stroke, kanker otak serta kanker rahim<sup>(5,6)</sup>.

Hasil penelitian sebelumnya menyebutkan bahwa fraksi etil asetat umbi sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl.) memiliki efek dapat meningkatkan proliferasi sel limfosit mencit BALB/c secara *in vitro*<sup>(7)</sup>. Hasil analisis kandungan senyawa fenolik total dan flavonoid total, fraksi aktif tersebut mengandung senyawa fenolik 2,45% dan senyawa flavonoid 2,15%<sup>(8)</sup>. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui profil indeks stimulasi masing-masing subfraksi dan untuk mengetahui korelasi kandungan flavonoid total dan fenolik total dari hasil fraksinasi fraksi etil asetat *Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl. terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit mencit BALB/c secara *in vitro*.

**BAHAN DAN METODE**

**BAHAN.** Bahan tumbuhan sarang semut dikoleksi dari daerah Babo, Kabupaten Bintuni, Provinsi Papua Barat pada bulan Maret 2011 dengan *voucher specimen* No.BF/10/Ident/Det/I/2012 yang disimpan di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Bahan penelitian meliputi media RPMI-1640 (Gibco), hepes (N-2-hidroksietilpiperazin - N'-2 - etansulfonat) (Sigma-Aldrich), natrium bikarbonat (Sigma-Aldrich), fetal bovine serum (FBS) (Gibco), penstrep (Sigma-Aldrich), fungison (Gibco), sodium dodesil sulfat (SDS) (Merck), tween 80 (Merck), MTT (3 - (4,5 - dimetiltiazol - 2 - il) - 2.5 - difeniltetrazolium bromida) (Merck), vaksin hepatitis B (Havrix® Glaxo Smith Kline), dapar tris amonium klorida (Merck), serta bahan-bahan ekstraksi dan fraksinasi seperti etanol, *n*-heksana, etil asetat (derajat teknis) dan air suling.

**Alat.** Alat ekstraksi dan fraksinasi, inkubator CO<sub>2</sub> (Memmert), plat mikro 96-sumuran (Nunc), *microplate reader* (Bio-Rad Benchmark), sentrifuga (Sorvall® Biofuge), *laminar air flow* (Erci), *inverted microscope* (Olympus), hemasitometer (Neubauer), mikropipet (Socorex), timbangan AB 204 S d = 0,1 mg, e = 1 mg (Mettler Toledo), labu takar volume 5,0

mL dan 10,0 mL (Pyrex®), spektrofotometer UV-Vis (Genesys 10 UV/Visible) dan alat-alat bedah steril.

**METODE. Pembuatan Ekstrak, Fraksi dan Subfraksi.** Pembuatan ekstrak dilakukan dengan metode remaserasi seperti metode yang dilakukan oleh Hertiani (2010)<sup>(7)</sup>. Pembuatan ekstrak dilakukan dengan cara serbuk seberat 1.000 g direndam dengan pelarut etanol 95 % (berderajat teknis) selama 3 x 24 jam. Selanjutnya dipekatkan dengan *vacuum rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak etanol. Ekstrak etanol sarang semut yang diperoleh, kemudian dipartisi cair-cair dengan menggunakan corong pisah dengan pelarut *n*-heksana, etil asetat dan air. Fraksi etil asetat kemudian difraksinasi lebih lanjut dengan kromatografi cair vakum (KCV) dengan sistem gradien kepolaran dimulai dari *n*-heksana, campuran *n*-heksana-etil asetat, etil asetat, campuran etil asetat-metanol dan metanol<sup>(9)</sup>.

**Uji Proliferasi Sel Limfosit dengan Metode MTT Reduction.** Metode ini didasarkan pada pengukuran serapan dari sel limfosit yang berisi sampel uji dengan dosis 10, 20, 50 dan 100 µg/mL setelah diinkubasi selama 48 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO<sub>2</sub> pada suhu 37 °C. Sel limfosit yang hidup akan bereaksi dengan MTT membentuk kristal formazan. Pengukuran serapan (absorbansi/ A) dilakukan dengan *microplate reader* pada panjang gelombang (λ)550 nm. Data yang diperoleh dianalisis secara statistik dengan metode ANOVA. Hasil data serapan (A) dikonversi menjadi data indeks stimulasi (IS) proliferasi sel limfosit<sup>(10)</sup>, seperti pada persamaan berikut:

$$IS_{\text{proliferasi}} = A_{\text{Sampel}} / A_{\text{Kontrol (Normal)}}$$

**Penetapan Kadar Fenolik Total.** Fenolik total subfraksi ditentukan berdasarkan metode Folin-Ciocalteu yang disesuaikan<sup>(11)</sup>. Sebanyak 0,2 mL sampel dimasukkan ke dalam labu takar 10,0 mL, kemudian ditambahkan 3 mL akuabides. Selanjutnya larutan sampel ditambahkan dengan 0,4 mL pereaksi Folin-Ciocalteu, dan dibiarkan selama 5 menit lalu dilakukan penambahan 4 mL Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 7% dan dicukupkan volumenya sampai 10,0 mL dengan akuabides. Larutan sampel dibiarkan selama 90 menit dan diukur serapannya pada panjang gelombang maksimal (λ<sub>maks</sub>) dengan spektrofotometer UV-Vis. Asam galat digunakan sebagai standard untuk kurva kalibrasi dengan konsentrasi 50, 100, 150, 250 dan 350 µg/mL. Total fenolik sampel dihitung setara dengan jumlah (g) asam galat/100 g sampel.

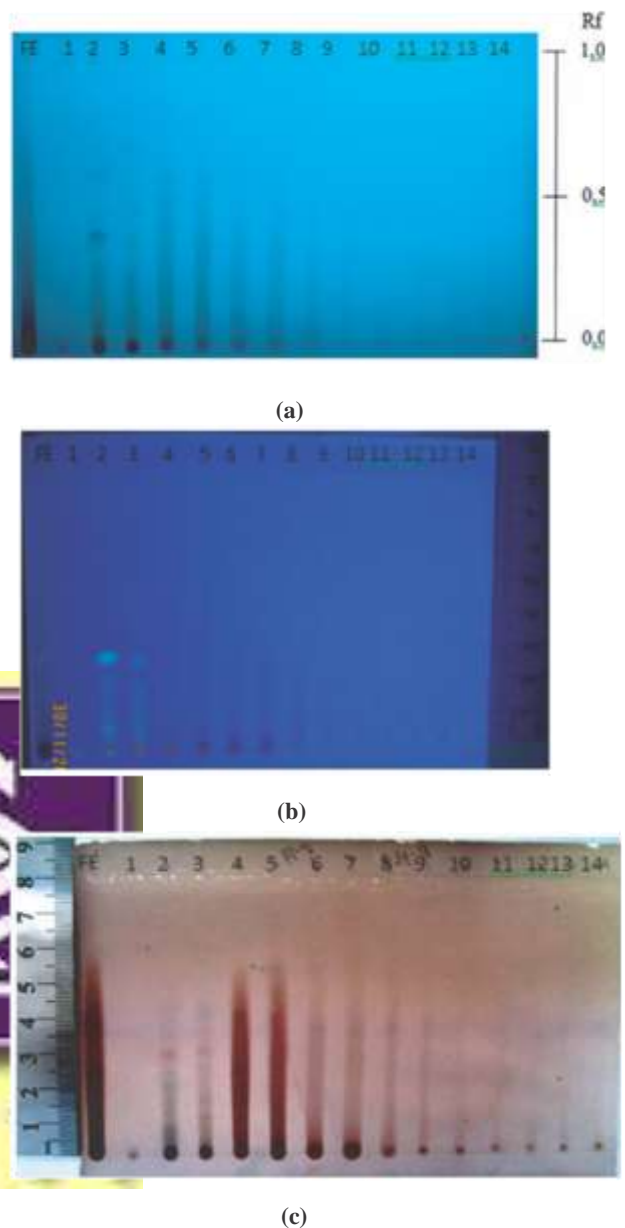
**Penetapan Kadar Flavonoid Total.** Flavonoid total subfraksi dihitung berdasarkan metode kolorimetri<sup>(12)</sup>. Setiap 0,2 mL larutan sampel ditambahkan 3,7 mL etanol 95%, 0,1 mL AlCl<sub>3</sub>

10%, 0,1 mL kalium asetat 1 M dan 1 mL air suling, lalu dicampur hingga homogen dan didiamkan selama 30 menit. Kemudian diukur serapannya pada  $\lambda_{maks}$ . Kuersetin digunakan sebagai standard untuk kurva kalibrasi dengan konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 dan 600  $\mu\text{g/mL}$ . Total flavonoid sampel dihitung setara dengan jumlah (g) kuersetin/100 g sampel.

**HASIL DAN PEMBAHASAN**

**Ekstraksi, Fraksinasi dan Subfraksinasi.** Pembuatan ekstrak dilakukan setelah sampel penelitian diidentifikasi di Bagian Biologi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada. Ekstraksi dilakukan dengan metode remaserasi sebanyak 4 kali menggunakan pelarut etanol 95 % (berderajat teknis) dengan volume 1,5 L (setiap maserasi) dari serbuk seberat 1.000 g dan perendaman selama 3 x 24 jam diperoleh 114,24 g ekstrak etanol (rendemen 11,42 %). Hasil fraksinasi dari 111,71 g ekstrak etanol diperoleh fraksi n-heksana seberat 10,03 g (8,97 %), fraksi etil asetat seberat 33,63 g (30,10 %) dan fraksi air seberat 13,96 g (12,50 %).

Pemisahan komponen kimia fraksi etil asetat dilakukan secara kromatografi cair vakum dengan menggunakan fase diam silika gel  $F_{254}$  dan eluen bersistem gradien kepolaran. Berdasarkan kromatogram, diperoleh lima subfraksi. Berdasarkan kromatogram yang diperoleh (Gambar 1) yaitu dengan melihat profil dari hasil KLT pada fase diam silika gel 60 RP-18 dan fase diam silika gel 60  $F_{254}$  (gambar tidak ditampilkan), selanjutnya dilakukan penggabungan fraksi, sehingga diperoleh lima subfraksi seperti disajikan pada Tabel 1. Total rendemen menunjukkan terdapat 18,22% materi yang hilang, kemungkinan merupakan senyawa fenolik yang berikatan dengan silika gel yang digunakan sebagai fase diam. Berdasarkan profil kromatogram yang diperoleh memberikan gambaran bahwa subfraksi-subfraksi mengandung senyawa fenolik, hal ini tampak terlihat dari bercak gelap dengan latar



**Gambar 1.** Foto KLT hasil KCV, menggunakan fase diam silika gel 60 RP-18  $F_{254}$ . S. Eluen: metanol-air (1:1), jarak elusi 8 cm, (a) = pada lampu UV<sub>254</sub>, (b) = pada lampu UV<sub>366</sub>, (c) = pada sinar tampak setelah disemprot anisaldehyd-asam sulfat, FE = fraksi etil asetat, angka 1-14 menunjukkan subfraksi yang dikumpulkan.

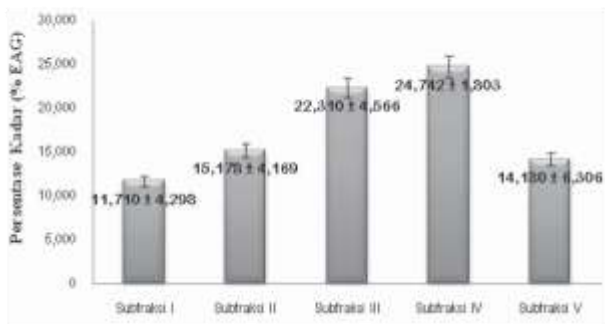
**Tabel 1.** Hasil subfraksi setelah penggabungan fraksi-fraksi.

Subfraksi	Gabungan fraksi	Rendemen (%)
Subfraksi I	Gabungan subfraksi no.1-3	11,33
Subfraksi II	Subfraksi no. 4	19,70
Subfraksi III	Subfraksi no.5	20,20
Subfraksi IV	Subfraksi no.6	10,34
Subfraksi V	Gabungan subfraksi no.7-14	20,21
Total		81,78

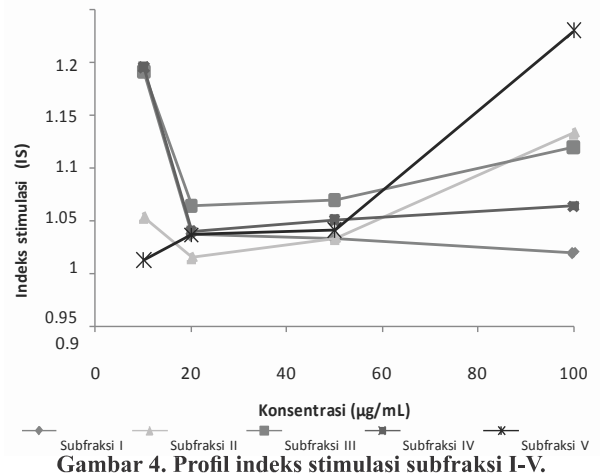
Ket. Penggabungan berdasarkan kemiripan profil KLT.

belakang fluoresensi pada  $\lambda$  254 nm, karena senyawa fenolik dapat menyerap sinar di daerah UV pendek<sup>(13)</sup>.

**Kadar Fenolik Total Subfraksi.** Berdasarkan kurva kalibrasi senyawa standar yang diperoleh dari hasil pengukuran dengan variasi konsentrasi asam galat pada 50, 100, 150, 250, dan 350  $\mu\text{g/mL}$  diperoleh persamaan regresi,  $y = 0,001 x + 0,102$  dengan  $R^2 = 0,972$  dan  $\lambda_{maks} = 762 \text{ nm}$ . Hasil analisis data (Gambar 2) menunjukkan bahwa subfraksi IV ( $24,742 \pm 1,803\%$ ) merupakan subfraksi dengan kadar fenolik total tertinggi dan subfraksi I ( $11,710 \pm 4,298\%$ ) memiliki kadar fenolik total terendah. Namun, persentase ini



Gambar 2. Diagram kadar fenolik total subfraksi dari fraksi etil asetat (rata-rata ± SD, n = 3, α = 0.05, EAG = ekuivalen asam galat).



Gambar 4. Profil indeks stimulasi subfraksi I-V.

(kadar fenolik total subfraksi I) relatif tinggi jika dibandingkan subfraksi kadar flavonoid total tertinggi

**Kadar Flavonoid Total Subfraksi.**

Persamaan regresi yang diperoleh dari standard baku kuersetin dengan variasi konsentrasi 100, 200, 300, 400, 500 dan 600 µg/mL diperoleh persamaan  $y = 0,001x - 0,069$  dengan  $R^2 = 0,983$  pada  $\lambda_{maks} = 432$  nm. Berdasarkan analisis data yang diperoleh (Gambar 3) menunjukkan bahwa subfraksi V merupakan subfraksi yang memiliki kadar flavonoid total tertinggi ( $6,158 \pm 1,298\%$ ) di antara subfraksi-subfraksi lainnya dan subfraksi II memiliki kadar flavonoid terendah dari seluruh subfraksi ( $2,980 \pm 0,324\%$ ).



Gambar 3. Diagram kadar flavonoid total subfraksi dari fraksi etil asetat (rata-rata ± SD, n = 3, α = 0.05, EQ = ekuivalen kuersetin).

**Aktivitas Proliferasi Sel Limfosit Subfraksi.**

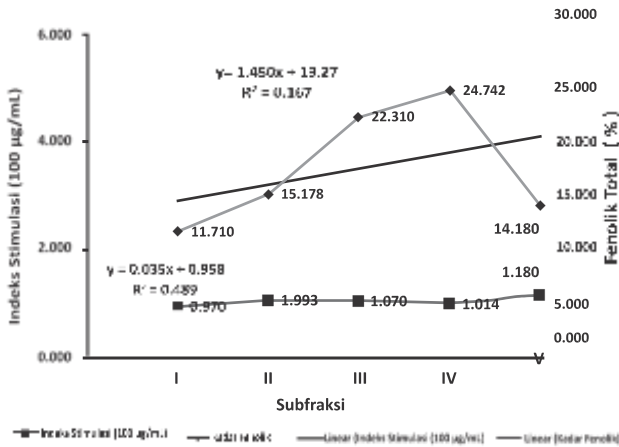
Nilai aktivitas setelah pemberian subfraksi terhadap proliferasi sel limfosit diperoleh dari data serapan sampel yang dikonversi menjadi data indeks stimulasi (IS) untuk setiap subfraksi<sup>(10)</sup>. Nilai IS masing-masing subfraksi dapat dilihat pada Gambar 4.

Profil IS proliferasi sel limfosit dari setiap subfraksi menunjukkan subfraksi V memiliki aktivitas yang cukup baik. Hal itu tampak terlihat dari grafik bahwa semakin tinggi konsentrasi sampel akan memberikan pengaruh peningkatan proliferasi sel limfosit yang cenderung semakin naik. Subfraksi V

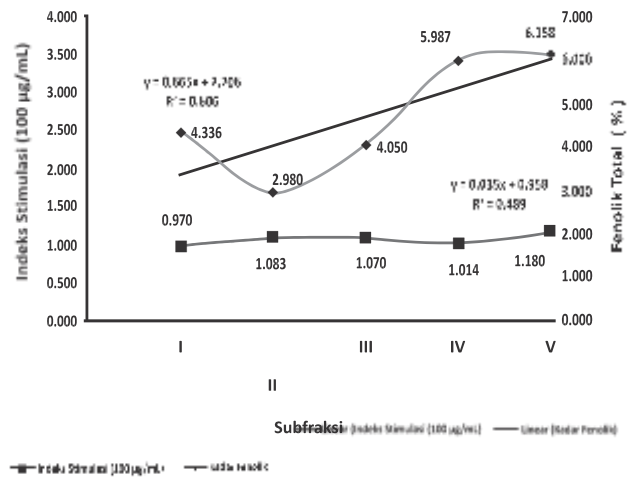
dengan kadar flavonoid total tertinggi menunjukkan bahwa dengan (jika dilihat dari seluruh flavonoid yang konsentrasi pengujian) memberikan kecenderungan pengaruh terhadap peningkatan proliferasi sel limfosit (imunostimulator).

Hal ini berbeda dengan yang terjadi pada sel limfosit yang ditambahkan sampel subfraksi I dimana dihasilkan dengan penambahan konsentrasi sampel tidak menghasilkan peningkatan IS proliferasi sel limfosit akan tetapi cenderung semakin menurunkan IS-nya meskipun kadar flavonoid totalnya cukup tinggi (imunosupresor). Ini menunjukkan bahwa tidak semua senyawa flavonoid mampu meningkatkan proliferasi sel limfosit tetapi justru ada yang menurunkan proliferasi sel limfosit. Hal ini sesuai dengan yang telah disebutkan oleh Walker *et al.* (2000 *cit.* Moskaug, 2004)<sup>(14)</sup> yaitu senyawa flavonoid seperti kuersetin, isoflavon genistein menghambat proliferasi sel limfosit. Senyawa kuersetin merupakan golongan senyawa flavonoid yang dapat memiliki efek penghambatan terhadap aktivitas protein kinase. Aktivitas penghambatan kuersetin berhubungan dengan kemampuannya berkompetisi dengan ikatan ATP (ATP-binding pocket) pada situs pengikatan nukleotida pada kinase.

Pengaruh pada pemberian subfraksi II menunjukkan adanya penurunan pada konsentrasi 10 µg/mL kemudian terjadi peningkatan indeks proliferasi sel limfosit pada konsentrasi 20, 50 dan 100 µg/mL. Aktivitas yang serupa juga ditunjukkan pada pemberian subfraksi III dan subfraksi IV. Ini menunjukkan bahwa kadar flavonoid yang kecil (konsentrasi sampel 10 µg/mL) masih belum mampu memberikan pengaruh yang positif terhadap peningkatan proliferasi limfosit dan kecenderungan peningkatan proliferasi sel limfosit terjadi pada konsentrasi 20, 50 dan 100 µg/mL. Selain itu juga pada pemberian sampel subfraksi II, III dan IV dengan konsentrasi 10 µg/mL memungkinkan



Gambar 5. Kurva korelasi indeks stimulasi vs kadar fenolik total subfraksi I-V.



Gambar 6. Kurva korelasi indeks stimulasi vs kadar flavonoid total subfraksi I-V.

adanya pengaruh senyawa lain yang dominan (selain flavonoid) yang bersifat immunosupresor.

Berdasarkan pada data IS proliferasi sel limfosit dan kadar fenolik total serta flavonoid total, memberikan gambaran bahwa kecenderungan peningkatan proliferasi sel limfosit masih dipengaruhi oleh kadar flavonoid daripada kadar fenolik. Kecenderungan peningkatan proliferasi sel limfosit yang dipengaruhi oleh kadar flavonoid (kadar flavonoid berkorelasi positif terhadap aktivitas proliferasi) sejalan dengan hasil penelitian yang dilakukan oleh Sumardi (2011) (tidak dipublikasikan). Namun hasil yang berbeda terjadi pada pengaruh kadar fenolik terhadap aktivitas peningkatan proliferasi sel limfosit. Hasil yang dilakukan oleh Sumardi (2011) menyebutkan kadar fenolik total berkorelasi negatif terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit. Hasil yang berbeda ini mungkin disebabkan oleh subfraksi aktif mengandung senyawa fenolik yang dapat menstimulasi proliferasi sel limfosit karena senyawanya lebih terkonsentrasi daripada yang berada pada fraksi etil asetat. Hubungan pengaruh kadar fenolik dan flavonoid subfraksi terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit dapat dilihat pada Gambar 5 dan 6.

Korelasi aktivitas peningkatan proliferasi sel limfosit dan kadar fenolik total subfraksi pada konsentrasi 100 µg/mL, mempunyai koefisien korelasi  $R^2 = 0,167$  ( $y = 1,450 + 13,27$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa 16,7% aktivitas proliferasi sel limfosit dipengaruhi oleh kadar fenolik subfraksi. Korelasi aktivitas dari pengaruh kadar flavonoid subfraksi pada konsentrasi yang sama terhadap aktivitas peningkatan proliferasi sel limfosit mempunyai koefisien korelasi  $R^2 = 0,606$  ( $y = 0,665 + 2,706$ ). Hasil ini menunjukkan bahwa 60,6 % aktivitas proliferasi sel limfosit dipengaruhi oleh kadar flavonoid subfraksi.

Efek peningkatan proliferasi sel limfosit yang ditimbulkan oleh senyawa flavonoid kemungkinan

disebabkan oleh senyawa flavonoid dapat mempengaruhi aktivitas protein tirosin kinase, dimana protein kinase dapat mengkatalisis reaksi fosforilasi seluler yang kemudian akan menghasilkan sinyal proliferasi sel limfosit<sup>(15)</sup>. Namun demikian, hal ini masih perlu dibuktikan dengan melakukan pengujian aktivitas senyawa flavonoid pada jalur sinyal transduksi proliferasi sel limfosit.

Data IS yang diperoleh pada pemberian konsentrasi uji 100 µg/mL subfraksi V menunjukkan nilai indeks stimulasi tertinggi yaitu  $1,18 \pm 0,176$ . Namun di sisi lain, subfraksi V memiliki kadar fenolik terendah kedua ( $14,180 \pm 6,306$ ) jika dibandingkan subfraksi lainnya. Data IS proliferasi sel limfosit subfraksi dan kadar fenolik total serta flavonoid total memberikan gambaran bahwa kecenderungan peningkatan proliferasi sel limfosit masih dipengaruhi oleh kadar flavonoid daripada kadar fenolik.

Data IS proliferasi sel limfosit subfraksi dan kadar fenolik total serta flavonoid total memberikan gambaran bahwa kecenderungan peningkatan proliferasi sel limfosit dipengaruhi secara moderat oleh kadar flavonoid, tetapi hanya dipengaruhi secara lemah oleh kadar fenolik. Kadar fenolik secara kolorimetrik merupakan metode yang tidak spesifik untuk mendeteksi keberadaan fenolik. Metode ini merupakan metode berdasarkan reaksi oksidasi reduksi, yang awalnya digunakan untuk mendeteksi keberadaan protein di dalam suatu bahan uji<sup>(16)</sup>.

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil uji yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa profil indeks stimulasi cenderung meningkat seiring meningkatnya konsentrasi sampel uji tetapi ada subfraksi yang cenderung menurun seiring dengan meningkatnya konsentrasi sampel uji (subfraksi I). Selain hal itu, kadar flavonoid

total memiliki pengaruh positif terhadap aktivitas proliferasi sel limfosit ( $R^2 = 0,606$ ), sedangkan dengan kadar fenolik total berpengaruh lemah ( $R^2 = 0,167$ ).

### UCAPAN TERIMA KASIH

Penelitian ini didanai oleh Proyek I-MHERE B2b dengan nomor kontrak: 017/FA/UGM/I-MHERE/III/11. Penulis berterima kasih kepada Bapak Djoko Santosa, S.Si., M.Si. yang telah mengidentifikasi tumbuhan uji dan Laboratorium Penelitian dan Pengujian Terpadu (LPPT) UGM tempat dilaksanakannya penelitian ini.

### DAFTAR PUSTAKA

- Munawaroh E, Purwanto Y. Keanekaragaman Jenis Tumbuhan Liar Berguna dan Upaya Konservasi, Konferensi Nasional HIGI XV di UNS, Surakarta. 2001. 717-25.
- Nugroho I.A. Lokakarya Nasional Tanaman Obat Indonesia: Sinergi Multi Pihak dalam Budidaya, Pelestarian dan Peningkatan Kualitas Tanaman Obat Indonesia, Koordinator Nasional Asia Pacific Forest Genetic Resources Programme (APFORGEN), News Letter. Edisi 2. 2010. 1-4.
- Sari LORK. Pemanfaatan obat tradisional dengan pertimbangan manfaat dan keamanannya. *Majalah Ilmu Kefarmasian*. 2006. 3(1):1-7.
- Parinding Z. Potensi dan karakteristik bioekologis tumbuhan sarang semut di Taman Nasional Wasur Merauke Papua [tesis]. Bogor: Sekolah Pascasarjana Institut Pertanian Bogor; 2007.
- Manoi F. Sarang semut (*Myrmecodia*) tanaman obat berpotensi menyembuhkan berbagai penyakit. Badan Penelitian dan Pengembangan Pertanian, Pusat Penelitian dan Pengembangan Perkebunan, Warta Penelitian dan Pengembangan Tanaman Industri. 2008. 14:26-30.
- Alam S, Waluyo S. Sarang semut primadona baru dari Papua. *Nirmala*. Juli 2006. 76-8.
- Hertiani T, Ediati S, Sumardi, Ulfah M. Preliminary study on immunomodulatory effect of sarang semut tubers *Myrmecodia tuberosa* and *Myrmecodia pendens*. *On Line Journal of Biological Sciences*. 2010. 10(3):136-41.
- Sumardi. Efek ekstrak tuber sarang semut (*Myrmecodia tuberosa* (non Jack) Bl.) terhadap proliferasi sel TCD4<sup>+</sup> dan TCD8<sup>+</sup> Tikus *Sprague Dawley* yang diinduksi doksorubisin [tesis]. Yogyakarta: Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada; 2011.
- Muhtadi. Fraksinasi dengan kromatografi vakum cair. Workshop : Isolasi *Chemical Marker* dari Bahan Alam dalam Rangka Milad Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta ke-10, Surakarta. 2009. 1-3.
- Saraphanchotiwithaya A, Ingkaninan K, Sripalakit P. Immuno-modulating activity of Thai rejuvenating plants. *Naresuan University Journal*. 2007. 15 (3):149-57.
- Chun OK, Kim DO, Lee CY. Superoxide radical scavenging activity of the major polyphenols in fresh plums. *J Agric Food Chem*. 2003. 51:8067-72.
- Chang CC, Yang MH, Wen HM, Chern JC. Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2002. 10:178-82.
- Harborne JB. Metode fitokimia, penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Terbitan Kedua. Terjemahan K. S. H. Padmawinata. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
- Walker EH, Pacold ME, Perisic O, Stephens L, Hawkins PT, Wymann MP, et al. Structural determinants of phosphoinositide 3-kinase inhibition by Wortmannin, LY294002, quercetin, myricetin and staurosporine. *Mol Cell*. 2000. 6:909-19. *cit*. Moskaug JO, Carlsen H, Myhrstad M, Blomhoff R. Molecular imaging of the biological effects of quercetin and ruerctin - Rich foods. Elsevier. 2004. 125:315-24. [www.elsevier.com/locate/mechagedev](http://www.elsevier.com/locate/mechagedev). doi : 10. 1016/j. mad. 2004.01.007.
- Middleton E, Kandaswami C, Theoharides TC. The effect of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease and cancer. *Pharmacol Rev*. 2000. 52: 673-751.
- Waterhouse AL. Current protocols in food analytical chemistry, Supplement 6. John Wiley & Sons, Inc.; 2002.