



# Bioaktivitas Metabolit Sekunder Batang Kayu Paliasa (*Kleinhovia hospital* Linn) dengan Uji BST (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Daya Hambatnya Pada Sel Leukimia P-388

Imran<sup>1,\*</sup>, A. Noor<sup>2</sup>, N.H. Soekamto<sup>2</sup>, Megawati<sup>3</sup>, dan L.A. Kadir<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Halu Oleo, Kendari

<sup>2</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin, Makassar

<sup>3</sup>Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Sembilanbelas November, Kolaka

<sup>1,\*</sup> Corresponding Author Email: [imran@uho.ac.id](mailto:imran@uho.ac.id)

Diterima: 10 Oktober 2020 – Disetujui: 23 Oktober 2020 – Dipublikasi: 20 November 2020

© 2020 Jurusan Biologi FMIPA Universitas Halu Oleo Kendari

## ABSTRACT

This research aimed to find out the isolates of secondary metabolite in stem wood of paliasa (*Kleinhovia hospital* Linn) and their bioactivities with brine shrimp test (BST) and growth inhibition of leukemia murine cell P-388. Sample was macerated by methanol solvent and evaporated till concentration. Furthermore, macerate then was extracted by using n-hexane, and methylene chloride solvent. For finding pure compound, fraction component was purified with FCC and recrystallization methods. Determination of compound used analysis of IR spectroscopy. Bioactivity test were determined toward fifty percent lethality concentration (LC<sub>50</sub>) of brine shrimp (*Artemia salina*) and growth inhibition (IC<sub>50</sub>) of leukemia murine cell tumor P-388. The secondary metabolite of compounds (1) have LC<sub>50</sub> 112,2 µg/ml and IC<sub>50</sub> 0 µg/ml, compounds (2) LC<sub>50</sub> 54,74 µg/ml and IC<sub>50</sub> 56,0 µg/ml, compounds (3) LC<sub>50</sub> 9,50 µg/ml and IC<sub>50</sub> 14,2 µg/ml, and compounds (4) LC<sub>50</sub> 37,99 µg/ml and IC<sub>50</sub> 76,0 µg/ml and compound. The results showed that all compounds have moderate bioactivity against both test materials. This indicates that the compounds found can be useful as anti-tumor leukemia P-388.

**Key words:** *Kleinhovia hospital* Linn, secondary metabolite, bioactivities

## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui isolat metabolit sekunder pada batang kayu paliasa (*Kleinhovia hospital* Linn) dan bioaktivitasnya dengan *Brine shrimp test* (BST) dan daya hambatnya terhadap pertumbuhan sel leukemia P-388. Sampel dimaserasi dengan pelarut metanol dan diuapkan sampai terkonsentrasi. Selanjutnya maserat diekstraksi menggunakan pelarut n-heksana dan metilen klorida. Komponen fraksi senyawa dimurnikan dengan FCC dan metode rekristalisasi. Penentuan senyawa menggunakan analisis spektroskopi IR. Uji bioaktivitas ditentukan terhadap konsentrasi letalitas lima puluh persen (LC<sub>50</sub>) udang air asin (*Artemia salina*) dan daya hambat pertumbuhan (IC<sub>50</sub>) tumor sel leukemia tikus P-388. Metabolit sekunder senyawa (1) memiliki LC<sub>50</sub> 112,2 µg / ml dan IC<sub>50</sub> 0 µg / ml, senyawa (2) LC<sub>50</sub> 54,74 µg / ml dan IC<sub>50</sub> 56,0 µg / ml, senyawa (3) LC<sub>50</sub> 9, 50 µg / ml dan IC<sub>50</sub> 14,2 µg / ml, dan senyawa (4) LC<sub>50</sub> 37,99 µg / ml dan IC<sub>50</sub> 76,0 µg / ml. Hasil penelitian ini menunjukkan semua senyawa memiliki bioaktivitas yang moderat terhadap kedua bahan uji. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil temuan dapat bermanfaat sebagai anti tumor leukemia P-388.

**Katakunci:** *Kleinhovia hospital* Linn, metabolit sekunder, bioaktivitas

## PENDAHULUAN

Tumbuhan tropis diyakini memiliki kemampuan merekayasa beranekaragam senyawa kimia yang mempunyai berbagai bioaktivitas. Kemampuan tersebut salah satunya akibat mekanisme pertahanan diri terhadap ancaman lingkungan, karena pada umumnya hidup di bawah kondisi lingkungan yang keras, baik faktor iklim maupun gangguan dari herbivora, serangga, dan hama penyakit. Tumbuhan tropis dapat menghasilkan senyawa-senyawa kimia alami yang bersifat pestisida, insektisida, antifungi, dan sitotoksik (Valli et.al., 2012; Vleminckx et.al., 2018).

Indonesia memiliki hutan tropis yang cukup luas, tergolong sebagai negara *megabiodiversity* yang memiliki sekitar 54% spesies dari seluruh spesies tumbuhan tropis dunia dan di dalamnya terkandung beraneka- ragam sumber daya genetik yang merupakan penyimpanan bahan-bahan kimia yang sangat prospektif untuk diteliti (Sholikhah, 2016; Yusnawan, 2016). Salah satu tumbuhan famili *Sterculiaceae* yang tersebar di seluruh kepulauan Indonesia dan sangat potensial untuk diteliti adalah *Kleinhovia hospita* Linn. (Paramita, 2016). Secara tradisional daun tumbuhan batang kayu paliasa (*K. hospita*) telah dimanfaatkan sebagai obat oleh masyarakat luas, khususnya di Sulawesi Selatan, Kabupaten Luwu dan dipercaya berkhasiat sebagai obat yang mampu mengobati penyakit liver. Oleh karena itu, tumbuhan ini diyakini dapat menghasilkan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang memiliki bioaktivitas tertentu dan efek terapeutik yang ampuh.

Penelitian senyawa metabolit sekunder dari daun *K. hospita* telah dilakukan dan ditemukan 109 isolat dalam berbagai tingkat kepolaran. Isolat tersebut merupakan senyawa golongan terpenoid,

steroid, dan fenolik (Arung dkk., 2012). Sementara penelitian yang dilakukan oleh (Ilyas, 2014) berhasil mengidentifikasi adanya golongan senyawa flavonoid dan alkaloid. Selain itu, pada fraksi metilen klorida dari fraksi aktif diisolasi senyawa turunan kumarin yang diduga sebagai skopoletin (Rahim dkk., 2018). Menurut penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh (Yuliana dan Herawati, 2016), ekstrak kloroform kulit batang *K. hospita* mengandung beberapa senyawa metabolit dari golongan senyawa: steroid, triterpenoid yang diduga sebagai lupeol, fenol diduga sebagai turunan stilben, turunan asam karboksilat, dan golongan alkaloid. Selain itu, pada ekstrak aktif etil asetat dari daun *K. hospita* terdapat senyawa metabolit sekunder turunan terpenoid dan stilben. Penelitian lain ditemukan pula bahwa daun, kulit dan batang *K. hospita* diidentifikasi mengandung minyak atsiri, triterpenoid, sianogenin, asam lemak, dan siklopropenil (Arung dkk., 2012). Informasi lain pada penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa batang *K. hospita* diidentifikasi mengandung juga flavonoid dan steroid (Gaffar, 2010).

Kayu batang *K. hospita* diidentifikasi mengandung flavonol, kaemferol, dan kuersetin (Sinhbabu, 2018). (Djabir dkk., 2017), menemukan bahwa senyawa kaemferol dan kuersetin dapat berfungsi sebagai antitumor. Menurut (Lestari dkk., 2017), pemicu tumor/kanker leukemia adalah efek dari radiasi dan pestisida, namun yang sangat sering pula dijumpai adalah efek dari virus hepatitis. Menurut (Yuliana & Herawati, 2016), virus hepatitis dapat dicegah dan disembuhkan dengan mengkonsumsi ekstrak tumbuhan paliasa *K. hospita*. Oleh karena itu, secara empiris tumbuhan paliasa ini dapat digunakan sebagai obat hepatitis juga diduga sebagai

antitumor leukemia P-388. (Imran, 2011), dalam skrining bioaktivitas jaringan kayu batang, kayu akar, kulit batang, kulit akar, dan daun tumbuhan *K. hospita* menemukan bahwa jaringan kayu batang tumbuhan ini memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap udang air asin (*Artemia salina*) dengan  $LC_{50}$  65,62  $\mu\text{g/ml}$ . Dengan demikian, penelitian tentang senyawa metabolit sekunder pada jaringan kayu batang *K. hospita* dan sifat bioaktivitasnya terhadap sel leukemia P-388 perlu dilakukan.

## METODE PENELITIAN

### Waktu dan Tempat

Penelitian dimulai pada awal bulan Agustus 2018 sampai Juni 2020. Tahap penelitian meliputi observasi lapangan dan pengumpulan sampel, isolasi, uji bioaktivitas. Maserasi, ekstraksi, dan fraksinasi dilakukan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA UNHAS. Pengukuran spektroskopi senyawa-senyawa hasil penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Penelitian, Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI), Serpong, sedangkan uji sel leukemia P-388 di Laboratorium Kimia Bahan Alam Institut Teknologi Bandung (ITB) Bandung.

### Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah seperangkat alat destilasi, rotavapor laborta 4000 dan pompa vakum N810FT.18. Kemudian beberapa peralatan yang digunakan seperti : spektroskopi IR. Uji bioaktivitas digunakan alat-alat seperti : mikropipet (100-600  $\mu\text{L}$ ), mikroplate, lampu untuk pencahayaan, dan wadah penetasan benur udang.

Sampel penelitian untuk perolehan isolat murni adalah jaringan yang memiliki bioaktivitas tertinggi terhadap *A. salina* yaitu batang kayu. Pelarut-pelarut yang

digunakan berkualitas teknis yang telah didestilasi seperti metanol, etil asetat, metilen klorida, n-heksan. Selanjutnya, sea salt dengan nomor katalog S-9883, telur udang *A. salina*, dan aquabides digunakan untuk uji bioaktivitas.

### Metode pengambilan sampel

Spesies sampel yang dipilih sebagai bahan penelitian dilakukan melalui pendekatan Etnobotani yang didasarkan pada pengetahuan dan kebiasaan masyarakat tradisional dalam memanfaatkan tumbuhan dalam hal ini adalah tumbuhan paliasa untuk mengobati penyakit tertentu. Sampel tumbuhan paliasa diambil di Desa Jambu Kecamatan Bajo Kabupaten Luwu Sulawesi Selatan. Telur udang air asin (*A. salina*) diperoleh dari Laboratorium Biologi ITB.

### Maserasi dan Skrining Sampel

Tahap ini diawali dengan maserasi serbuk kering kayu batang (7,4 Kg) dengan pelarut metanol selama 1 x 24 jam sebanyak 3x. Maserat metanol dipekatkan dalam alat evaporator pada tekanan rendah hingga diperoleh cairan kental. Sebanyak 50 ml larutan pekat ini dievaporasi hingga kering dan ditimbang untuk memperoleh konversi berat total. Selanjutnya maserat ini diekstraksi secara berturut-turut mulai dari pelarut n-heksan, metilen klorida, dan terakhir dengan etil asetat berdasarkan peningkatan sifat kepolaran. Masing-masing ekstrak dievaporasi hingga kering kemudian ditimbang dan diuji bioaktivitasnya terhadap *A. salina*.

### Uji Bioaktivitas

Metode Uji bioaktivitas yang dilakukan diadaptasi dari penelitian yang dilakukan oleh (Dhanti, 2018). *Brine Shrimp Lethality Test* yang dilakukan terhadap benur udang *A. salina*. Uji ini mempunyai korelasi positif dengan uji-uji sekunder yang lain, seperti sebagai anti tumor sel murni leukemia P-388 maupun anti kanker. Prosedur uji

adalah; 1 mg sampel dalam tabung endorf dilarutkan dengan DMSO sebanyak 100 L kemudian diencerkan dengan 150 L aquabides. Dari pengenceran tersebut diambil 200 L diencerkan kembali dengan 600 L aquabides sehingga konsentrasi sampel menjadi 1000 g/mL. Selanjutnya pengenceran dilakukan dalam *microplate* dengan variasi konsentrasi 500, 250, 125, 62,5, 31,2 15,6 dan 7,8 g/mL untuk tiap lubang pada *microplate* dan dilakukan secara triplo. Benur udang *A. salina* yang berumur 48 jam dipipet menggunakan pipet 100 L berisi benur 7-15 ekor lalu dimasukkan pada tiap lubang pada *microplate* yang berisi sampel, kemudian diinkubasi selama 24 jam. Perlakuan ini juga dilakukan pada kontrol sebagai kontrol negatif. Setelah 24 jam jumlah

benur udang yang mati dan yang hidup pada tiap lubang dihitung. Data jumlah rata-rata udang yang mati dan jumlah total udang pada tiap variasi konsentrasi sampel kemudian dimasukkan dalam program komputer "*Bliss method*" untuk menentukan nilai LC<sub>50</sub>.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

### Isolasi Metabolit Sekunder

Serbuk kering batang kayu paliasa (7,4 Kg) dimaserasi, dan diperoleh 69,17 gram maserat. Maserat diekstraksi dengan pelarut n-heksan, dan metilen klorida. Data uji bioaktivitas masing-masing ekstrak ditunjukkan pada Tabel 1. Berdasarkan Tabel 1 terlihat bahwa fraksi metilen klorida mempunyai bioaktivitas tertinggi dibanding fraksi n-heksan.

Tabel 1. Tingkat bioaktivitas (LC<sub>50</sub>) ekstrak dari kayu batang *K. hospita* Linn. terhadap *A. salina*

No	Ekstrak kayu batang <i>Kleinhovia hospita</i> Linn. (LC <sub>50</sub> 65,61 µg/ml)	Berat Kering (gr)	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	Keterangan
I	n-heksan	11,398	163,31	Dilakukan pada Penelitian (Imran, 2011)
II	Metilen klorida	14,43	16,51	

Fraksinasi ekstrak metilen klorida (Tabel 1) diperoleh tujuh fraksi gabungan (F<sub>A</sub> – F<sub>G</sub>). Sedangkan, Fraksi n-heksan diperoleh tujuh fraksi gabungan (F<sub>H</sub>-F<sub>N</sub>).

Data analisis komponen masing-masing fraksi dan uji bioaktivitasnya terhadap *A. salina* ditunjukkan pada Tabel 2.

Tabel 2. Data bioaktivitas 7 fraksi gabungan ekstrak metilen klorida

No	Fraksi metilen klorida	Berat (gr)	LC <sub>50</sub> (µg/ml)	Fraksi n-heksan	Berat (gr)	LC <sub>50</sub> (µg/ml)
1	A	0,62	231	H	0,06	24,3
2	B	0,82	259	I	3,10	45,6
3	C	1,36	141	J	0,43	37,9
4	D	2,86	145	K	2,88	47,8
5	E	3,45	276	L	0,28	58,4
6	F	2,49	452	M	0,05	61,9
7	G	2,13	917	N	1,39	53,5

Pada fraksi n-heksan(4) setelah pemurnian komponen tersebut diperoleh

satu senyawa dan dinotifikasikan sebagai senyawa 1. Selanjutnya pada n-heksan(5)

didapatkan satu senyawa sebagai senyawa 5. Selain itu pada fraksi metilen klorida(1) terdapat dua senyawa yaitu sebagai senyawa yang sama pada n-heksan(4) sebagai senyawa 1 dan senyawa 2. metilen klorida(2) diperoleh senyawa 2, metilen klorida(3) sebagai senyawa 3 dan metilen klorida(4) sebagai senyawa 4. Kelima senyawa inilah yang digunakan untuk uji bioaktivitas.

### Uji Bioaktivitas Senyawa Hasil

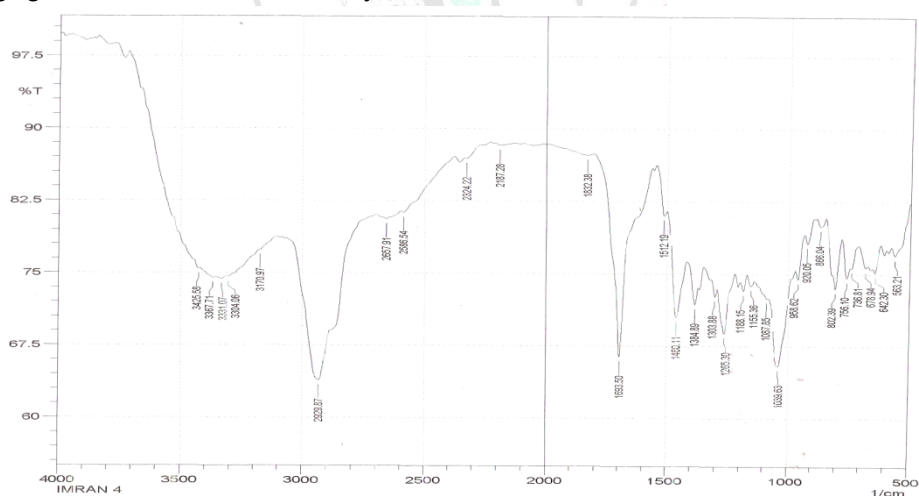
Data uji bioaktivitas senyawa yang ditemukan dalam penelitian ini terhadap *A. salina* dan sel leukemia (P-388) terdapat pada Table 3. Pada tabel tersebut nampak bahwa efek bioaktivitas tertinggi berasal dari senyawa 3 baik terhadap uji sel murin leukemia P-388 maupun *A. salina*.

Tabel 3. Data uji bioaktivitas senyawa hasil penelitian terhadap sel leukaemia (P-388) dan *A. salina*

Kristal	Uji Bioaktivitas	
	Sel leukaemia, P-388 (IC <sub>50</sub> ) µg/ml	<i>A. salina</i> (LC <sub>50</sub> ) µg/ml
Senyawa 1	-	112,2
Senyawa 2	56,0	54,74
Senyawa 3	14,2	9,50
Senyawa 4	76,0	37,99
Senyawa 5	-	-

Menurut Imran (2011), pengaruh bioaktivitas dapat disebabkan oleh gugus keton-ester yang terikat secara berdampingan disamping adanya polaritas ikatan rangkap serta faktor sterik. Pendapat tersebut memperkuat penemuan sifat bioaktivitas senyawa yang diperoleh dalam penelitian ini. Senyawa yang mempunyai sifat bioaktivitas tertinggi memiliki gugus keton dan ester yaitu

senyawa 3 dengan IC<sub>50</sub> 14,2 µg/ml dan LC<sub>50</sub> 9,4 µg/ml. Dari hasil analisis gugus fungsi seperti pada Gambar 1, Spektrum IR senyawa hasil menunjukkan absorpsi untuk gugus hidroksil -OH (3367 cm<sup>-1</sup>), alifatik, C-H (2929 cm<sup>-1</sup>), karbonil, C=O (1693 cm<sup>-1</sup>), gugus metilen, -CH<sub>2</sub>- (1460 cm<sup>-1</sup>), dan metil, CH<sub>3</sub> (1265 cm<sup>-1</sup>), serta eter, C-O (1039 cm<sup>-1</sup>).



Gambar 1. Analisis gugus fungsi senyawa aktif menggunakan spektroskopi Inframerah (IR)

Kemudian senyawa 2 dan 4 memiliki sifat bioaktivitas yang mirip. Senyawa 2 dengan  $IC_{50}$  56,0  $\mu\text{g/ml}$  dan  $LC_{50}$  54,74  $\mu\text{g/ml}$ . Sedang senyawa 4 memiliki sifat sitotoksitas  $IC_{50}$  76,0  $\mu\text{g/ml}$  dan toksisitas  $LC_{50}$  47,99  $\mu\text{g/ml}$ , yang paling rendah bioaktivitasnya adalah senyawa 1 yaitu  $LC_{50}$  112,2  $\mu\text{g/ml}$ . Dari data-data bioaktivitas yang ditemukan tersebut, senyawa 2, 3, dan 4 potensial untuk dimanfaatkan sebagai obat anti tumor leukemia walaupun masih memerlukan beberapa tahapan uji selanjutnya. Uji yang dilakukan terhadap *A. salina* mempunyai kecenderungan yang sama terhadap uji sel murin leukemia P-388 sehingga uji primer dengan mengukur toksisitas sampel terhadap *A. salina* adalah proporsional terhadap uji sekunder dengan mengukur sitotoksitas sampel terhadap sel murin leukemia P-388.

## KESIMPULAN

Telah ditemukan 5 senyawa metabolit sekunder yaitu; 1 senyawa golongan terpenoid, 1 senyawa golongan steroid, 1 senyawa golongan terpenoid-fenolik, dan 2 senyawa turunan ester. Senyawa 3 yang merupakan senyawa turunan ester sangat aktif baik terhadap *A. salina* maupun sel tumor leukemia P-388 dengan  $LC_{50}$  9,50  $\mu\text{g/ml}$  dan  $IC_{50}$  14,2  $\mu\text{g/ml}$ , sementara senyawa yang lain memiliki bioaktivitas yang moderat terhadap kedua bahan uji. Hal ini mengindikasikan bahwa senyawa hasil temuan dapat bermanfaat sebagai anti tumor leukemia P-388.

## UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih juga disampaikan kepada Laboratorium ITB yang telah memfasilitasi uji bioaktivitas, dan Laboratorium Kimia Universitas Hasanuddin.

## DAFTAR PUSTAKA

- Arung, E. T., Kusuma, I. W., Kim, Y. U., Shimizu, K., & Kondo, R. (2012). Antioxidative compounds from leaves of Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.). *Journal of Wood Science*, 58(1), 77–80.
- Dhanti, K. R. (2018). Skrining antikanker menggunakan metode BST (Brine Shrimp Lethality Test) pada ekstrak metanol daun saga (*Abrus precatorius* L.) dengan partisi etanol. *Riset Informasi Kesehatan*, 7(1), 61.
- Djabir, Y. Y., Arsyad, M. A., Sartini, S., & Lallo, S. (2017). Potential Roles of *Kleinhovia hospita* L. Leaf Extract in Reducing Doxorubicin Acute Hepatic, Cardiac and Renal Toxicities in Rats. *Pharmacognosy Research*, 9(2), 168.
- Gaffar I, M. L. (2010). Satu senyawa steroid dari kulit batang tumbuhan paliasa (*Kleinhovia hospita* L.) asal Sulawesi Selatan. *Chem Prog*, 3(1), 24–28.
- Ilyas, A. (2014). Senyawa 4-Hidroksi Sinamamida Dari Ekstrak Etil Asetat (EtoAc) Kulit Akar Paliasa (*Kleinhovia Hospita* L). *Teknosains: Media Informasi Sains Dan Teknologi*, 8(2), 161–174.
- Imran. (2011). Isolasi Senyawa Metabolit Sekunder Fraksi Metilen Klorida Ekstrak Kayu Batang Paliasa (*Kleinhovia hospita* L.). In *Jurnal Progres Kimia Sains* (Vol. 1). Universitas Halu Oleo.
- Lestari, Y., Mesran, Suginam, & Fadlina. (2017). Sistem Pakar Untuk Mendiagnosis Penyakit Tumor Otak Menggunakan Metode Certainty Factor (CF). *Infotek*, 2(1), 82–86.
- Paramita, S. (2016). Tahongai (*Kleinhovia hospita* L.): Review Sebuah Tumbuhan Obat Dari Kalimantan Timur. *Jurnal Tumbuhan Obat Indonesia*, 9(1).
- Rahim, A., Saito, Y., Miyake, K., Goto, M., Chen, C. H., Alam, G., Nakagawa-Goto, K. (2018). Kleinhospitine e and Cycloartane Triterpenoids from

- Kleinhovia hospita. *Journal of Natural Products*, 81(7), 1619–1627.
- Sholikhah, E. N. (2016). Indonesian medicinal plants as sources of secondary metabolites for pharmaceutical industry. *Journal of Thee Medical Sciences (Berkala Ilmu Kedokteran)*, 48(04), 226–239.
- Sinhababu, M. C. D. and A. (2018). Epicuticular N-Alkanes From Different Parts Ofkleinhovia Hospita Linn. And Their Micro-Morphological Studies. *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7(3), 849–857.
- Valli, M., Pivatto, M., Danuello, A., Castro-Gamboa, I., Silva, D. H. S., Cavalheiro, A. J., Da Silva Bolzani, V. (2012). Tropical biodiversity: Has it been a potential source of secondary metabolites useful for medicinal chemistry? *Quimica Nova*, Vol. 35, pp. 2278–2287.
- Vleminckx, J., Salazar, D., Fortunel, C., Mesones, I., Dávila, N., Lokvam, J., Fine, P. V. A. (2018). Divergent secondary metabolites and habitat filtering both contribute to tree species coexistence in the Peruvian Amazon. *Frontiers in Plant Science*, 9.
- Yuliana, Y., & Herawati, S. (2016). Phytochemical Content and Protective Effect of Kleinhovia hospita Leaves Extract on Pancreatic Cytotoxicity in Hyperglycemic Rats (Kandungan Fitokimia Dan Efek Protektif Ekstrak Daun Paliasa (*Kleinhovia Hospita* L.) Pada Sitotoksisitas Pankreas Tikus Hiperglikemia). *Jurnal Veteriner*, 17(3), 411–417.
- Yusnawan, E. (2016). The diversity of secondary metabolites in Indonesian soybean genotypes. *Biodiversitas*, 17(2), 704–710.

