

**PENGEMBANGAN POTENSI *HERBAL MEDICINE* DARI EKSTRAK  
TUMBUHAN SALA (*Cynometra ramiflora* Linn.) MENJADI OBAT HERBAL  
TERSTANDAR :**

Uji Farmakologi, Toksisitas dan Penyelidikan Kimia

Haryoto<sup>1</sup>), Tanti Azizah Sujono<sup>2</sup>), Andi Suhendi<sup>3</sup>), Muhtadi<sup>4</sup>)  
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Jl. Achmad Yani Pabelan, Kartasura, Surakarta 57102  
E-mail: har254@ums.ac.id

**Abstract**

*Lempuyang emprit (Zingiber amaricans Bl) is one of the plants species that contain secondary metabolites that are important in diseases treatment. This study was conducted to determine the secondary metabolites contained in the ethanol extract of lempuyang emprit from two regions (Semarang and Yogyakarta) after derivatized and determine its zerumbone level. Metabolite profile analysis performed by gas chromatography with mass spectroscopy detector, split injection system, and helium as the mobile phase at a constant rate of 3.0 mL/min and derivatized with BSTFA (N,O-bis-(trimethylsilyl)-trifluoroacetamid). While zerumbone levels determined by the same method but without derivatization. The results showed that there were differences in secondary metabolite profiles of ethanol extract of lempuyang emprit from Semarang and Yogyakarta, and the zerumbone levels also differ in the two extracts were 24.04% w/w (Semarang) and 30.32% w/w (Yogyakarta).*

**Keywords:** *Zingiber amaricans Bl, GC-MS, BSTFA, Metabolite profiling, zerumbone*

## 1. PENDAHULUAN

Indonesia merupakan Negara kepulauan yang memiliki hutan mangrove terluas di dunia. Hutan mangrove dunia dilaporkan seluas ± 16.530.000 ha yang tersebar di Asia 7.441.000 ha, Afrika 3.258.000 ha dan Amerika 5.831.000 ha, sedangkan di Indonesia dilaporkan seluas 3.735.250 ha (Ditjen INTAG, 1993). Dengan demikian, luas hutan mangrove Indonesia hampir 50% dari luas mangrove yang ada di Asia dan hampir 25% dari luas hutan mangrove dunia. Hutan mangrove sebagai salah satu lahan basah di daerah tropis dengan akses yang mudah serta kegunaan komponen biodiversitas dan lahan yang tinggi telah menjadikan sumberdaya tersebut sebagai sumberdaya tropis yang terancam kelestariannya (Valiela *et al.*, 2001; Onrizal, 2005) dan menjadi salah satu pusat

dari isu lingkungan global. Konversi hutan mangrove terus meningkat untuk dijadikan lahan pertanian atau tambak ikan/udang, sehingga menyebabkan penurunan produktivitas ekosistem tersebut (Dave, 2006; Primavera, 2005). Dalam kurun waktu 25 tahun, hutan mangrove dunia hilang sebesar 35% (Valiela *et al.*, 2001) dan hutan mangrove Indonesia yang rusak mencapai 57,6% (Ditjen RLPS., 2001).

Di lingkungan area Kraton Kasunanan Surakarta Hadiningrat sebelum didirikan bangunan kraton merupakan daerah rawa yang luas dan memiliki berbagai macam jenis tumbuhan. Salah satu tumbuhan mangrove yang ada di area lingkungan Keraton Surakarta Hadiningrat, Surakarta, Jawa Tengah adalah tumbuhan Sala yang memiliki nama latin *Cynometra ramiflora* Linn. Tumbuhan jenis ini merupakan

tumbuhan yang langka, dan berdasarkan penelusuran pustaka yang telah dilakukan, masih sedikit penelitian dan data tentang kandungan kimia dan kajian farmakologisnya. Padahal berdasarkan pengalaman empiris, ekstrak air (godogan) dari daun dan ranting tumbuhan Sala dapat digunakan untuk membantu penyembuhan berbagai penyakit seperti hipertensi, diabetes, asam urat dan kolesterol. Oleh karena itu, penting untuk dilakukan kajian tentang penyelidikan kandungan kimia, efek farmakologi, toksisitas dan formulasinya untuk dimanfaatkan menjadi obat herbal terstandar atau ramuan jamu yang memiliki landasan ilmiah yang kuat (*scientific based*). Hasil penelitian ini diharapkan menjadi sumbangan pengembangan potensi *herbal medicine* dari ekstrak tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) yang diperoleh menjadi obat herbal terstandar. Hasil penelitian sebelumnya menyatakan bahwa tumbuhan *Cynometra ramiflora* Linn dari beberapa Negara berpotensi sebagai antibakteri (Khan *et al.*, 2006), antioksidan (Bunyapraphatsara *et al.*, 2003), antidiabetes (Tiwari, dkk, 2008), aktif terhadap beberapa sel uji kanker, seperti *human gastric, colon* dan *breast cancer cell lines* (Uddin, dkk, 2009).

Pengobatan tradisional yang berlandaskan sumber alam hayati, terutama tumbuh-tumbuhan, telah digunakan sejak lama di Indonesia karena memiliki keunggulan bahan mudah didapat, murah, hampir tidak memiliki efek samping, merupakan keahlian nenek moyang yang diwariskan secara turun temurun, serta dapat dimanfaatkan jika obat sintetis tidak memberikan hasil yang diharapkan. Pada saat ini, obat tradisional atau disebut dengan obat herbal sangat banyak digunakan oleh sebagian besar masyarakat Indonesia untuk mengobati berbagai penyakit. Akan tetapi, kualitas obat herbal yang beredar secara umum masih dalam kategori jamu, tidak banyak yang dapat dikategorikan obat herbal terstandar (OHT) ataupun fitofarmaka. Menurut literatur terkini, hingga tahun 2012 baru ada 31 produk OHT, dan 6 produk fitofarmaka (Candra, 2012).

Oleh karena itu, sangat terbuka peluang untuk menemukan dan menghasilkan produk OHT atau fitofarmaka, khususnya dari bahan obat tumbuhan asli Indonesia yang langka, belum banyak diteliti, dan secara empiris terbukti dimanfaatkan dalam pengobatan masyarakat. Salah satu tumbuhan obat asli Indonesia, yang memenuhi persyaratan langka, belum banyak diteliti, dan secara empiris terbukti berkhasiat adalah Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn). Hasil keseluruhan dari penelitian tentang ekstrak tumbuhan Sala ini, diharapkan akan diperoleh informasi dan landasan ilmiah yang kuat dan lengkap yang dapat dipublikasikan dalam jurnal nasional terakreditasi atau internasional, serta potensi pengembangan produk herbal terstandar yang telah teruji dari tumbuhan Sala untuk diproduksi oleh mitra industri jamu herbal di wilayah karesidenan Solo, dipasarkan dan dimanfaatkan dalam pelayanan pengobatan penyakit di masyarakat.

Berdasarkan latar belakang yang telah dituliskan maka rumusan masalah pada penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

1. Bagaimana standardisasi ekstrak dan profil metabolit untuk kontrol kualitas dan jaminan mutu ekstrak?
2. Bagaimana toksisitas akut dan subkronis dari ekstrak yang terpilih dan formulasi ekstrak OHT?

Berdasarkan latar belakang dan rumusan masalah tersebut, maka tujuan pada penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mendapatkan data toksisitas subkronis dan gambaran histopatologi organ.
2. Mendapatkan formula sediaan obat herbal yang optimal dan stabil.

## 2. KAJIAN LITERATUR

**Penelitian Fitokimia Tumbuhan Sala** (*Cynometra ramiflora* Linn). Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) belum banyak diteliti oleh para ahli mengenai kandungan metabolit sekundernya. Penelitian yang telah dilakukan oleh beberapa ahli tentang kandungan kimia baru uji *screening* fitokimia seperti yang disajikan secara lengkap pada Tabel 1. Tumbuhan *Cynometra ramiflora* Linn yang diteliti berasal dari

berbagai wilayah geografis yang berbeda, di Bangladesh dan Thailand. Tumbuhan *Cynometra ramiflora* Linn, terindikasi adanya berbagai macam kelompok senyawa kimia antara lain: polisakarid, tanin, gum, dan saponin. Dari kelompok senyawa-senyawa kimia tersebut semuanya dilaporkan berasal dari ekstraknya, sedangkan fraksi-fraksi dari ekstrak belum pernah dilakukan penelitian, sehingga masih sangat terbuka penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kandungan utama senyawa murni (*chemical marker*) dan pemanfaatannya secara farmakologis sebagai obat herbal.

**Kajian Farmakologi dari Tumbuhan Sala** (*Cynometra ramiflora* Linn). Ekstrak dari tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn) telah ditentukan efek farmakologisnya terhadap berbagai sistem uji, yang meliputi antibakteri dan antioksidan. Hasil kajian farmakologi dari ekstrak tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn). Sebanyak delapan jenis bakteri pada gram negatif dengan berbagai macam konsentrasi pengujian anti bakteri, sedangkan pada gram positif ada dua bakteri yang telah diujikan. Dapat diketahui bahwa yang berpotensi terhadap aktivitas antibakteri pada dosis 250  $\mu\text{g/disk}$  dan 500  $\mu\text{g/disk}$  berturut-turut adalah *Escherichia coli* (zona penghambatan pada 9 dan 12 mm), *Staphylococcus epidermis* (10 dan 12 mm), *Shigella dysenteriae* (8 dan 14), *Enterococci* (7 dan 14), *Shigella sonnei* (8 dan 14), *Staphylococcus aureus* (10 dan 15), *Salmonella typhi* (8 dan 15), *Shigella flexneri* (7 dan 13), *Shigella boydii* (8 dan 14) dan *Vibrio cholera* (9 dan 16) (Khan *et al.*, 2006).

Bagian tumbuhan mangrove yang telah dikaji secara fitokimia, yaitu meliputi daun, bunga, dan ranting. Hasil kajian terhadap aktivitas antioksidan menunjukkan bahwa buah dan daun berpotensi sebagai antioksidan (Bunyapraphatsara *et al.*, 2003). Peluang dan keberlanjutan dari hasil penelitian ini adalah akan dihasilkan produk yang dimanfaatkan oleh masyarakat dengan penggunaan obat herbal yang terstandar dan berkualitas. Pengembangan potensi tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn)

sebagai bahan obat herbal yang berkualitas akan meningkatkan kapasitas bahan obat herbal asli Indonesia dan pemanfaatannya sebagai obat herbal alternative dalam pengobatan pasien.

### 3. METODE PENELITIAN

#### a. Determinasi tanaman

Determinasi tanaman dilakukan di Laboratorium Biologi LIPI Bogor.

#### b. Ekstraksi

Ekstraksi dilakukan dengan menggunakan metode maserasi dengan pelarut methanol. Perbandingan simplisia daun, ranting dan buah. Maserat dipekatkan dengan menggunakan *rotary evaporator*.

#### c. Uji Screening Farmakologi

##### 1). Uji antibakteri

Prinsip terapi antibakteri adalah harus dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri patogen tetapi tanpa membahayakan manusia (Batubara, 2008). Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai bakteriostatik, dan ada yang bersifat membunuh bakteri dikenal sebagai bakterisid. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat dan membunuh bakteri, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat menjadi bakterisid bila kadar antimikrobanya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 2007).

##### 2). Uji antioksidan dengan metode DPPH

Pada uji antioksidan pertama kali dilakukan persiapan adalah pembuatan pereaksi larutan DPPH dengan konsentrasi yang diinginkan. Kemudian menentukan waktu inkubasi sampel dan diukur panjang gelombang maksimum. Selanjutnya Penentuan aktivitas penangkapan radikal dilakukan melalui perhitungan nilai *inhibitory concentration* ( $IC_{50}$ ). Nilai  $IC_{50}$  adalah konsentrasi substrat yang memberikan persentase aktivitas penangkapan radikal (% APR) sebesar 50 %

dibanding kontrol melalui suatu persamaan garis regresi linier antara konsentrasi terhadap persentase aktivitas penangkapan radikal (Rohman dan Riyanto, 2006).

### 3) Uji sitotoksik

Uji sitotoksik adalah uji toksisitas secara *in vitro* menggunakan kultur sel yang digunakan untuk mendeteksi adanya aktivitas antineoplastik dari suatu senyawa. Penggunaan uji sitotoksik pada kultur sel merupakan salah satu cara penetapan *in vitro* untuk mendapatkan obat-obat sitotoksik. Sistem ini merupakan uji kuantitatif dengan cara menetapkan kematian sel (Freshney, 1987). Parameter yang digunakan untuk uji sitotoksik yaitu nilai  $IC_{50}$ . Nilai  $IC_{50}$  menunjukkan nilai konsentrasi yang menghasilkan hambatan proliferasi sel sebesar 50% dan menunjukkan potensi ketoksikan suatu senyawa terhadap sel. Nilai ini merupakan patokan untuk melakukan uji pengamatan kinetika sel. Nilai  $IC_{50}$  dapat menunjukkan potensi suatu senyawa sebagai sitotoksik. Semakin besar harga  $IC_{50}$  maka senyawa tersebut semakin tidak toksik. Akhir dari uji sitotoksik dapat memberikan informasi yang maksimum yang masih memungkinkan sel mampu bertahan hidup. Akhir dari uji sitotoksitas pada organ target memberikan informasi langsung tentang perubahan yang terjadi pada fungsi sel secara spesifik (Djajaneegara dan Wahyudi, 2009).

### 4). Standarisasi dan identifikasi profil ekstrak

Standarisasi ekstrak (bahan) mengikuti prosedur baku yang telah direkomendasikan oleh BPOM RI, yaitu analisis non-spesifik yang meliputi analisis susut pengeringan, bobot jenis, kadar air, kadar abu, kandungan sisa pelarut, residu pestisida, cemaran logam berat, cemaran mikroba, dan analisis spesifik yang meliputi identitas ekstrak, organoleptis, senyawa terlarut dalam pelarut tertentu, juga uji kandungan kimia ekstrak. Masing-masing analisis parameter tersebut, mengikuti prosedur yang telah disarankan oleh BPOM RI.

Pada tahap ini juga dilakukan identifikasi secara *screening* kandungan

kimia dari ekstrak dengan metode analisis TLC *scanner* dengan berbagai variasi pelarut.

### 5). Uji ketoksikan subkronis

Hewan uji dikelompokkan dalam 5 kelompok. Masing-masing kelompok terdiri dari 10 ekor tikus. Semua tikus ditimbang. Kemudian masing-masing kelompok diberikan ekstrak yang aktif dalam pengujian praklinis. Konsentrasi sesuai kelompok peringkat dosis secara oral selama 3 bulan (90 hari). Pengamatan hewan uji dilakukan pada hari ke-nol (sebelum pemberian ekstrak uji) dan pada akhir pemberian obat. Perubahan yang diamati pada tikus tersebut yang meliputi:

- a. Berat badan,
- b. Gejala klinis umum melalui pengamatan fisik,
- c. Pemeriksaan hematologi (jumlah eritrosit, leukosit, hemoglobin, SGOT, SGPT, ureum, kreatinin, gula darah, protein total, albumin, globulin),
- d. Pada akhir masa uji beberapa hewan uji pada masing-masing kelompok dikorbankan lalu diambil organnya (hati, lambung, jantung, ginjal, uterus dan ovarium) untuk diuji histopatologisnya (Loomis, 1978).

### 6). Uji Formulasi Sediaan Obat Herbal

Uji formulasi ini meliputi pemeriksaan homogenitas campuran, pengamatan kualitas granul seperti sifat alir, kandungan air dan kompresibilitas, kontrol kualitas akhir: keseragaman bobot, kerapuhan, kekerasan, waktu hancur, kadar obat dan kecepatan pelarutan. Pada tahap ini juga akan dilakukan pemilihan jenis kemasan dan proses kemasan yang memberikan pengaruh kestabilan produk dan penampilan kemasan/produk yang memikat bagi konsumen.

## 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Tumbuhan Sala merupakan tanaman yang secara tradisional turun temurun digunakan sebagai obat di kalangan Keraton Surakarta. Penelitian-penelitian mengenai

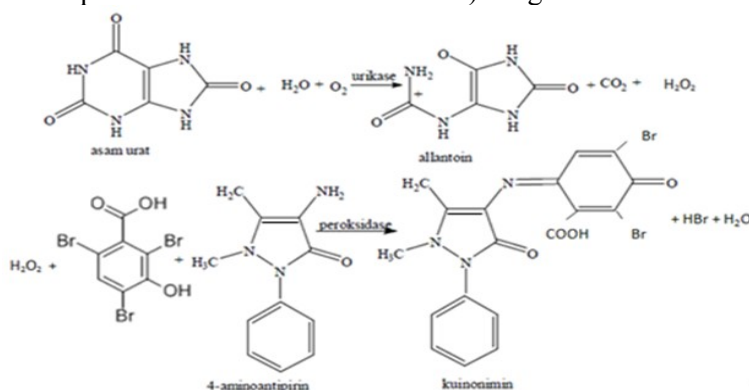
Tumbuhan Sala belum pernah dilakukan oleh para peneliti khususnya di Indonesia. Oleh karena itu eksplorasi mengenai manfaat Tumbuhan Sala (*Cynometra ramiflora* Linn.) perlu dilakukan. Pada penelitian tahun kedua ini, tim peneliti tumbuhan sala melaporkan aktivitas farmakologi sebagai antihiperurisemia dan antidiabetes.

Pengujian aktivitas antihiperurisemia dilakukan pada mencit yang diinduksi oleh natrium oksonat. Penelitian sebelumnya menunjukkan kadar natrium oksonat yang efektif adalah 250mg/kgBB secara intraperitoneal sudah mampu meningkatkan kadar asam urat (Suhendi et al., 2012; Zhao et al., 2005). Natrium oksonat digunakan sebagai penginduksi hiperurisemia, karena merupakan inhibitor urikase yang kompetitif untuk meningkatkan kadar asam urat dengan jalan mencegah asam urat menjadi allantoin yang bersifat mudah larut dalam air dan dapat diekskresikan lewat urin, sehingga penghambatan enzim urikase akan mengakibatkan akumulasi asam urat dan tidak tereliminasi lewat urin (Mazzali et al., 2001). Induksi dilakukan secara intra peritoneal, dan pengambilan darah yang optimal adalah pada jam kedua setelah induksi (Suhendi et al., 2013; Haidari et al., 2008). Pada penelitian ini pun mendapatkan hasil yang sama dengan penelitian sebelumnya (tabel 1). Penggunaan mencit sebagai model penelitian aktivitas

antihiperurisemia disebabkan mencit memiliki enzim urikase yang dapat memecah asam urat menjadi allantoin yang mudah larut dalam air (Martin, 1987).

Uji pendahuluan meliputi kontrol hiperurisemia, dan kontrol CMC Na 0,5%. Hewan uji diberi perlakuan dengan makanan tambahan jus hati ayam selama 3 kali sehari selama 2 hari dengan konsentrasi 10 % (10 g hati ayam dilarutkan bersama aquades 100 mL). Tujuan pemberian makanan tambahan adalah karena hasil kadar asam urat pada kontrol hiperurisemia yang tidak diberikan makanan tambahan menunjukkan hasil yang rendah yaitu kurang dari 3,0 mg/dL. Kontrol hiperurisemia dilakukan untuk mendapatkan model hiperurisemia, dan untuk mengetahui potensi kalium oksonat dalam meningkatkan kadar asam urat pada serum hewan uji. Kalium oksonat merupakan inhibitor enzim urikase. Penghambatan enzim urikase menyebabkan asam urat tidak diubah menjadi allantoin sehingga kadar asam urat dalam darah meningkat.

Pada uji hiperurisemia, mencit jantan diinduksi secara peroral dengan aquades, satu jam kemudian diinduksi secara intraperitoneal dengan kalium oksonat dosis 250 mg/kgBB. Penentuan kadar asam urat dengan menggunakan reagen TBHBA. Reaksi yang terjadi adalah reaksi enzimatik (Schunack *et al.*, 1990; Jacobs *et al.*, 1990; Foster *et al.*, 2011) dengan mekanisme sebagai berikut :



**Gambar 4. Mekanisme pembentukan kuinomin (Schunack *et al.*, 1990)**

Data uji pendahuluan (tabel 1.) menunjukkan bahwa kalium oksonat dosis 250 mg/kgBB sudah dapat meningkatkan kadar asam urat pada serum mencit. Menurut Ishibuchi (2001) dan Osada (1993), kalium oksonat mampu meningkatkan kadar asam

urat pada penelitian *in-vivo* obat antihiperurisemia terhadap hewan uji. Berdasarkan uji statistik menunjukkan bahwa hubungan antara kontrol CMC Na 0,5% dengan kontrol hiperurisemia berbeda bermakna dengan nilai 0,046 ( $p < 0,05$ ),

sehingga dapat disimpulkan bahwa kalium oksonat dapat meningkatkan kadar asam urat.

**Tabel 1. Data Kadar Asam Urat Kontrol Hiperurisemia Dan CMC Na 0,5%**

Kelompok perlakuan	Kadar asam urat (mg/dL)	
	Baseline	Setelah perlakuan
K.oksonat 250 mg/KgBB	1,1 ± 0,	4,4 ± 0,6
CMC Na 0,5%	1,4 ± 0,1	1,7 ± 0,2

#### A. Hasil Uji Ekstrak Tumbuhan Sala Dan Kombinasinya

Pengujian aktivitas antihiperurisemia didasarkan pada pengalaman empiris masyarakat sekitar kraton Surakarta. Diharapkan penelitian ini menjadi data ilmiah yang memperkuat khazanah kearifan lokal khususnya di Surakarta.

Hasil pengujian aktivitas antihiperurisemia baik ekstrak tunggal maupun kombinasinya menunjukkan penurunan kadar asam urat dibandingkan kelompok kontrol negatif (Tabel 2). Kemampuan penurunan kadar asam urat kelompok perlakuan ekstrak daun dan kulit batang tumbuhan sala dosis 1000 mg/KgBB melebihi kemampuan alopurinol dosis 10 mg/KgBB. Hasil uji dengan *one way Anova post hoc with bonferroni test* menunjukkan

bahwa kelompok perlakuan ekstrak daun sala dosis 1000 mg/Kg BB tidak berbeda bermakna dengan kelompok alopurinol. Hal tersebut menandakan bahwa aktivitas penurunan kadar asam urat ekstrak daun sala dosis 1000 mg/KgBB setara dengan alopurinol dosis 10 mg/KgBB. Kemampuan penurunan kadar asam urat dari kombinasi ekstrak daun dan kulit batang tumbuhan sala yang efektif adalah pada perbandingan 375 mg/KgBB ekstrak daun dan 125 mg/KgBB ekstrak kulit batang tumbuhan sala. Kelompok kombinasi ekstrak daun tumbuhan sala dosis 125 mg/KgBB dan ekstrak daun salam pada dosis 210 mg/KgBB menunjukkan penurunan kadar asam urat yang efektif. Kemampuan penurunan kelompok kombinasi pada dosis tersebut menunjukkan nilai yang tidak berbeda bermakna dengan kelompok kontrol positif.

**Tabel 2. Data Kadar Asam Urat Kelompok Perlakuan dan Kontrol**

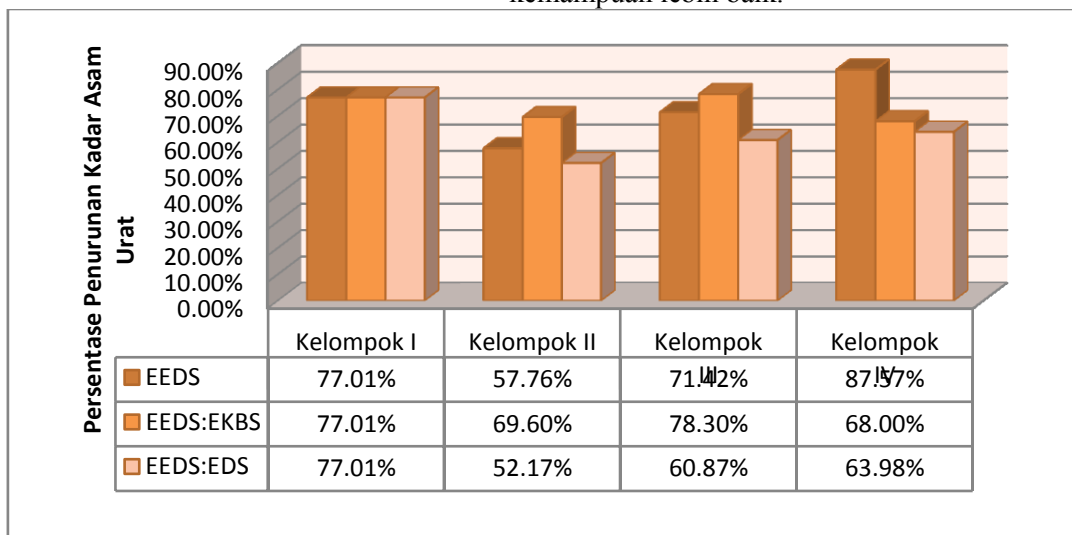
Kelompok Hewan Uji	Kadar sebelum perlakuan (Baseline) (mg/dL)	Kadar Setelah perlakuan (mg/dL)
Kontrol Positif (Allupurinol 10 mg/kgBB)	0,92 ± 0,41	0,74 ± 0,21*
Kontrol Negatif (CMC Na 0,5%)	0,7 ± 0,16	3,22 ± 0,15
EEDS 250 mg/KgBB	0,72 ± 0,41	1,36 ± 0,32*±
EEDS 500 mg/KgBB	0,98 ± 0,18	0,92 ± 0,47*
EEDS 1000 mg/KgBB	1,08 ± 0,33	0,40 ± 0,23*±
EKBS 250 mg/KgBB	0,38 ± 0,11	1,72 ± 0,51*
EKBS 500 mg/KgBB	0,88 ± 0,19	1,46 ± 0,11*
EKBS 1000 mg/KgBB	1,24 ± 0,18	0,56 ± 0,39*±
EEDS:EKBS (250 mg:250 mg/KgBB)	0,66 ± 0,51	0,98 ± 0,40*
EEDS:EKBS (375 mg:125 mg/KgBB)	1,30 ± 0,07	0,70 ± 0,14*
EEDS:EKBS (125 mg:375 mg/KgBB)	0,78 ± 0,13	1,04 ± 0,40*
EEDS:EDS (125 mg:210 mg/KgBB)	1,26 ± 0,24	1,54 ± 0,34*
EEDS:EDS (250 mg:210 mg/KgBB)	1,36 ± 0,09	1,26 ± 0,42*
EEDS:EDS (500 mg:210 mg/KgBB)	1,62 ± 0,19	1,16 ± 0,18*

**EEDS = ekstrak etanol daun tumbuhan sala, EKBS = ekstrak kulit batang tumbuhan sala, EDS = ekstrak daun salam \* =berbeda bermakna dengan kontrol negatif dan positif, ± =berbeda bermakna dengan kontrol positif**

Hasil uji statistik kadar asam urat kelompok perlakuan menunjukan semua kelompok mempunyai perbedaan yang bermakna dengan kontrol negatif. Kelompok perlakuan EEDS dosis 500 mg/KgBB tidak berbeda bermakna dengan kontrol positif, artinya EEDS dosis ini memiliki potensi yang sama dengan allopurinol. Kelompok EEDS dosis 100 mg/KgBB mempunyai aktivitas lebi baik dari allopurinol. Kelompok perlakuan EEDS yang dikombinasi dengan EKBS pada semua perbandingan (1:1; 3:1 dan 1:3) aktivitas penurunan kadar asam uratnya tidak berbeda signifikan dengan allopurinol, artinya potensi kelompok perlakuan kombinasi tersebut sama dengan kontrol positif. Kombinasi ekstrak daun dan kulit batang tumbuhan sala yang memiliki potensi paling baik adalah 3:1. Profil ini menunjukkan adanya efek sinergisme karena keberadaan kulit batang tumbuhan sala dapat meningkatkan penurunan kadar asam urat.

Daun salam pada penelitian sebelumnya sudah terbukti memiliki aktivitas penurunan asam urat. Kombinasi ekstrak daun salam dengan ekstrak daun tumbuhan sala memberikan efek yang tidak berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif, sehingga dapat dikatakan bahwa potensi penurunan asam urat allopurinol dengan ekstrak kombinasi adalah sama.

Berdasarkan data persentase penurunan kadar asam urat (gambar 1), kelompok kontrol positif (allopurinol 10mg/kgBB), kelompok perlakuan dosis I, II dan III mampu menurunkan kadar asam urat berturut-turut sebesar 77,01% ; 57,76%; 71,42%; dan 87,57%. Berdasarkan penelitian ini maka ekstrak etanol daun tumbuhan Sala mampu menurunkan kadar asam urat. Kemampuan penurunan kadar asam urat kelompok perlakuan dengan kontrol positif relatif tidak jauh berbeda, bahkan dosis ketiga kelompok perlakuan memiliki kemampuan lebih baik.



**Gambar 1- Histogram Antara Persentase Penurunan dengan Kelompok Perlakuan**

**Keterangan : EEDS = ekstrak etanol daun tumbuhan sala, EKBS = ekstrak Kulit batang tumbuhan sala, EDS = ekstrak daun salam**

**Kelompok I : Kontrol Positif (allopurinol 10mg/kgBB)**

**Kelompok II : EEDS 250mg/kgBB, EEDS:EKBS (250:250 mg/KgBB), EEDS:EDS (125:210 mg/KgBB)**

**Kelompok III : EEDS 500mg/kgBB, EEDS:EKBS (375:125 mg/KgBB), EEDS:EDS (250:210 mg/KgBB)**

**Kelompok IV : EEDS 1000mg/kgBB, EEDS:EKBS (125:500 mg/KgBB),  
EEDS:EDS (500:210 mg/KgBB)**

Mekanisme penghambatan *xanthine oxydase* oleh allopurinol menyebabkan hipoxanthine dan xanthine diekskresikan lebih banyak dalam urin sehingga kadar asam urat dalam darah menurun (Mutschler, 1991).

Tanin berperan pada penurunan kadar asam urat (Mun'im dan Hanani, 2011) melalui mekanisme penghambatan *xanthine oxydase* (Ho et al., 2012), dan flavonoid juga dapat menurunkan kadar asam urat melalui mekanisme penghambatan *xanthine oxydase* (Susanti, 2006; Cos et al., 1998). Jenis flavonoid yang berperan pada penghambatan *xanthine oxydase* yaitu flavon dan flavonol (Cos et al., 1998). Sifat pengobatan asam urat dengan tanaman yaitu menghambat pembentukan asam urat (penghambatan *xanthine oxydase*), meningkatkan produksi urin (diuretik), dan mencegah rasa nyeri (Mun'im dan Hanani, 2011). Oleh karena kemampuan tumbuhan Sala yang dapat mencegah kenaikan kadar asam urat, maka diperlukan penelitian lebih lanjut mengenai senyawa kimia yang berperan terhadap penghambatan *xanthine oxydase*.

**B. Aktivitas Antidiabetes Ekstrak Tumbuhan Sala Dan Kombinasinya**

Uji aktivitas antidiabetes menggunakan model tikus yang dibuat diabetes. Hewan uji dibuat diabetes dengan cara menginduksinya dengan aloksan 150 mg/kgBB. Aloksan akan merusak sel  $\beta$  pankreas dengan cepat dan menyebabkan terjadinya diabetes mellitus tipe I. Mekanisme peningkatan kadar glukosa darah adalah disebabkan terbentuknya radikal bebas melalui reaksi reduksi oksidasi. Aloksan dan produk reduksinya asam dialurik membentuk siklus reaksi oksidasi dengan formasi radikal superoksida. Radikal ini mengalami dismutasi menjadi hidrogen

peroksida. Radikal hidroksil dengan kereaktifan yang tinggi dibentuk oleh reaksi Fenton. Aksi radikal bebas dengan rangsangan tinggi meningkatkan konsentrasi kalsium sitosol yang menyebabkan destruksi cepat sel beta (Watkins *et al.*, 1963). Mekanisme lain juga menyebutkan aloksan bekerja melalui kerusakan pada permeabilitas membran sel. Aloksan menginduksi pengeluaran ion kalsium dari mitokondria yang mengakibatkan proses oksidasi sel terganggu. Hal ini yang menyebabkan produksi insulin pada sel  $\beta$  pancreas terganggu (Lenzen, 2007). Kemampuan aloksan untuk dapat menimbulkan diabetes juga tergantung pada jalur penginduksian, dosis senyawa, hewan percobaan dan status gizinya (Szkudelski, 2001).

Hasil induksi dengan aloksan didapatkan bahwa kadar glukosa (Tabel 3) darah pada lima kelompok perlakuan sudah mengalami diabetes pada hari ke-3. Hal ini didasarkan pada kadar glukosa darah yang  $>200$  mg/dL. Kadar gula darah normal pada tikus antara 50-135 mg/dL (Johnson-Delaney, 1996). Desain pengujian dibuat ada kontrol negatif dan kontrol positif. Glibenklamid dipilih sebagai kontrol positif karena merupakan antidiabetik oral golongan sulfonilurea yang dapat menurunkan kadar gula darah. Pengobatan jangka pendek, glibenklamid dapat meningkatkan sekresi insulin dari sel  $\beta$  pankreas, sedangkan pada pengobatan jangka panjang efek utamanya adalah meningkatkan efek insulin terhadap jaringan perifer dan penurunan pengeluaran glukosa dari hati (Guyton dan Hall, 1997). Hasil pengukuran kadar glukosa darah setelah perlakuan dan kontrol positif (glibenklamid) mengalami penurunan. Potensi penurunan kadar glukosa darah oleh ekstrak kulit batang tumbuhan sala lebih besar dari pada kontrol positifnya.



**Tabel 3. Data hasil pengukuran kadar glukosa darah kelompok kontrol dan perlakuan**

Kelompok	Perlakuan	Kadar Glukosa Darah (mg/dL) Hari ke:		
		(Hari ke-0) Baseline	(Hari ke-3) Post aloksan	(Hari ke-11) Post perlakuan
I	Kontrol Negatif CMC Na	102,20 ± 14,11	233,20 ± 27,67	225,40 ± 11,74
II	Kontrol positif Glibenklamid	107,20 ± 26,38	218,00 ± 18,69	82,80 ± 14,46
III	Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Sala 125 mg/KgBB	95,80 ± 18,34	242,20 ± 18,53	121,80 ± 33,24
IV	Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Sala 250 mg/KgBB	111,60 ± 16,20	225,20 ± 16,28	107,00 ± 14,87
V	Ekstrak Kulit Batang Tumbuhan Sala 500 mg/KgBB	98,40 ± 23,30	230,80 ± 10,47	94,60 ± 17,08
VI	Ekstrak Daun Tumbuhan Sala 250 mg/KgBB	94,80 ± 10,96	222,40 ± 13,32	78,20 ± 18,53
VII	Ekstrak Daun Tumbuhan Sala 500 mg/KgBB	96,80 ± 17,51	224,60 ± 4,83	82,00 ± 20,27
VIII	Ekstrak Daun Tumbuhan Sala 1000 mg/KgBB	95,20 ± 17,25	217,80 ± 12,28	75,60 ± 26,08
IX	Kombinasi Glibenklamid 0,9 mg/KgBB-Ekstrak Daun Sala 250 mg/KgBB	100,80 ± 23,15	217,20 ± 14,20	93,60 ± 32,99
X	Kombinasi Glibenklamid 0,9 mg/KgBB-Ekstrak Daun Sala 125 mg/KgBB	104,20 ± 18,30	233,80 ± 20,95	102,20 ± 11,32
XI	Kombinasi Glibenklamid 0,9 mg/KgBB-Ekstrak Daun Sala 62,5 mg/KgBB	83,60 ± 10,28	207,60 ± 7,27	164,00 ± 88,68

Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah setiap kelompok pada hari ke-11 (tabel 3) diketahui bahwa kelompok kontrol negatif kadar glukosanya tidak mengalami penurunan yaitu 225,40±11,74 mg/dL, sedangkan kelompok kontrol positif terjadi penurunan yang bermakna dibandingkan dengan kadar glukosa pada hari ke-3 yaitu sebesar 82,80±14,46 mg/dL. Hal ini membuktikan pemberian glibenklamid dapat merangsang sekresi insulin pada sel beta pankreas yang telah rusak oleh aloksan. Kelompok perlakuan ekstrak etanol kulit batang tumbuhan Sala dosis 125 mg/kgBB juga menunjukkan adanya penurunan kadar glukosa darah sebesar 121,80±33,24 mg/dL dimana kadar sebelum pemberian ekstrak sebesar

242,20±18,53 mg/dL. Hal yang sama juga terjadi pada kelompok perlakuan dosis 250 mg/kgBB dan 500 mg/kgBB selama 11 hari.

Berdasarkan hasil pengukuran kadar glukosa darah (Tabel 3) kelompok perlakuan tiga seri dosis ekstrak etanol daun tumbuhan Sala menunjukkan bahwa semakin besar dosis ekstrak yang diberikan maka efek penurunan glukosanya semakin besar. Hasil uji statistik menunjukkan kelompok ekstrak daun tumbuhan sala dosis 250 mg/kgBB, 500 mg/kgBB, dan 1000 mg/kgBB berbeda bermakna dengan dengan kontrol negatif. Jika hasil kelompok-kelompok tersebut dibandingkan dengan kontrol positif maka diperoleh hasil berbeda tidak bermakna ( $P>0,05$ ), artinya efek penurunan glukosa darah pada tiga seri dosis ekstrak tersebut

tidak berbeda secara nyata dengan glibenklamid. Hal ini juga dapat diartikan bahwa dosis 125 mg/kgBB, 500 mg/kgBB dan 1000 mg/kgBB ekstrak etanol kulit batang Sala memiliki efek yang sebanding dengan glibenklamid dosis 0,9 mg/kgBB.

Berdasarkan tabel 3, diketahui bahwa terjadi penurunan kadar glukosa darah pada kelompok perlakuan kombinasi ekstrak daun dengan glibenklamid. Penurunan kelompok kombinasi ekstrak daun tumbuhan sala dosis 250 mg/KgBB dan 125 mg/KgBB dengan glibenklamid menunjukkan potensi penurunan kadar glukosa lebih besar dari pada kelompok glibenklamidnya saja. Kelompok kombinasi ekstrak daun tumbuhan sala dosis 250 mg/KgBB dengan glibenklamid 0,9 mg/KgBB hasil analisis statistiknya menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan, sehingga dapat dikatakan aktivitas kelompok ini dengan kontrol positifnya memiliki aktivitas setara.

Kelompok perlakuan ekstrak daun tumbuhan sala dosis 125 mg/KgBB dengan glibenklamid 0,9 mg/KgBB juga menunjukkan hasil perbedaan yang tidak signifikan.

### C. Hasil Penelitian Toksisitas Akut Ekstrak Daun Sala

Uji toksisitas akut ditujukan untuk mengetahui potensi ketoksikan yang dinilai dari harga *Lethal Dose 50* ( $LD_{50}$ ) selama 24 jam, menilai berbagai gejala klinis yang timbul serta mekanisme yang memerantarai terjadinya kematian hewan uji.  $LD_{50}$  adalah dosis yang menyebabkan kematian pada 50% populasi. Apabila selama 24 jam tidak ada hewan uji yang mati, maka pengamatan dilakukan selama 14 hari, hal ini untuk melihat kemungkinan efek toksik yang tertunda yang dapat diamati dari perilaku dan histopatologi organ.

**Tabel 4. Data pengamatan gejala klinik selama 3 jam setelah pemberian ekstrak daun Sala dosis tunggal 4000 dan 16000 mg/kgBB**

HU	hiper aktif	pasif	lemah	gelisah	bradipnea	Dispnea	bradikardi	takikardi	Diare	Warna tinja
1	-	v	-	-	-	-	-	-	-	Coklat
2	-	v	-	-	-	-	v	-	-	Coklat
3	-	v	-	v	-	-	v	-	-	Coklat
4	-	v	-	-	-	-	v	-	-	Coklat
5	-	v	-	v	-	-	v	-	-	coklat

Tikus pada kelompok dosis ekstrak daun Sala dosis 4000 dan 16000 mg/kgBB tidak menunjukkan gejala toksik pada hewan uji,

setelah perlakuan tikus cenderung menjadi pasif (tidur).

**Tabel 5. Persentase kematian hewan uji setelah pemberian ekstrak daun Sala selama 24 jam**

Kelompok Perlakuan	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah Hewan uji		% hewan uji	
		Hidup	Mati	Hidup	Mati
I	250	5	-	100	-
II	1.000	5	-	100	-
III	4.000	5	-	100	-
IV	16.000	5	-	100	-

Dari tabel 2 dapat dilihat bahwa sampai dosis tertinggi tepat pada batas volume maksimum yang boleh diberikan pada hewan uji, tidak ada hewan uji yang

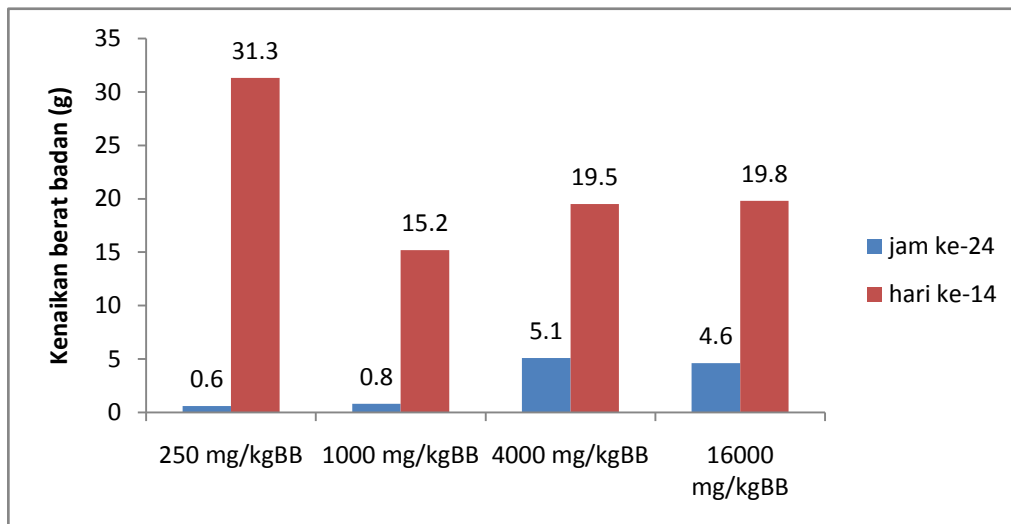
mati, sehingga  $LD_{50}$  semu ekstrak daun Sala adalah 16.000 mg/KgBB. Potensi ketoksikan akutnya dalam kategori praktis tidak toksik.

**Tabel 6. Data penimbangan berat badan tikus pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) dan jam ke-24, serta hari ke-14 setelah pemberian ekstrak daun Sala**

Dosis	Hewan uji ke:	Penimbangan berat badan (g) tikus		
		Hari ke-0	Jam ke-24	Hari ke-14
250 mg/kgBB	1	193	189,5	220,5
	2	176,5	175	206
	3	171,5	176	188
	4	145,5	150	172
	5	144,5	143,5	204
1000 mg/kgBB	1	167,5	168	191
	2	195,5	192,5	203
	3	215,5	216	171,5
	4	158,5	169	231,5
	5	198,7	194,2	218,5
4000 mg/kgBB	1	128,5	156,5	173,5
	2	143	163,5	171
	3	132	126	141,5
	4	137,5	136	195,8
	5	193	177,5	175,2
16000 mg/kgBB	1	158	152,1	167
	2	129,5	146,5	180
	3	153	152	178
	4	178	192,5	210
	5	143	141,5	149

Pengamatan yang dilakukan selama 24 jam dan 14 hari menunjukkan bahwa semua kelompok perlakuan mengalami peningkatan berat badan. Dengan demikian

diasumsikan bahwa pemberian ekstrak dan Sala tidak mempengaruhi nafsu makan. (gambar 2.)



**Gambar 2. Kenaikan berat badan tikus setelah perlakuan dengan ekstrak daun Sala**

**D. Hasil Penelitian Toksisitas Akut Ekstrak Kulit Batang Sala**

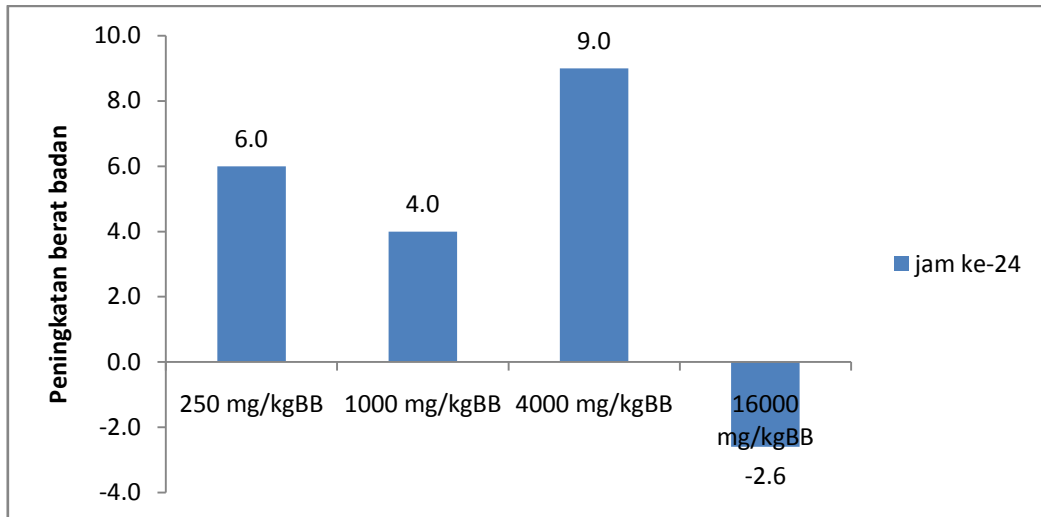
LD<sub>50</sub> semu ekstrak kulit batang Sala adalah 16.000 mg/KgBB. Potensi ketoksikan akutnya dalam kategori praktis tidak toksik.

**Tabel 7. Persentase kematian hewan uji setelah pemberian ekstrak kulit batang Sala selama 24 jam**

Kelompok Perlakuan	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah Hewan uji		% hewan uji	
		Hidup	Mati	Hidup	Mati
I	250	5	-	100	-
II	1.000	5	-	100	-
III	4.000	5	-	100	-
IV	16.000	5	-	100	-

**Tabel 8. Data penimbangan berat badan tikus pada hari ke-0 (sebelum perlakuan) dan jam ke-24 , serta hari ke-14 setelah pemberian ekstrak daun Sala**

Dosis	Hewan uji ke:	Penimbangan berat badan (g) tikus		
		Hari ke-0	Jam ke-24	Hari ke-14
250 mg/kgBB	1	147	152	184,5
	2	160	167,5	185,5
	3	142,5	148,8	164
	4	155	160	181
	5	146,5	151,5	181
1000 mg/kgBB	1	169,5	173,7	197
	2	183	185	213
	3	158	160	193
	4	140,5	144,5	179,5
	5	150	159	175
4000 mg/kgBB	1	161,5	173	
	2	181,5	180,7	
	3	202	211,5	
	4	157	165,5	
	5	171	185	
16000 mg/kgBB	1	178,5	182,5	
	2	201	161,5	
	3	159,5	165,5	
	4	163,5	178,5	
	5	199,5	201	



**Gambar 3. Kenaikan berat badan tikus setelah perlakuan dengan ekstrak kulit batang Sala**

Pada kelompok dosis 16000 mg/kgBB menunjukkan terjadi penurunan berat badan dengan purata sebesar 2,6 g.

**E. Gambaran toksisitas hati dan ginjal**

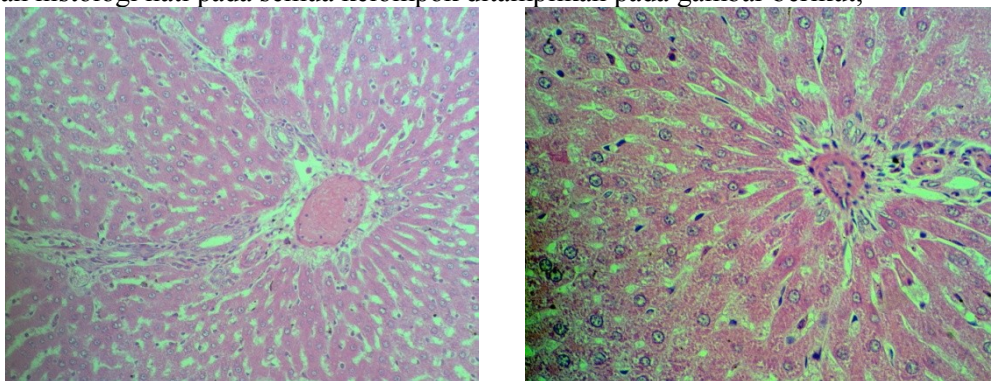
Gambaran toksisitas hati dan ginjal diperlukan untuk memberikan informasi apakah ada efek toksik pada hati dan ginjal

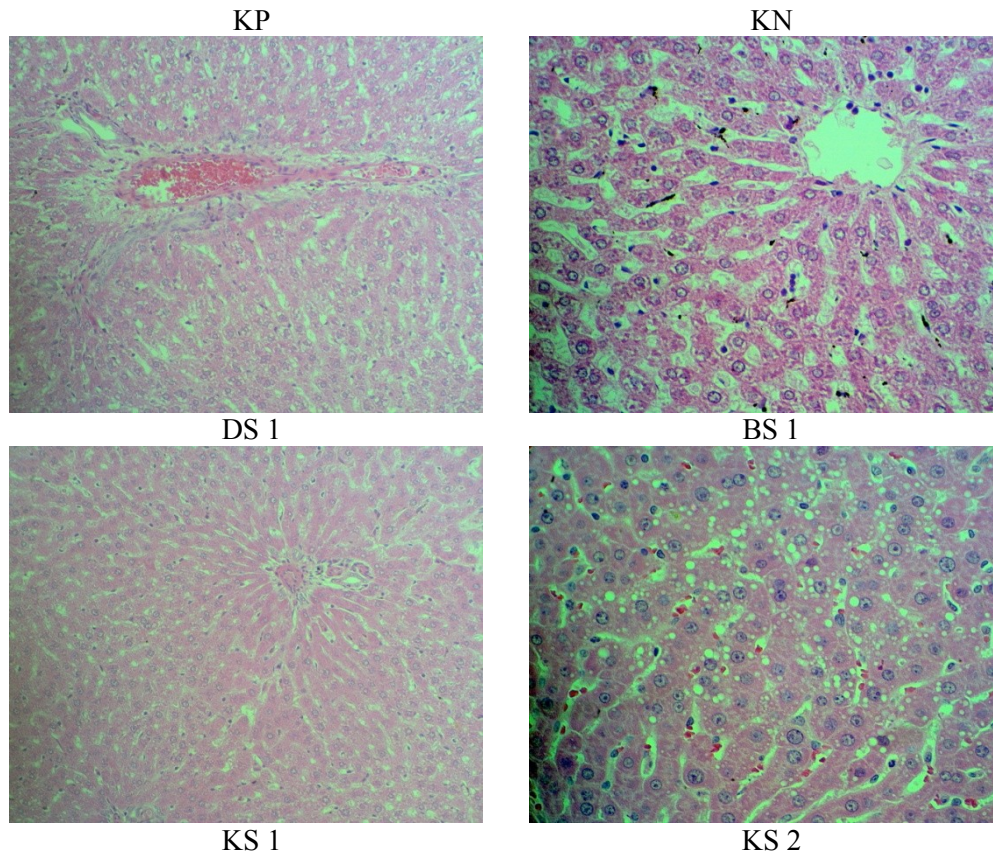
akibat pemberian perlakuan selama 18 minggu. Pemeriksaan hati dilakukan secara deskriptif untuk mengetahui apakah ada degenerasi skut di sekitar vena porta hati dan tubulus poksimal ginjal yang merupakan tanda patognomonis dari kejadian toksisitas. Deskriptif dari tanda toksisitas ditampilkan pada tabel 1 dan gambar 1.

**Tabel 1. Deskriptif tanda toksisitas hati dan ginjal**

Kelompok	Toksitas Hati	Toksitas Ginjal
Kontrol Positif	TAK	TAK
Kontrol Negatif	TAK	TAK
Daun Sala 1	TAK	TAK
Kulit Batang Sala	TAK	TAK
Kombinasi	TAK	TAK
Kombinasi	TAK	TAK

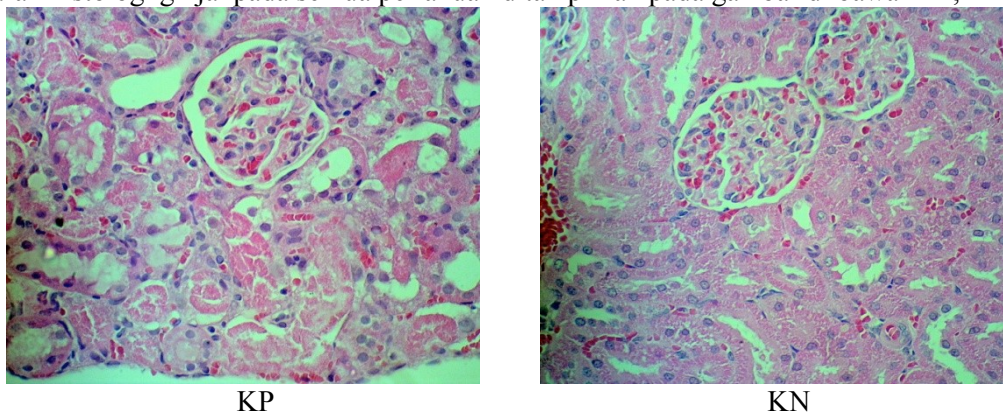
Gambaran histologi hati pada semua kelompok ditampilkan pada gambar berikut;



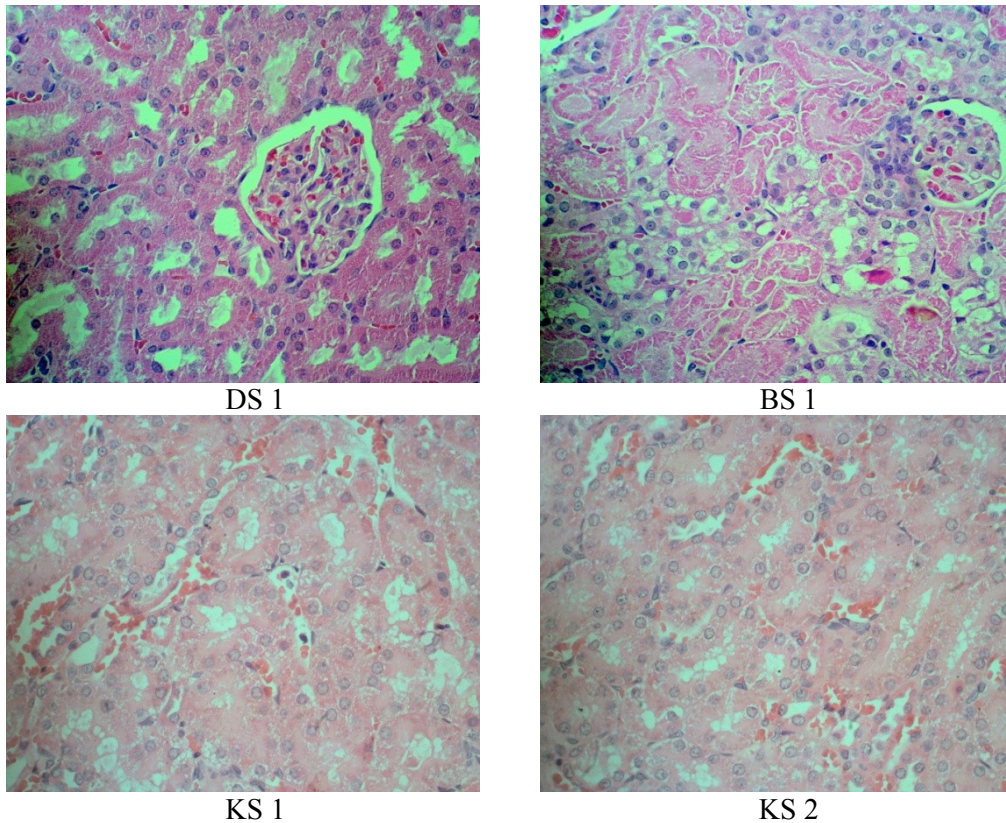


**Gambar 1. Gambaran histologi hati kelompok perlakuan.**

Gambaran histologi ginjal pada semua perlakuan ditampilkan pada gambar di bawah ini;







**Gambar 2. Gambaran histologi ginjal kelompok Perlakuan**

Berdasarkan gambaran di atas maka jelas bahwa ekstrak kulit dan daun tumbuhan sala tidak memberikan efek yang tidak aman bagi organ hati dan ginjal. Gambaran histopatologi ginjal dan hati tidak menunjukkan tanda kerusakan akibat toksisitas selama penelitian.

## **2. Gambaran formula produk antidiabetes berbasis ekstrak tumbuhan sala**

Hasil penelitian tahu kedua penelitian ini membuktikan bahwa ekstrak daun tumbuhan sala memberikan efek yang sangat baik terhadap tikus yang dibuat diabetes sehingga pengembangan produk salah satunya diarahkan pada produk antidiabetes. Pada pembuatan formula produk berbasis tumbuhan sala dibuat kombinasi antara ekstrak daun tumbuhan sala dengan daun insulin dengan perbandingan

60:40. Sediaan yang paling banyak di pasaran adalah kapsul. Dosis yang dibuat adalah 300 mg ekstrak daun tumbuhan sala dan 200 mg ekstrak daun insulin. Jenis kapsul yang digunakan adalah kapsul keras transparan dengan ukuran nomor 1, karena jumlah ekstrak masih sedikit untuk masuk kedalam kapsul maka perlu bahan tambahan dimana sebagai bahan tambahan adalah laktosa sesuai standar pembuatan obat. Proses pembuatan produk ini kami bekerja sama dengan CV. Arafat Sukses Mulia, karena IKOT tersebut sudah memiliki ijin produksi dari Badan POM RI.

Desain produk, nama dan produk dapat dilihat gambar 3.

Nama produk : Insulabet

No. POM TR : --

Sediaan : Kapsul



Gambar 3. Kapsul Insulabet



Gambar 4. Kemasan Luar Kapsul Insulabet

## 5. KESIMPULAN

1. Ekstrak daun dan kulit batang tumbuhan sala tidak merusak ginjal dan hati tikus percobaan selama penelitian yang ditentukan.
2. Formulasi produk berbasis tumbuhan sala dibuat dalam bentuk kapsul dan dilabel dengan nama isulabet.

## Daftar Pustaka

1. Bunyaphatsara, Nuntavan, Aranya Jutiviboonsuk, Prapinsara Sornlek, Wiroj Therathanathorn, Sanit Aksornkaew, Harry H. S. Fong, John M. Pezzuto, and Jerry Kosmeder, 2003, *Pharmacological studies of plants in the mangrove forest*, India: Mahidol University.
2. Candra. A., Jamu Aman dan Layak Dikonsumsi, Kompas, dibaca Senin, 13 Februari 2012, 09:57 WIB
3. Dave, R. 2006. Mangrove ecosystem of south, west Madagascar: an ecological, human impact, and subsistence value assessment. *Tropical Resources Bulletin* 25: 7-13.
4. Ditjen INTAG. 1993. *Hasil penafsiran luas areal dari citra landsat MSS liputan tahun 1986-1991*. Direktorat Jenderal Inventarisasi dan Tata Guna Hutan, Departemen Kehutanan RI
5. Ditjen RLPS. 2001. *Kriteria dan standar teknis rehabilitasi wilayah pantai*. Direktorat Jenderal Rehabilitasi Lahan dan Perhutanan Sosial, Departemen Kehutanan RI.



6. Djajanegara, I., dan Wahyudi, P., 2009, Pemakaian Sel HeLa dalam Uji Sitotoksitas Fraksi Kloroform dan Etanol Ekstrak Daun *Annona squamosa*, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, Vol.7., No.1, 7-11.
7. Haryoto. 2007. Antioksidan dari Fraksi Polar Ekstrak Metanol dari Kulit Kayu Batang *Shorea accuminatissima* dengan Metode DPPH. *Jurnal Ilmu Dasar*, FMIPA UNEJ. Vol. 8 No.2. hal. 158-164.
8. \_\_\_\_\_.2007. Sifat Sitotoksik Oligomer Resveratrol dari Kulit Batang *Shorea brunnescens* dan *Shorea rugosa* Terhadap Sel Murin Leukemia P-388. *Seminar Nasional Himpunan Kimia Bahan Alam Indonesia XVI*. Unri-Riau.
9. \_\_\_\_\_.2008. Oligostilbenoids from *Shorea gibbosa* and their cytotoxic properties against P-388 cells. *Journal Natural Medicine, Japan*. Vol. 12 No. 1. hal. 1861-1865.
10. \_\_\_\_\_.2009.Sitotoksik Fraksi Polar Ekstrak Aseton Kulit Batang Sukun (*Artocarpus communis*) Terhadap Sel Myeloma. *Simposium Bahan Obat Alami XIV* . Jakarta: BPPT.
11. \_\_\_\_\_.2010. Antioxidant Activity of Total Phenolic Compound in Hexane Fraction from *Piper betle* L. Leaves with DPPH Methode. *International Conference and Talk Show on Medical Plant "Effective, Safe and Qualified Herbal Medicine for Diabetes Melitus Treatment"*. Jakarta: BPPT.
12. Indrayudha.P.2006. Uji Aktivitas Ekstrak Gubal Daun Dewandaru (*Eugenia uniflora*.Linn) dan Daun Keladi Tikus (*Typhonium flagelliforme*.(Lodd) Bl) Terhadap Pemetongan DNA Superkoil Untai Ganda. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol.3 No.2.
13. \_\_\_\_\_.2011. Antiangiogenesis of Protein Fraction Containing MJ-C, Acidic Ribosome Inactivating Proteins of *Mirabilis jalapa* L. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*. Vol 7. No 5.
14. Khan, Mohammed Ahad Ali, Prasanta Paul and Mohammed Torequl Islam, 2006. *Phytochemical and pharmacological screening of Shingra (Cynometra ramiflora Linn., Family: Leguminosae) bark based on its traditional uses*. Department of Pharmacy Southern University.
15. Loomis,T., 1978.Essential of Toxicology, 3<sup>rd</sup> edition, Lea & Febriger, Philadelphia.
16. Onrizal. 2005. Hutan mangrove selamatkan masyarakat di pesisir utara Nias dari tsunami. *Warta Konservasi Lahan Basah* 13 (2): 5-7.
17. Primavera, JH. 2005. Mangroves, fishpond, and the quest for sustainability. *Science* 310 (5745): 57-58.
18. Rohman dan Riyanto, S., 2006, Aktivitas Antiradikal Bebas Ekstrak Kloroform Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*, L.) dan Fraksi-fraksinya, *Artocarpus*, 6: 39.
19. Suhendi.A. 2009. Analisis Rhodamin B dalam Jajan Pasar dengan Metode KLT. *Jurnal Sains dan Teknologi*. Vol 10. No 2.
20. -----, 2010. Aktivitas Antihiperurisemia Ekstrak Air Jinten Hitam Pada Mencit Putih Galur Balb C dan Standardisasinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 22 No. 2.
21. Setiabudy, R., dan Gan, V. H. S., 2007, Pengantar Antimikroba dan Farmakologi dan Terapi, Edisi IV, 571-572, *Bagian Farmakologi FKUI*, Jakarta.
22. Sujono. A.T. 2007. Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Mindi (*Melia azedarach*) pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss. *Jurnal Pharmacon*, Surakarta. Vol. 8 No 1.
23. -----, 2009. Antaraksi Quercetin dengan Tolbutamid : Kajian terhadap Perubahan Kadar Glukosa Darah pada Tikus Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal*

- Sains & Teknologi* Vol. 10, No 2.
24. -----,2010. Pengaruh Lama Praperlakuan Flavonoid Rutin terhadap Efek Hipoglikemik Tolbutamid pada Tikus Jantan yang Diinduksi Aloksan. *Jurnal Sains & Teknologi* Vol. 11, No 1.
25. Tiwari.P., Rahuja.N., Kumar, R., Lakshmi.V., Srivastava,N.M., Agarwal. C.S.,Raghubir.R., and Srivastava. K.A., 2008, Search for antihyperglycemic activity in few marine flora and fauna. *Indian Journal of Science and Technology*. 1 (5), p.1-5.
26. Uddin, Shaikh J., Grice Darren .I., and Tiralongo.E., 2009, Cytotoxic Effects of Bangladeshi Medicinal Plant Extracts. Original Article. *eCAM Advance Access published August 25*, P.1-6.