

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN MELINJO
(*Gnetum gneom* L.) TERHADAP TIKUS PUTIH JANTAN GALUR
WISTAR DENGAN METODE *FIXED-DOSE-PROCEDURE***

SKRIPSI

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi (S.Farm.) di bidang studi Farmasi pada Fakultas MIPA



Oleh :

**AYU ADELIA LESTARI
08061181621015**

**JURUSAN FARMASI
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS SRIWIJAYA
2020**

HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI

Judul Makalah Hasil: UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN
MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) TERHADAP TIKUS PUTIH
JANTAN GALUR WISTAR DENGAN METODE *FIXED
DOSE PROCEDURE*

Nama Mahasiswa : AYU ADELIA LESTARI

NIM : 08061181621015

Jurusan : FARMASI

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Sidang Ujian Skripsi Jurusan Farmasi
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam (MIPA) Universitas Sriwijaya
pada tanggal 15 Mei 2020 serta telah diperbaiki, diperiksa, dan disetujui sesuai
dengan saran yang diberikan.

Inderalaya, 27 Mei 2020

Ketua:

1. Herlina, M.Kes., Apt.

NIP. 197107031998022001

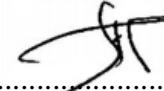


(.....)

Anggota:

1. Annisa Amriani S, M.Farm., Apt.

NIPUS. 198412292014082201



(.....)

2. Rennie Puspa Novita, M.Farm., Klin., Apt.

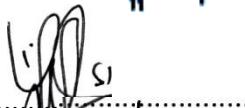
NIPUS. 198711272013012201



(.....)

3. Indah Solihah, M.Sc., Apt.

NIP. 198803082019032015



(.....)

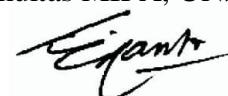
4. Elsa Fitria Apriani, M.Farm., Apt.

NIP. 199204142019032031



(.....)

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi
Fakultas MIPA, UNSRI



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

HALAMAN PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

Sebagai civitas akademik Universitas Sriwijaya, yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama Mahasiswa : Ayu Adelia Lestari
NIM : 08061181621015
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi
Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Sriwijaya “hak bebas royalti non-ekslusif” (*non-exclusively royalty-free right*) atas karya ilmiah saya yang berjudul: “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar dengan Metode *Fixed Dose Procedure*” beserta pangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan hak bebas royalti non-ekslusif ini Universitas Sriwijaya berhak menyimpan, mengalihmedia/memformatkan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (*database*), merawat, dan mempublikasikan tugas akhir atau skripsi saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik hak cipta.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sesungguhnya.

Indralaya, 27 Mei 2020

Penulis,

Ayu Adelia Lestari
NIM. 08061181621015

HALAMAN PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH

Yang bertanda tangan dibawah ini

Nama Mahasiswa : Ayu Adelia Lestari
NIM : 08061181621015
Fakultas/Jurusan : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam/Farmasi

Menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri dan karya ilmiah ini belum pernah diajukan sebagai pemenuhan syarat untuk memperoleh gelar kesarjanaan strata 1 (S1) dari Universitas Sriwijaya maupun perguruan tinggi lain. Semua informasi yang dimuat dalam skripsi ini berasal dari penulis lain baik yang dipublikasikan atau tidak telah diberikan penghargaan dengan mengutip nama sumber penulis secara benar. Semua isi dari skripsi ini sepenuhnya menjadi tanggung jawab saya sebagai penulis.

Demikianlah surat pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Indralaya, 27 Mei 2020

Penulis,



Ayu Adelia Lestari

NIM. 08061181621015

KATA PENGANTAR

Segala puji bagi Allah SWT, Tuhan Semesta Alam yang atas rahmat dan karunia-Nyalah sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penyusunan skripsi yang berjudul “Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar dengan Metode *Fixed Dose Procedure*”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat mendapatkan gelar Sarjana Farmasi di Jurusan Farmasi Fakultas MIPA Universitas Sriwijaya. Selain itu, skripsi ini ditulis untuk memberikan informasi mengenai toksisitas daun melinjo sebagai bahan alam.

Penulis menyadari bahwa dalam penelitian maupun penyusunan skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak. Oleh karena itu, pada kesempatan ini dengan segala kerendahan hati penulis mengucapkan terimakasih kepada:

1. Allah SWT atas berkat rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian serta penulisan skripsi ini dengan baik, serta nabi Muhammad SAW sebagai manusia yang memberikan suri tauladan terbaik untuk umatnya.
2. Kedua orang tuaku, mama dan papa tersayang, terima kasih atas semua perjuangan dan pengorbanan kalian selama ini. Terima kasih telah memberikan doa, semangat, dukungan, cinta, kasih sayang, dan ridho kepada penulis sehingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan skripsi ini dengan baik. Untuk papa sayang, maaf mbak masih belum bisa memberikan yang terbaik untuk papa, yang tenang disana papa, liat mbak pake toga dari atas ya pa, mbak sayang papa.
3. Keluargaku tersayang, ayukku Meca Debriantri Cuhida, AMd.Gz, kakakku Yogi Mardotilla, S.Pd terimakasih kepada kalian yang selalu memberikan asupan keuanganku, adik-adikku Meitri Indah Sari, Bintang Wahyu Adly, Mohammad Tegar Djapiloes, Jonli Perdana Putra, keponakanku Barie Alvaro, Kelvin Novari Putra dan Nenek Anang, Nenek Ino serta saudara - saudaraku yang selalu memberikan semangat, motivasi serta doa kepada penulis.
4. Bapak Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt. Selaku Ketua Jurusan Farmasi

FMIPA Unsri dan pembimbing akademik, yang telah memberikan dukungan dan nasihat selama perkuliahan serta memberikan kesempatan kepada penulis untuk melakukan penelitian dan penyusunan skripsi.

5. Ibu Herlina, M.Kes., Apt. selaku pembimbing pertama serta Ibu Annisa Amriani, M.Farm., Apt. selaku pembimbing kedua yang telah bersedia meluangkan waktu, memberikan ilmu, arahan dan saran, serta semangat dan motivasi selama penulis melakukan penelitian hingga penyusunan skripsi terselesaikan.
6. Kepada semua dosen-dosen Jurusan Farmasi FMIPA yang telah memberikan pengetahuan dan wawasan baik di dalam maupun di luar kampus selama perkuliahan.
7. Seluruh staf (Kak Ria dan Kak Adi) dan analis laboratorium (Kak Tawan, Kak Erwin, Kak Isti, dan Kak Fitri) Jurusan Farmasi FMIPA Universitas Sriwijaya yang telah banyak memberikan bantuan sehingga penulis bisa menyelesaikan studi tanpa hambatan.
8. Sahabat tersayang “Sistur”, Lisna Asti (S.Farm., Apt) dan Indah Permata Sari (S.Farm., Apt) selaku partner tugas akhir. Terimakasih sudah mengajak penulis untuk selalu berfikir positif terhadap semua hal yang terjadi terhadap perskripsi kita, terimakasih sudah ada di masa-masa sulit serta saling member semangat dan motivasi selama tugas akhir.
9. Sahabat tersayang “Anak Kosan”, Ulfah Dwi Niswina (S.Farm., Apt), Rohma Syaktifiani Zerli (S.Farm., Apt), Syafira Anindya Dhika M (M.KM). Terimakasih atas segala doa dan semangat yang kalian berikan. Terimakasih telah menemani canda tawa perkosaan selama ini. Kalian luar biasa.
10. Teman baikku Ayas (S.P), Ifeh, Imel, Dona (S.P), Dila, S.P, Tirai, S.Si dan Ade (S.T). Terimakasih atas doa dan motivasi yang kalian berikan kepada penulis.
11. Teman-teman seperjuangan Farmasi Unsri 2016 yang tidak bisa penulis sebutkan satu persatu. Terima kasih untuk waktu, kebersamaan, dan kesan selama perkuliahan.

12. Kakak-kakak Farmasi 2012, 2013, 2014 dan 2015 yang telah memberikan arahan serta dukungan selama perkuliahan dan penelitian. Adik-adik Farmasi 2017, 2018, dan 2019 yang juga mendoakan dan membantu penulis.
13. Semua pihak yang telah memberikan dukungan dan semangat kepada penulis hingga penulis dapat menyelesaikan perkuliahan dan penulisan skripsi ini dengan baik.

Penulis sangat berterimakasih dan bersyukur atas segala bantuan, dukungan, dan motivasi yang diberikan dari semua pihak yang telah membantu selama penelitian dan penyusunan skripsi. Semoga Allah membalas setiap kebaikan semua pihak yang membantu. Penulis menyadari dalam penulisan skripsi ini masih banyak terdapat kekurangan. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan kritik dan saran yang membangun untuk perbaikan dimasa yang akan datang. Semoga skripsi ini dapat memberikan banyak manfaat untuk kemajuan ilmu pengetahuan.

Inderalaya, 27 Mei 2020

Penulis,

Ayu Adelia Lestari

NIM. 08061181621015

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN MAKALAH SEMINAR HASIL.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN SKRIPSI.....	iii
SURAT PERNYATAAN KEASLIAN KARYA ILMIAH	iv
SURAT PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	
KEPENTINGAN AKADEMIS	v
HALAMAN PERSEMBAHAN DAN MOTTO	vi
KATA PENGANTAR	vii
<i>ABSTRACT</i>	x
ABSTRAK	xi
DAFTAR ISI	xii
DAFTAR TABEL	xiv
DAFTAR GAMBAR	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
DAFTAR ISTILAH	xviii
BAB I PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	3
1.3 Tujuan Penelitian	3
1.4 Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
2.1 Tanaman Melinjo (<i>Gnetum gnemon</i> L.).....	5
2.1.1 Kandungan Senyum Kimia Daun Melinjo	6
2.1.2 Manfaat dan Efek Biologi	7
2.2 Ekstraksi	7
2.3 Uji Toksisitas	8
2.4 Uji Toksisitas Akut	9
2.4.1 <i>Fixed Dose Procedure</i>	11
2.4.2 <i>Up and Down Procedure</i>	13
2.4.3 <i>Acute Toxic Class Method</i>	13
2.5 Hati.....	14
2.6 Ginjal	15
2.7 Jantung.....	17
2.8 Pengamatan Makroskopik Organ.....	19
2.9 Pengamatan Histopatologi Pankreas	19
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	20
3.1 Waktu dan Tempat	20
3.2 Alat dan Bahan.....	20
3.2.1 Alat.....	20
3.2.2 Bahan.....	20

3.2.3	Hewan Uji.....	20
3.3	Metode Penelitian	21
3.3.1	Determinasi Tanaman	21
3.3.2	Persiapan Sampel	21
3.3.3	Pembuatan Ekstrak.....	21
3.3.4	Uji Fitokimia.....	22
3.3.4.1	Alkaloid	22
3.3.4.2	Steroid dan Triterpenoid	22
3.3.4.3	Uji Flavonoid	22
3.3.4.4	Uji Fenolik	23
3.3.4.5	Uji Saponin	23
3.3.4.6	Uji Tanin	23
3.3.5	Penentuan Dosis Hewan Uji	23
3.3.6	Pembuatan Sediaan Uji	23
3.3.7	Prosedur Pengujian	24
3.3.7.1	Uji Pendahuluan	24
3.3.7.2	Uji Utama.....	25
3.3.8	Pengamatan.....	26
3.3.9	Penetapan Kadar Parameter Biokimia	28
3.3.9.1	Penetapan Kadar SGOT dan SGPT	28
3.3.9.2	Penetapan Kadar Kreatinin	29
3.3.9.3	Penetapan Kadar Ureum.....	29
3.4	Analisis Data.....	30
BAB IV	PEMBAHASAN.....	31
4.1	Determinasi Tanaman	31
4.2	Pembuatan Simplisia Tanaman Melinjo (<i>Gnetum gnemon L.</i>)	31
4.3	Ekstraksi Tanaman Melinjo (<i>Gnetum gnemon L.</i>).....	32
4.4	Skrining Fitokimia	33
4.5	Prosedur Pengujian.....	36
4.5.1	Uji Pendahuluan.....	37
4.5.2	Uji Utama	38
4.5.3	Pengamatan Histopatologi Pankreas	41
4.5.4	Pemeriksaan Kadar Parameter Biokimia.....	43
BAB V	KESIMPULAN.....	48
5.1	Kesimpulan.....	48
5.2	Saran.....	48
	DAFTAR PUSTAKA	49
	LAMPIRAN	57
	DAFTAR RIWAYAT HIDUP	82

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Kandungan unsur gizi melinjo per 100 g bahan	7
Tabel 2. Klasifikasi toksisitas menurut Lu	11
Tabel 3. Kategori toksisitas akut senyawa menurut GHS	13
Tabel 4. Kriteria penggolongan sediaan uji menurut OECD (pada tikus)....	26
Tabel 5. Reagen penetapan kadar SGOT dan SGPT	28
Tabel 6. Reagen penetapan kadar kreatinin	29
Tabel 7. Reagen penetapan kadar ureum.....	29
Tabel 8. Hasil skrining fitokimia ekstrak etanol daun melinjo	34
Tabel 9. Hasil pengamatan uji pendahuluan	37
Tabel 10. Hasil pengamatan uji utama	38
Tabel 11. Rata-rata bobot hewan uji pada uji utama	39
Tabel 12. Data makroskopis organ hewan pada uji utama	40
Tabel 13. Derajat kerusakan pulau Langerhans	42
Tabel 14. Kadar SGOT, SGPT, kreatinin dan ureum.....	45

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Tanaman melinjo	6
Gambar 2. Anatomi organ hati.....	14
Gambar 3. Anatomi organ ginjal	16
Gambar 4. Anatomi organ jantung	18
Gambar 5. Reaksi flavonoid dengan menggunakan reagen shinoda	34
Gambar 6. Reaksi uji alkaloid dengan pereaksi wagner	35
Gambar 7. Reaksi hidrolisis saponin didalam air	36
Gambar 8. Gambaran histopatologi pankreas pulau Langerhans perbesaran 100x	42

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Skema Kerja Umum	57
Lampiran 2. Perhitungan Pembuatan Sediaan Uji	58
Lampiran 3. Perhitungan Pembuatan Suspensi Na CMC 0,5%	61
Lampiran 4. Skema Uji Pendahuluan.	62
Lampiran 5. Skema Uji Utama.	64
Lampiran 6. Sertifikat Hasil Determinasi Tanaman Melinjo	66
Lampiran 7. Sertifikat Etik.....	67
Lampiran 8. Sertifikat Hewan Uji.....	68
Lampiran 9. Perhitungan Persentase Rendemen.	69
Lampiran 10. Hasil Skrining Fitokimia.	70
Lampiran 11. Data Bobot Hewan Uji Selama Pemberian Sediaan	71
Lampiran 12. Hasil Uji Statistik Perubahan Bobot Tikus.....	72
Lampiran 13. Hasil Uji Statistik Perubahan Bobot Organ Hati, Ginjal dan Jantung.....	73
Lampiran 14. Hasil Uji Statistik Parameter Biokimia.	75
Lampiran 15. Pengamatan Makroskopik Organ Hati, Ginjal dan Jantung	77
Lampiran 16. Dokumentasi Penelitian.....	80
Lampiran 17. Pengamatan Gejala Toksisitas	81

Acute Toxicity Test Of Ethanol Extract Of Melinjo (*Gnetum Gnemon L.*) Leaves On Male White Rats Of Wistar Strain with *Fixed Dose Procedure Method*

**Ayu Adelia Lestari
08061181621015**

ABSTRACT

Melinjo leaves has several benefits as antidiabetic, antihyperglycemia, antioxidant and diuretic. The result of the screening of the pythochemical showed that leaves of beluntas contained alcaloid, flavonoid, saponin, fenolic and tanin. In this experiment the acute toxicity test of ethanol extract of melinjo (*Gnetum gnemon L.*) leaves on male white rats of wistar strain with *fixed dose procedure method*. Ethanol extract of melinjo leaves was obtained by maceration using ethanol 70%. From the observational study, the dose 2000 mg/kgBW was chosen as starting dose for the main study. Experimental animal subject used in the main study were 10 male white rats of wistar which were divided into 2 group, normal group and treatment group with a dose of 2000 mg/kgBW. The result showed that there were no death or toxicity sign in all experimental animals. During the 14 days observation period, there were no significant changes in body weight of rats either in normal control group and treatmen group with a dose of 2000 mg/kgBW ($p>0,05$). Melinjo leaves had no effect on the macroscopic organs of liver, kidneys and heart of the test animals ($p>0,05$). The average level of biochemical parameters in the normal group is SGOT $54,13\pm11,428$ U/L, SGPT $47,476\pm21,655$ U/L, creatinine $0,632\pm0,199$ mg/dL, and urea $14,46\pm2,267$ mg/dL, while the 2000 mg/kgBW dose group is SGOT $60,192\pm14,198$ U/L, SGPT $55,968\pm22,998$ U/L, creatinine $0,756\pm0,204$ mg/dL, dan urea $16\pm2,561$ mg/dL. It showed that the ethanol extract of melinjo leaves with a dose of 2000 mg/kgBW are the category of practically non-toxic.

Keywords : Melinjo leaves, *Gnetum gnemon L.*, acute toxicity, fixed dose procedure

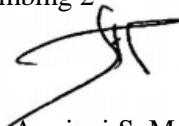
Indralaya, 27 Mei 2020

Menyetujui,
Pembimbing 1



Herlina, M.Kes., Apt.
NIP. 197107031998022001

Pembimbing 2



Annisa Amriani S, M.Farm., Apt.
NIPUS. 198412292014082201

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

**Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.)
Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar dengan Metode *Fixed Dose
Procedure***

**Ayu Adelia Lestari
08061181621015**

ABSTRAK

Daun Melinjo memiliki beberapa khasiat sebagai antidiabetes, antihiperglikemia, antioksidan dan diuretik. Hasil skrining fitokimia menunjukkan bahwa daun melinjo memiliki metabolit sekunder berupa senyawa alkaloid, flavonoid, saponin, fenolik dan tanin. Pada penelitian ini telah dilakukan uji toksisitas akut ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap tikus putih jantan galur Wistar dengan metode *fixed dose procedure*. Ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) diperoleh dengan cara maserasi menggunakan etanol 70%. Pada uji pendahuluan didapatkan dosis 2000 mg/kgBB sebagai dosis awal untuk uji utama. Hewan uji yang digunakan pada uji utama berjumlah 10 ekor tikus putih jantan galur Wistar, terbagi menjadi 2 kelompok yaitu kelompok normal dan kelompok perlakuan dengan dosis 2000 mg/kgBB. Hasil penelitian menunjukkan tidak terjadi kematian maupun gejala toksik pada semua kelompok perlakuan. Selama 14 hari masa pengamatan, tidak terjadi perubahan bobot tikus yang signifikan baik pada kelompok normal maupun kelompok dosis 2000 mg/kgBB ($p>0,05$). Daun melinjo tidak berpengaruh terhadap makroskopis hati, ginjal dan jantung hewan uji ($p>0,05$). Rata-rata kadar parameter biokimia kelompok normal adalah SGOT $54,13\pm11,428$ U/L, SGPT $47,476\pm21,655$ U/L, kreatinin $0,632\pm0,199$ mg/dL, dan urea $14,46\pm2,267$ mg/dL, sedangkan untuk kelompok tikus dosis 2000 mg/kgBB adalah SGOT $60,192\pm14,198$ U/L, SGPT $55,968\pm22,998$ U/L, kreatinin $0,756\pm0,204$ mg/dL, dan urea $16\pm2,561$ mg/dL. Hal ini menunjukkan bahwa sediaan ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dosis 2000 mg/kgBB berada dalam kategori praktis tidak toksik.

Kata Kunci : Daun Melinjo, *Gnetum gnemon* L., toksisitas akut, *fixed dose procedure*

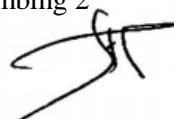
Indralaya, 27 Mei 2020

Menyetujui,
Pembimbing 1



Herlina, M.Kes., Apt.
NIP. 197107031998022001

Pembimbing 2



Annisa Amriani S, M.Farm., Apt.
NIPUS. 198412292014082201

Mengetahui,
Ketua Jurusan Farmasi



Dr.rer.nat. Mardiyanto, M.Si., Apt.
NIP. 197103101998021002

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengembangan obat tradisional menjadi obat herbal terstandar dan fitofarmaka sehingga dapat diterima di pelayanan kesehatan formal harus didukung oleh bukti ilmiah adanya khasiat dan keamanan penggunaannya pada manusia. Bukti tersebut hanya dapat diperoleh dari penelitian yang dilakukan secara sistematis melalui beberapa tahapan. Tahapan pengembangan obat tradisional menjadi fitofarmaka antara lain adalah tahap seleksi, uji preklinik (terdiri atas uji toksisitas dan uji farmakodinamik), standarisasi sederhana, penentuan identitas dan pembuatan sediaan terstandar serta uji klinik (Dewoto, 2007).

Menurut Badan Pengawasan Obat dan Makanan (2005), obat tradisional adalah bahan atau ramuan yang berupa bahan tumbuhan, bahan hewan, bahan mineral, sediaan galenik atau campuran dari bahan–bahan tersebut, yang secara tradisional telah digunakan untuk pengobatan berdasarkan pengalaman. Obat tradisional dapat digunakan sebagai obat alternatif karena adanya kepercayaan bahwa obat tradisional lebih aman, memiliki efek samping yang lebih sedikit dibandingkan dengan obat sintetis (Dewoto, 2007). Salah satu tanaman yang dapat digunakan sebagai obat tradisional yaitu daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang termasuk dalam tanaman spesies *Gnetaceae* yang banyak tumbuh di beberapa daerah di Indonesia. Menurut Parmadi (2006) daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) mengandung metabolit sekunder berupa alkaloid, saponin, tanin, fenolik dan flavonoid.

Berdasarkan penelitian Santoso (2019), daun melinjo memiliki aktivitas sebagai diuretik dengan $ED_{50} = 1068 \text{ mg/kgBB}$. Daun melinjo memiliki efek antidiabetes dengan dosis 500 mg/kgBB yang dapat menghasilkan $ED_{50} = 720,86 \text{ mg/kgBB}$ (Noviarny, 2019). Berdasarkan penelitian Nurulifah dkk. (2018) daun melinjo memiliki efek antihiperglikemia dengan dosis 300 mg/kgBB lebih efektif memberikan efek penurunan kadar glukosa darah pada tikus selama 7 hari perlakuan. Daun melinjo memiliki aktivitas sebagai antioksidan ($IC_{50} = 0,058 \text{ mg/ml}$) yang dapat menghambat radikal bebas dan dapat berfungsi sebagai antiaging dengan $IC_{50} = 0,058 \text{ mg/ml}$.

Cara mengetahui keamanan daun melinjo (*Gnetum gnemon L.*) maka perlu dilakukan uji toksisitas. Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi, dan untuk memperoleh data dosis respon yang khas dari sediaan uji. Salah satu uji yang bisa dilakukan adalah uji toksisitas akut yaitu uji untuk mendeteksi efek toksik yang muncul dalam waktu singkat setelah pemberian sediaan uji yang diberikan secara oral dalam dosis tunggal, atau dosis berulang yang diberikan dalam waktu 24 jam. Metode yang digunakan adalah *Fixed Dose Method*. Prinsip dari metode ini dengan menggunakan dosis bertingkat 5, 50, 300 dan 2000 mg/kgBB (BPOM RI, 2014).

Penelitian ini tidak hanya mengenai rentang dosis toksik (*range LD₅₀*) tetapi juga terhadap gejala toksik yang timbul berupa perubahan tingkah laku tikus seperti tremor, salivasi diare, lemas, jalan mundur, dan jalan menggunakan perut (BPOM, 2014). Pengamatan juga dilakukan terhadap makroskopis hati, ginjal, dan jantung (bentuk, bobot, dan warna organ) serta parameter biokimia seperti SGOT, SGPT, Kreatinin, dan Ureum.

SGOT dan SGPT merupakan dua macam enzim yang dihasilkan oleh sel-sel hati. Kedua enzim ini digunakan sebagai indikator pada pemeriksaan fungsi hati, dimana kadaranya akan meningkat dalam darah ketika sel-sel hati mengalami kerusakan. Adapun parameter Kreatinin dan Ureum merupakan pemeriksaan untuk mengetahui adanya protein dan darah dalam urine yang menandakan penurunan fungsi ginjal (Lu, 1995).

Berdasarkan uraian tersebut, maka perlu dilakukan uji toksisitas akut untuk mengetahui potensial toksisitas dari ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap tikus putih jantan galur wistar, sehingga dapat memberikan informasi dasar pertimbangan dalam penggunaan tanaman tersebut sebagai bahan berkhasiat obat.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang tersebut, dapat dirumuskan masalah sebagai berikut:

1. Berapa rentang dosis toksik ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap tikus putih jantan galur Wistar?
2. Berapa kadar parameter biokimia (SGOT, SGPT, kreatinin dan urea) dari organ tikus putih jantan galur Wistar pada dosis toksik?
3. Bagaimana pengaruh efek toksisitas akut ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap makroskopis organ hati, ginjal, dan jantung pada tikus putih jantan galur Wistar?

1.3 Tujuan Penelitian

Adapun tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui rentang dosis toksik ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.).
2. Mengetahui kadar parameter biokimia (SGOT, SGPT, kreatinin, dan urea) dari organ tikus putih jantan galur Wistar pada dosis toksik.
3. Mengetahui efek toksisitas akut ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap makroskopis organ hati, ginjal, dan jantung pada tikus putih jantan galur Wistar.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai rentang, dosis toksik penggunaan ekstrak etanol daun melinjo (*Gnetum gnemon* L.) sebagai obat tradisional. Informasi yang diperoleh dapat menambah wawasan dalam pengembangan dan penelitian obat-obat baru. Hasil penelitian ini juga diharapkan mampu memberikan informasi, pengetahuan, bahan pertimbangan serta penentuan nilai LD₅₀ sebagai landasan untuk penelitian toksisitas selanjutnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdel, C.R., Afrizal, & Mai, E. 2016, *Evaluasi Aktivitas Antioksidan, Toksisitas Dan Fenolik Total Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.)*, *Universitas Andalas, Padang*, **5(3)**: 30-35.
- Al-Daihan, S. & Bhat, R.S. 2012, Antibacterial Activities of Extracts of Leaf, Fruit, Seed, and Bark of Phoenix dactylifera, *African Journal of Biotechnology*, **11(42)**: 10021-10023.
- Amiria, F.D. 2008, ‘Uji toksisitas akut bahan obat herbal “X” ditinjau dari nilai LD₅₀ serta fungsi hati dan ginjal pada mencit putih’, *Skripsi*, S.Farm, Farmasi, MIPA, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Andini, W.C. 2018, *Mengulas anatomi jantung dan fungsinya*, diakses pada tanggal 18 Mei 2019, <<https://hellosehat.com/>>.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan R.I. 2005, *Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: HK.00.05.4.1380 tentang Pedoman Cara Pembuatan Obat Tradisional yang Baik*, Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Badan Pengawasan Obat dan Makanan R.I. 2014, *Lampiran Peraturan Kepala Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor: 7 tentang Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik Secara In Vitro*, Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, Jakarta, Indonesia.
- Capriyanti, H. 2015, *Hormon-hormon yang berperan pada proses metabolisme*, Dept. Biokimia & Biologi Molekuler FK UI Press. Depok, Indonesia.
- Connell, D.W & Miller, G.J. 1995, *Kimia dan ekotoksikologi pencemaran*, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Yanti K, Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia.
- Depkes RI. 1996, *Daftar Komposisi Zat Gizi Pangan Indonesia*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.
- Depkes RI. 2000, *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2003, *Materi medika Indonesia*, Jilid V, Jakarta, Indonesia.
- Derelanko, M.J. & Hollinger, M.A. 2002, *Handbook of toxicology*. 2nd edition, United States.

- Dewoto, H.R. 2007, Pengembangan obat tradisional Indonesia menjadi fitofarmaka, *Maj Kedokt Indon*, **57(7)**: 205-210.
- Donatus. 1998, *Toksikologi dasar*, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta, Indonesia.
- Eriadi, A., Uthia, R. & Novita, R. 2017, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etanol Daun Sembung (*Blumea balsamifera* (L.) DC.) terhadap Kadar Glukosa Darah dan Histopatologi Pankreas Mencit Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan, *Jurnal Farmasi Higea*, **9(2)**: 131-132.
- Eveline, L. 2014 ‘Pengaruh hormone tiroksin (T4) terhadap pertumbuhan berat badan tikus (*Rattus norvegicus*) galur wistar’, Skripsi, S.Farm, Farmasi, Universitas Gajah Mada, Yogyakarta, Indonesia.
- Fenton, D.E. 2009, *Myocardial infarction*, diakses pada tanggal 18 Mei 2019, <<http://emedicine.medscape.com/>>.
- Fessenden, R.J. & Fessenden, J.S. 1982, *Kimia organik*, Edisi 3, Erlangga, Jakarta, Indonesia.
- Ganong, A. 1991, *Biokimia patologi*, Penelaah Moeljohardjo D. PAU Ilmu hayat, Institut Pertanian Bogor Press, Bogor, Indonesia.
- Glaister, J.R. 1986, *Principles of toxicology pathology*, Taylor & Francis, London, Inggris.
- Greaves, P. 2007, *Histopathology of preclinical toxicity studies*, 3rd Edition, Academic Press, New York, Amerika Serikat.
- Harborne, J.B. 1987, *Metode fitokimia*, ITB Press, Bandung, Indonesia.
- Harborne, J.B. 2006, *Metode fitokimia: Penentuan cara modern menganalisis tumbuhan*, ITB Press, Bandung, Indonesia
- Hendri, 2011, Peningkatan ketebalan miokardium mencit (*Mus musculus* L.) akibat paparan medan listrik tegangan tinggi. *Jurnal MKB*, **45(3)**
- Herawati, D., Nurida, L. & Sumarto, 2012. *Cara produksi simplisia yang baik*, Seafast Center IPB, Bogor, Indonesia.
- Hidayah, R. 2008, ‘Pengaruh Lama Pemberian Ekstrak Daun Sambiloto (*Andrographis paniculata* Nees.) Terhadap Glukosa Darah dan Gambaran Histopatologi Pankreas Tikus (*Rattus norvegicus*) Diabetes, Skripsi, S.Si, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Malang, Malang, Indonesia.

- Imono, A.D. 2001, *Toksikologi dasar*, Universitas Gajah Mada Press, Yogyakarta, Indonesia.
- Ira, C.D.F., & Cikra, I. 2015, *Efek Farmakologi Infusa Biji Melinjo (Gnetum gnemon L.) Sebagai Antihiperglykemia pada Mencit (Mus musculus) yang Diinduksi Dextrosa Monohidrat 40%*, *J Pharm Sci Pharm Pract*, **5(1)**: 27-32
- Irianto, K. 2004, *Struktur dan fungsi tubuh manusia untuk paramedis*, Yamara Widya, Bandung, Indonesia.
- Istichomah, N. 2007, ‘Pengaruh pemberian bungkil biji jarak pagar (*Jattropa curcas L.*) terfermentasi dalam ransum terhadap berat karkas, organ dalam serta histopatologi hati dan jantung ayam broiler’, *Skripsi*, S.P., Fakultas Peternakan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Istiqlomah. 2013. *Perbandingan Metode Ekstraksi Maserasi dan Sokletasi Terhadap Kadar Piperin Buah Cabe Jawa (Piperis retrofracti fructus)*. Naskah Skripsi S-1. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Jones, W.P. & Kinghorn, A.D. 2006, *Extraction of Plant Secondary Metabolites*, New Jersey, Humana Press.
- Khatimah, K. 2016, ‘Skrining fitokimia dan identifikasi metabolit sekunder senyawa karpain pada ekstrak metanol daun Carica pubescens Lenne & K. Koch dengan LC/MS (Liquid Chromatograph-tanden Mass Spectrometry)’, *Skripsi*, Jurusan Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, UIN Maulana Malik Ibrahim, Malang, Indonesia.
- Khoirani, N. 2013, ‘Karakterisasi simplisia dan standarisasi ekstrak etanol herbal kemangi (*Ocimum americanum L.*)’, *Skripsi*, S.Farm, Farmasi, Kedokteran dan Ilmu Kesehatan, UIN Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta, Indonesia.
- Klining, G.J. 2015, *The Laboratory Rat. Chapter 13: Gross Anatomy*, Academic Press, New York dan London.
- Koolman, I. 1995, Uji toksisitas subkronik infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus: studi terhadap gambaran mikroskopis jantung dan kadar SGOT darah, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, **11(2)**:86-95.
- Kristanti, A.N., Aminah, N.S., Tanjung, M. & Kurniadi, B. 2008, *Buku Ajar Fitokimia*, Airlangga University Press, Surabaya, Indonesia.
- Kuncarli, I. & Djunarko, I. 2014, Uji toksisitas subkronik infusa daun sirih merah (*Piper crocatum* Ruiz & Pav) pada tikus: studi terhadap gambaran

- mikroskopis jantung dan kadar SGOT darah, *Jurnal Farmasi Sains dan Komunitas*, **11(2)**:86-95.
- Laila, L., Febriyenti., Salhimi, S.M., Baie, S., 2011. *Wound healing effect of haruan (Channa striatus) Spray*, *International Wound Journal*, Blackwell Publishing Ltd and Medicalhelpines.com Inc.
- Laksmi, M.C., Dada, A. & Damriyasa. 2014, Bioaktivitas ekstrak daun tapak dara (*Catharanthus roseus*) terhadap kadar kreatinin dan kadar ureum darah tikus putih (*Rattus norvegicus*), *Buletin Veteriner Udayana*. **6(2)**:147-152.
- Lamb, E., Newman, D.J., Price, D.P. 2006, *Kidney function test*. Dalam: Burtis, C.A., Ashwood, E.R., Bruns. D.E. (eds) *Tietz Textbook of clinical chemistry and molecular diagnostics* 4th ed., Elsevier Saunders, Philadelphia.
- Lestari, S., Ratmawati, M., & Syamsuddin, G. 2013, *Pengawetan Telur Dengan Perendaman Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.)*, Fakultas Pertanian Universitas Khairun, Ternate, **13(2)**: 184-189.
- Li, C.H, Liao, J.W., Liao, P.L., Huang, W.K., Tse, L.S., Kang, J.J., et al. 2013, Evaluation of acute 13-week subchronic toxicity and genotoxicity of the Powdered root of tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack.), *Hindawi research article*, **20(13)**:1-11.
- Lu, F.C. & Kacew, S. 1995, *Lu's basic toxicology: Fundamentals, target organ and risk assessment*, 2th ed, Taylor and francis, London and New York cit.
- Supriyono. 2007, ‘Pengujian Lethal Dosis (LD₅₀) ekstrak etanol biji buah duku (*Lansium domesticum* Corr.) pada mencit (*Mus musculus*)’, Skripsi, S.K.H., Kedokteran Hewan, Fakultas Kedokteran Hewan, Institut Pertanian Bogor, Bogor, Indonesia.
- Lu, F.C & Kacew, S. 2002^a, *Lu's basic toxicology: Fundamentals, target organ and risk assessment*, 2th ed, Taylor and francis, London and New York cit.
- Manner, H.I., & Elevitch, C.R. 2006, *Gnetum gnemon (gnetum). Species Profile for Pacific Island Agroforestry*, diakses pada 18 Mei 2019, www.Traditionaltree.org
- Marliana, S.D., Suryanti, V. & Suyono. 2005, Skrining fitokimia dan analisis kromatografi lapis tipis komponen kimia buah labu siam (*Sechiumedule* Jacq. Swartz.) dalam ekstrak etanol, *Biofarmasi Jurusan Kimia FMIPA UNS, Surakarta*, **3(1)**: 26 – 31.
- Mescher, A.L. 2010, *Junqueira's Basic Histology 12th Ed*, The McGraw-Hill Co Inc, Singapore.

- Mutschler, F. 1991, *Dinamika obat*, Edisi ke – 5, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Mathilda B, Widianto, ITB Press, Bandung, Indonesia
- Niesink, R.J.M., de Vries, J. & Hollinge, M.A. 1996, *Toxicology, principles and application*, CRC Press Inc., New York.
- Nuria, M.C., Faizatun, A. & Sumantri. 2009, Uji aktivitas antibakteri ekstrak etanol daun jarak pagar (*Jatropha curas L.*) terhadap bakteri *staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, dan *salmonella typhi* ATCC 1408, *Jurnal Ilmu-Ilmu Pertanian*, **5(2)**: 26-37.
- Nuridayanti, T. 2011, ‘Uji toksisitas akut ekstrak air rambut jagung (*Zea mays L.*) ditinjau dari nilai LD50 dan pengaruhnya terhadap fungsi hati dan ginjal pada mencit’, *Skripsi*, S.Farm., Farmasi, MIPA, Universitas Indonesia, Depok, Indonesia.
- Nurulifah, Arjuna & Randa, W. 2018, *Efektivitas Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) sebagai Antihiperglikemia pada Mencit (Mus musculus) BALB/C yang Diinduksi Streptozotocin*, Seminar Nasional Teknologi Terapan Berbasis Kearifan Lokal, Kendari: 1 Desember 2018, Hal. 503 – 507
- Nugroho, B.W., Dadang, & Prijono, D. 1999, *Pengembangan dan pemanfaatan insektisida alami*, Pusat Kajian Pengendala Hama Terpadu IPB, Bogor, Indonesia.
- Noviarny, H. 2019, ‘Uji Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon L.*) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Terinduksi Aloksan dan Histopatologi Pankreas’, *Skripsi*, S.Farm, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia.
- Organization for Economic Cooperation and Development. 2001^a., *OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 420: Acute oral toxicity – fixed dose procedure*, OECD, Paris
- Organization for Economic Cooperation and Development. 2001^b., *OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 432: Acute oral toxicity – acute toxic class method*, OECD, Paris
- Organization for Economic Cooperation and Development. 2001^c., *OECD guideline for testing of chemicals. Test No. 420: Acute oral toxicity – up and down procedure*, OECD, Paris
- Osborn, S.Y. 2002, *Lansium domesticum*: skin and leaf extracts of this fruit tree interrupt the lifecycle of plasmodium falciparum and are active towards a

- chloroquine-resistant strain of the parasite (t9) in vitro. *J. ethnopharmacol.*, **85(1)**:145 – 150.
- Panjaitan, R. G. P., Handharyani, E., Chairul., Masriani., Zakiah, Z., Manalu, W. 2007, Pengaruh Pemberian Karbon Tetraklorida Terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Tikus, *Makara Kesehatan*, **11(2)**:11-16.
- Parasuraman, S. 2011, Toxicological screening, *J. Pharmacol Pharmacoter*, **2(2)**:74-79.
- Parmadi, I. 2006, Aktivitas Analgetik Ekstrak Etanol Daun Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) pada Mencit Putih (*Mus musculus* L.) Jantan, *JIIS* , **1(1)** : 71-78.
- Permawati, M. 2008, ‘Karakterisasi ekstrak air daun gandarusa (*Jusica gandarusa*) dan pengaruhnya terhadap kadar asam urat plasma tikus putih jantan yang diinduksi kalium oksonat, *Skrripsi*, S.Farm, Farmasi, FMIPA, UI, Jakarta, Indonesia.
- Price, S.A. & Wilson, McC. 2005, *Patofisiologi: Konsep klinis proses – proses penyakit*, edisi ke-6, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Rachmawan, O. 2001, *Modul Keahlian Teknologi Hasil Pertanian Penanganan Susu Segar*, Direktorat Pendidikan Menengah Kejuruan, Jakarta.
- Robinson, T. 1995, *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*, Institut Teknologi Bandung, Bandung.
- Rochani, A., Ria, Y.S., & Betty, L. 2016, *Skrining Fitokimia dan Total Fenol Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) pada Fraksi yang Berbeda*, Universitas Negeri Malang, Malang.
- Sacher & Ronald, A. 2004, *Tinjauan klinis hasil pemeriksaan* laboratorium, Gramedia Pustaka Utama, Jakarta, Indonesia.
- Sangi, M., Runtuwene, M.R.J., Simbala, H.E.I. & Makang, V.M.A. 2008, Analisis fitokimia tumbuhan obat di kabupaten Minahasa Utara, *Chemistry Progress*, **1(1)**: 47-53.
- Santoso, I. 2019, ‘Uji Aktivitas Diuretik Ekstrak Etanol Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus norvegicus*)’, *Skrripsi*, S.Farm, Jurusan Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Sriwijaya, Indralaya, Indonesia.

- Selawa, W., Max, R.J.R., Dan Gayatri, C. 2013, *Kandungan Flavonoid dan Kapasitas Antioksidan Total Ekstrak Etanol Daun Binahong (Anredera cordifolia (Tenore) Steenis)*, *Jurnal Ilmiah Farmasi*, **2(1)**: 18-22.
- Sembiring C.R., Sheskey, J.P. & Weller, J.P. 2006, *Handbook of pharmaceutical excipient*, 6th Edition, American Pharmaceutical Association, London, UK.
- Septiani, S., Wahtoni, N., dan Mita, S.R. 2012, *Formulasi Masker Gel Antioksidan dari Ekstrak Etanol Biji Melinjo (Gnetum gnemon Linn.)*, Skripsi Fakultas Farmasi Universitas Padjajaran, Bandung.
- Setiaputri, K.A. 2018, *Anatomi hati beserta kelainan yang terjadi pada hati*, diakses pada tanggal 18 Mei 2019, <<https://hellosehat.com/>>.
- Shabrina, A. 2017, *Mengulas anatomi ginjal dan proses penyaringan darah yang terjadi di dalamnya*, diakses pada tanggal 18 Mei 2019, <<https://hellosehat.com/>>.
- Sherwood, L. 2009, *Fisiologi Manusia dari Sel ke Sistem*, Edisi VI, EGC, Jakarta.
- Siswandono & Bambang, S. 1995, *Kimia medisinal*, Airlangga University Press. Surabaya, Indonesia.
- Sunanto, H. 1993, Aren Budidaya dan Multi gunanya, Penerbit Kanisius, Yogyakarta, Indoonesia.
- Sukandar, I. 1997, *Panduan praktis pelayanan kesehatan maternal dan neonatal*, EGC, Jakarta, Indonesia.
- Taroreh, T.N.C., Jimmy, F.R., & Krista, V.S. 2016, *Uji Daya Hambat Ekstrak Daun Melinjo (Gnetum gnemon L.) Terhadap Pertumbuhan Bakteri Streptococcus mutan*, Fakultas Kedokteran UNSRAT, Manado, **5(3)**: 160-166.
- Tjitrosoepomo, G. 2010, *Taksonomi Tumbuhan Spermatophyta*, Gajah Mada University press, Yogyakarta, Indonesia.
- Tortora GJ, & Derrickson B. 2012, *Principles of Anatomy and Physiology* 12th ed. Roesch B, editor, Danvers: John Wiley & Sons, Inc.
- United Nation. 2011, *Globally harmonized system of classification of labelling of chemicals*, 4th revised ed, Acute toxicity United Nation, New York and Geneva.

Voight, R. 1994, *Buku pelajaran teknologi farmasi*, diterjemahkan dari Bahasa Inggris oleh Noerono, S., UGM Press, Yogyakarta, Indonesia

Wijaya, A.L.2010, *Kandungan Antioksi dan Ekstrak Tepung Kulit Buah Manggis (Garcinia mangostanal.) pada Berbagai Pelarut, Suhu, dan Waktu Ekstraksi*. [Skripsi]. Fakultas Pertanian Bogor ITB, Bogor.

Wijaya, D.P., Paendong, J.E. & Abidjudu, J. 2014, Skrining fitokimia dan uji aktivitas antioksidan dari daun nasi (*Phrynum capitatum*) dengan metode DPPH (1,1-difenil-2-pikrildihidrazil), *Jurnal MIPA Unsrat*, **3(1)**: 11-15.

Word Health Organization. 2011, *Care medical equipment-independent: Chemical Chemistry Anallizer*, Word Health Organization, Geneva.

Wilkinson, J.M., Halley, S. & Towers, P.A. 2000, Comparison of male reproductive parameters in three rat strain: Darl Agouti, Sparague-Dawley, and Wistar, *Lab Animal Australia*, **34**:70-75