

Gambaran Cemaran dan Kadar Metil Galat pada Tiga Mutu Ekstrak Gambir (*Uncaria gambir* Roxb.)

Overview of Contamination and Content Methyl Gallate in Three Levels of Quality Gambier Extract (*Uncaria gambir* Roxb.)

Sukmayati Alegantina*, Herni Asih Setyorini

*Pusat Penelitian dan Pengembangan Biomedis dan Teknologi Dasar Kesehatan
Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, Kementerian Kesehatan, Indonesia
E-mail: alegantina@yahoo.com

Diterima: 3 Januari 2017

Direvisi: 17 Februari 2017

Disetujui: 28 Februari 2017

Abstrak

Gambir (*Uncaria gambir* Roxb) adalah tanaman yang mempunyai khasiat terhadap kesehatan di antaranya sebagai antioksidan, antihiperlipidemia dan antibakteri. Ekstrak gambir berasal dari daun dan ranting tanaman *Uncaria gambir* Roxb. melalui proses pengeluaran getah dengan cara direbus, diperas/dikempa, cairan diendapkan, dicetak dan dikeringkan. Selama tanaman tersebut tumbuh kemudian dipanen, diproses, disimpan dan didistribusikan sangat memungkinkan untuk terkontaminasi oleh mikroba maupun senyawa kimia. Adanya persyaratan yang dikeluarkan oleh BPOM No. 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional merupakan rujukan dalam menghasilkan ekstrak gambir agar dihasilkan produk yang aman dan berkualitas. Untuk mengetahui cemaran dalam tiga mutu ekstrak gambir dilakukan pengujian terhadap angka kapang khamir, angka lempeng total, aflatoxin dan logam berat. Selain itu dilakukan penetapan kadar senyawa metil galat yang berkhasiat sebagai antioksidan menggunakan densitometer. Dari pengujian yang telah dilakukan terhadap tiga mutu ekstrak gambir terdapat cemaran yang melewati persyaratan. Cemaran yang melebihi persyaratan mutu angka kapang khamir ($7,5 \cdot 10^{-6}$) dan aflatoxin G2 ($47,38 \cdot 10^6$ ppb) terdapat pada ekstrak gambir mutu 3. Kadar senyawa aktif metil galat tertinggi diperoleh dari ekstrak gambir mutu 3 (2,30%) diikuti mutu 2 (0,44%) dan mutu 1 (0,14%).

Kata kunci: Cemaran; *Uncaria gambir* Roxb.; Metil galat

Abstract

Gambir (Uncaria gambir Roxb) is a plant that has many benefits to health such as antioxidants, antihyperlipidemia and antibacterial. Gambier extract derived from the leaves and twigs of Uncaria gambir Roxb through the process of removing the sap by being boiled, squeezed / compressed, liquid is deposited, molded and dried. During the plant grows, then harvest, process, stored and distributed, it is might contaminated with microbes or chemicals. Based on the requirement issued by BPOM No. 12, 2014 about Traditional Medicine Quality Requirements, it requires us to test the extract that we will use. To determine the contaminant of all three gambier extracts, we tested against yeast fungi figures, total plate count, aflatoxin and heavy metals. Besides that, we also determine content of active compound of methyl gallate which has benefits as an antioxidant with a densitometer. the result shows, there were contaminants that exceeded the requirements. Contaminants that exceeds the requirement are number of fungi yeasts ($7,5 \cdot 10^{-6}$) and aflatoxin G2 ($47,38 \cdot 10^6$ ppb) in gambier extract quality 3. The highest content of active compound of methyl gallate was obtained from extracts of gambier quality 3 (2.30%) followed by gambier quality 2 (0.44%) and gambier quality 1 (0.14%).

Keyword: Contamination; *Uncaria gambir* Roxb; Methyl gallate

PENDAHULUAN

Indonesia memiliki beragam jenis biota tumbuhan dan telah dimanfaatkan secara turun-temurun untuk memenuhi kebutuhan hidup di antaranya sebagai obat tradisional. Metabolit sekunder seperti senyawa fenolik, flavonoid, alkaloid, tanin banyak terdistribusi dalam tanaman dan memberikan efek farmakologi sehingga dapat digunakan untuk pengobatan.¹

Ekstrak gambir merupakan ekstrak air dari daun dan ranting muda tanaman *Uncaria gambir* Roxb. yang termasuk dalam famili *Rubiaceae*. Gambir biasa digunakan sebagai obat herbal di negara-negara Asia. Secara tradisional, gambir telah digunakan untuk pengobatan diare, disentri dan sebagai obat kumur untuk sakit tenggorokan.²

Indonesia adalah pemasok utama gambir di dunia (80%), dan sebagian besar berasal dari Provinsi Sumatera Barat.³ Industri pengolahan gambir di daerah ini terdapat di beberapa Kabupaten seperti Kabupaten Lima Puluh Kota, Pesisir Selatan, Pasaman, Sawah Lunto, Sijunjung, Tanah Datar, dan Kota Madya Bukittinggi.⁴ Gambir diperoleh dengan berbagai cara pengolahan mulai dari pengolahan tradisional maupun dengan menggunakan peralatan semi mekanis ataupun modern yang dikembangkan saat ini.

Beberapa penelitian yang telah dilakukan terhadap ekstrak gambir di antaranya karakterisasi, penetapan kadar katekin, uji khasiat dan manfaat sebagai antihiperlipidemia, antiaterosklerosis, dan uji mutagenik.^{5,6,7,8,9}

Penggunaan gambir sebagai tanaman obat semakin meningkat karena khasiat kesehatan yang diberikan. Oleh karena itu, perlu diperhatikan cemaran yang ada dalam tanaman obat tersebut karena cemaran selain dapat menurunkan kualitas simplisia, juga membahayakan kesehatan. Cemaran yang sering mencemari tanaman adalah aflatoksin. Ada 4 jenis aflatoksin yaitu aflatoksin B1 dan B2 dihasilkan oleh

Aspergillus flavus dan *Aspergillus parasiticus* dan aflatoksin G1 dan G2 dihasilkan oleh *Aspergillus parasiticus*.

Aflatoksin mudah berkembang bila berada pada suhu dan kelembaban tinggi. Kondisi optimum terbentuknya aflatoksin yaitu pada suhu 25-30°C dengan kelembaban relatif 85%. Aflatoksin dapat tumbuh sebelum panen, pada proses panen maupun ketika penyimpanan. Aflatoksin sangat berbahaya karena bersifat toksik, karsinogen dan mutagen. Efek yang ditimbulkan antara lain kanker, menurunkan kekebalan tubuh dan menghilangkan nafsu makan.¹⁰

Pencemaran logam berat merupakan salah satu masalah yang timbul karena meningkatnya penggunaan pupuk dalam memenuhi tuntutan produksi. Kontaminasi logam berat merupakan ancaman untuk air dan tanah sebagai sumber daya dan kesehatan manusia. Peningkatan kadar logam berat pada tanaman dilaporkan karena tanaman berada di sepanjang lalu lintas dan dilahan yang sebelumnya merupakan tempat pembuangan.¹¹ Logam berat akan mempengaruhi kloroplas. Pengamatan pada tanaman lumut yang diairi dengan logam berat menunjukkan bahwa Cd, Fe, Pb lebih toksik dan merusak kloroplas tanaman lumut dibandingkan logam Va dan Cu.¹² Logam berat tersebut bila masuk ke dalam tubuh bila berlebihan akan menimbulkan pengaruh buruk terhadap fungsi fisiologis tubuh.

Peraturan Kepala Badan Pemeriksaan Obat dan Makanan Republik Indonesia (Perka BPOM RI.) nomor 12 tahun 2014 mensyaratkan Angka Kapang /Khamir (AKK) tidak lebih dari 10⁴ dan Angka Lempeng Total (ALT) tidak lebih dari 10⁶ dan kadar aflatoksin total ≤ 20 ug/kg dengan aflatoksin B1 ≤ 5 ug/kg.¹³ ALT yang melebihi persyaratan dapat membahayakan kesehatan, karena dalam ALT terdapat bakteri patogen. *Aspergillus* dan *Penicillium* merupakan dua genus utama yang dapat menghasilkan mikotoksin.¹⁴

Gambir diketahui mempunyai khasiat sebagai antioksidan. Salah satu senyawa yang bersifat antioksidan adalah metil galat (metil 3,4,5-trihydroxybenzoat). Metil galat merupakan turunan asam galat. Beberapa penelitian yang telah dilakukan mengungkapkan bahwa metil galat berkhasiat sebagai antioksidan, antiproliferasi, menghambat kanker payudara pada pertumbuhan sel MDA-MB-231.^{15,16,17} Pada penelitian Kasture VS dkk, menyatakan metil galat mempunyai khasiat sebagai antioksidan terbesar dibandingkan derivat asam galat yang lainnya.¹⁸

Dipasaran ditemukan tiga macam ekstrak gambir dengan kualitas yang berbeda-beda. Ekstrak gambir yang diuji terdiri dari 3 mutu. Mutu 1 adalah ekstrak gambir dengan kualitas yang terbaik, sedangkan pada mutu 2 dan 3 dengan kualitas yang lebih rendah. Dari penelitian-penelitian yang telah dilakukan, belum terdapat penelitian tentang pengujian cemarkan pada 3 mutu ekstrak gambir yang beredar dipasaran. Oleh karena itu penelitian ini bertujuan melakukan pengujian cemarkan pada ekstrak gambir yang sesuai Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat.¹⁹ Sehingga dapat diketahui keamanan dari ketiga mutu ekstrak gambir. Selain itu dilakukan penetapan kadar senyawa aktif metil galat dalam ketiga ekstrak gambir.

METODE

Penelitian ini dilakukan secara eksperimental laboratorium dengan menggunakan desain *cross sectional*. Pengujian yang dilakukan meliputi cemarkan logam berat Pb, Cd dan As menggunakan Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES), angka lempeng total, angka kapang khamir dan aflatoksin (KCKT). Penentuan metil galat menggunakan kromatografi lapis tipis secara densitometri.

Alat dan bahan

Sampel yang diperiksa terdiri dari 3 mutu ekstrak Gambir yang diperoleh dari hasil ekstraksi daun dan ranting *Uncaria gambir* Roxb dengan air, berasal dari pengumpul ekstrak Gambir di Padang, Sumatera Barat. Bahan kimia yang digunakan adalah standar metil galat, metanol, toluen, etil asetat, asam formiat, Potato Dextrose Agar (PDA), Czapek Dox Agar (CDA), Agar 0,5% (ASA), Plate Count Agar (PCA), Pepton Dilution Fluid (PDF).

Alat yang digunakan antara lain TLC Camag *Scanner* dengan program WinCATS 4 dan Linomat IV, Kromatografi Cair kinerja Tinggi (KCKT), Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry (ICP-OES)

Prosedur kerja

Pengujian angka lempeng total

Sebanyak 5 tabung diisi atau lebih 9 ml PDF. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan contoh dipipet pengenceran 10^{-1} sebanyak 1 ml ke dalam tabung yang berisi pengencer PDF pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} . Pengenceran dilanjutkan hingga konsentrasi 10^{-6} atau sesuai yang dibutuhkan. Dari setiap pengenceran dipipet 1 ml ke dalam cawan petri, dan perlakuan dibuat duplo. Ke dalam tiap cawan petri dituangkan 15-20 ml media PCA ($45 \pm 1^\circ$). Cawan petri segera digoyang dan diputar sedemikian rupa agar tersebar merata. Proses ini dibuat duplo. Setelah media memadat, cawan petri diinkubasi pada suhu $35-37^\circ\text{C}$ selama 24-48 jam dengan posisi terbalik. Jumlah koloni yang tumbuh diamati dan dihitung.

Pengujian angka kapang khamir

Tiga buah tabung diisi 9 ml ASA. Dari hasil homogenisasi pada penyiapan contoh dipipet 1 ml pengenceran 10^{-1} ke dalam tabung ASA pertama hingga diperoleh pengenceran 10^{-2} dan dikocok hingga homogen dan merata. Pengenceran dilanjutkan hingga konsentrasi 10^{-4} .

Dari tiap pengenceran dipipet 0,5 ml, dituangkan pada permukaan PDA, segera digoyang sambil diputar agar tersebar merata dan perlakuan dibuat duplo. Seluruh cawan petri diinkubasi pada suhu 20-25°C selama 5-7 hari. Setelah 5 hari inkubasi, dicatat jumlah koloni jamur yang tumbuh, pengamatan terakhir pada inkubasi hari ke-7.

Pengujian aflatoksin

Aflatoksin diukur menggunakan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), pada panjang gelombang 365 nm dan detektor fluoresensi.

Penetapan kadar metil galat

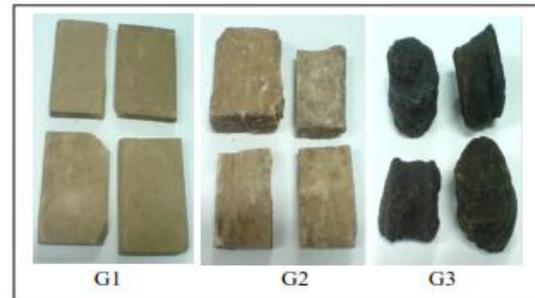
Larutan standar metil galat ditotolkan pada plat KLT menggunakan sistem Linomat IV (Camag) dengan volume penotolan 2; 3; 4; 5; 7,5; dan 10 µL. Kemudian larutan sampel ekstrak gambir ditotolkan dengan volume penotolan 5 µL. Senyawa metil galat dalam sampel ekstrak gambir dianalisa secara densitometri menggunakan TLC Camag Scanner dengan program Win CATS 4 pada panjang gelombang maksimum 282 nm.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengamatan secara organoleptik diketahui bahwa ekstrak gambir mutu 1 berupa padatan berbentuk segi empat, berwarna coklat kemerahan dengan rasa pahit. Ekstrak gambir mutu 2 memiliki warna lebih coklat dengan bentuk sedikit berbeda dari mutu 1, sedangkan ekstrak gambir mutu 3 merupakan padatan berbentuk bongkahan silinder, berwarna coklat kehitaman dengan rasa pahit.

Bentuk fisik dan penampilan ekstrak gambir mutu 1 lebih baik dengan warna yang lebih bersih dibandingkan dengan mutu 3 yang lebih kehitaman. Warna kehitaman ini dapat disebabkan karena penggunaan sisa cairan penirisan pasta gambir (kalincuang) yang diambil dari saluran penampungan cairan ekstrak gambir di bawah alat pengempa sebagai cairan perebus daun.²⁰ Selain itu, proses

pengeringan gambir juga dapat menimbulkan warna kehitaman karena mengalami oksidasi. Bentuk fisik dari ekstrak gambir mutu 1, 2, dan 3 dapat dilihat pada Gambar 1



Gambar 1. Ekstrak gambir mutu 1, mutu 2, dan mutu 3

Hasil pengujian cemaran dan penetapan kadar senyawa aktif metil galat pada ketiga mutu ekstrak gambir dirangkum dalam Tabel 1.

Badan Standardisasi Nasional (BSN) melalui SNI 01-3391-2000, mengeluarkan persyaratan untuk gambir mutu I diperbolehkan mengandung kadar air 14%, dan 16% untuk mutu II. Bahan baku harus memenuhi persyaratan mutu sebagaimana tercantum dalam Farmakope Herbal Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia mensyaratkan kadar air gambir \leq 14%. Ketiga ekstrak gambir mengandung kadar air yang memenuhi syarat. Kadar air ekstrak gambir mutu 2 dan 3 tidak sesuai dengan persyaratan yang dikeluarkan oleh Perka BPOM RI No. 12 Tahun 2014, tetapi masih memenuhi persyaratan BSN. Ekstrak gambir sebaiknya jangan terlalu lama disimpan karena akan meningkatkan kadar air. Perlu diperhatikan suhu, kelembaban dan lamanya penyimpanan karena dapat mempengaruhi jumlah mikroba yang tumbuh.

Kontaminasi oleh jamur seringkali sudah dimulai sebelum panen dan dapat meningkat ketika proses penyimpanan atau pendistribusian yang kurang baik. Ini mungkin terjadi pada ekstrak gambir mutu 3. Pada ekstrak mutu 1 dan 2 juga terdapat cemaran mikroba walaupun dalam jumlah kecil.

Tabel 1. Gambaran cemaran dan kadar metil galat pada ketiga mutu ekstrak gambir

No.	Parameter	Nilai Rata-rata Ekstrak Gambir			Persyaratan
		Mutu 1	Mutu 2	Mutu 3	
1.	Kadar air	7,68%	11,33%	12,98%	$\leq 14\%$ ^{21,22}
2.	Angka Lempeng Total	$< 1,0 \times 10^1$	$< 1,0 \times 10^1$	$4,5 \times 10^2$	10^6 ²²
3.	Angka Kapang khamir	$< 1,0 \times 10^1$	$3,3 \times 10^2$	$7,5 \times 10^6$	10^4 ²²
4.	Cemaran aflatoksin				
	· Aflatoksin B1	TTD	TTD	TTD	Kadar ²³ aflatoksin total (B1, B2, G1, G2) ≤ 20 ppb dengan syarat aflatoksin B1 ≤ 5 ppb (b)
	· Aflatoksin B2	TTD	TTD	TTD	
	· Aflatoksin G1	0,36 ppb	1,14 ppb	2,42 ppb	
	· Aflatoksin G2	3,24 ppb	TTD	47,38 ppb	
5.	Cemaran logam:				
	· Pb	TTD	TTD	TTD	≤ 10 ppm ²³
	· Cd	TTD	TTD	TTD	$\leq 0,3$ ppm ²³
	· As	TTD	TTD	TTD	≤ 5 ppm ²³
6.	Kadar Metil Galat	0,16%	0,44%	2,30%	-

Keterangan: TTD = Tidak terdeteksi

²¹ Persyaratan Badan Standardisasi Nasional SNI 01-3391-2000

²² Farmakope Herbal Indonesia

²³ Peraturan Kepala BPOM Republik Indonesia No. 12 Tahun 2014

Aflatoksin B1 ini merupakan jenis aflatoksin yang paling berbahaya. Dari pengujian terhadap ketiga ekstrak gambir tidak ditemukan cemaran aflatoksin B1 begitu pula dengan aflatoksin B2. Dari studi epidemiologi menunjukkan kontaminasi makanan dengan aflatoksin B1 merupakan faktor resiko utama terbentuknya kanker hati pada manusia, dan target organ dari aflatoksin B1 adalah hati. Keracunan aflatoksin B1 dapat mengakibatkan kematian. Penelitian oleh Bokhari FM dkk melaporkan aflatoksin B1 terdapat pada tanaman *Pimpinella anisum*, *Piper nigrum*, *Mentha piperita*, dan *Origamun majorana* dengan kadar 12-40 $\mu\text{g}/\text{kg}$.²⁴

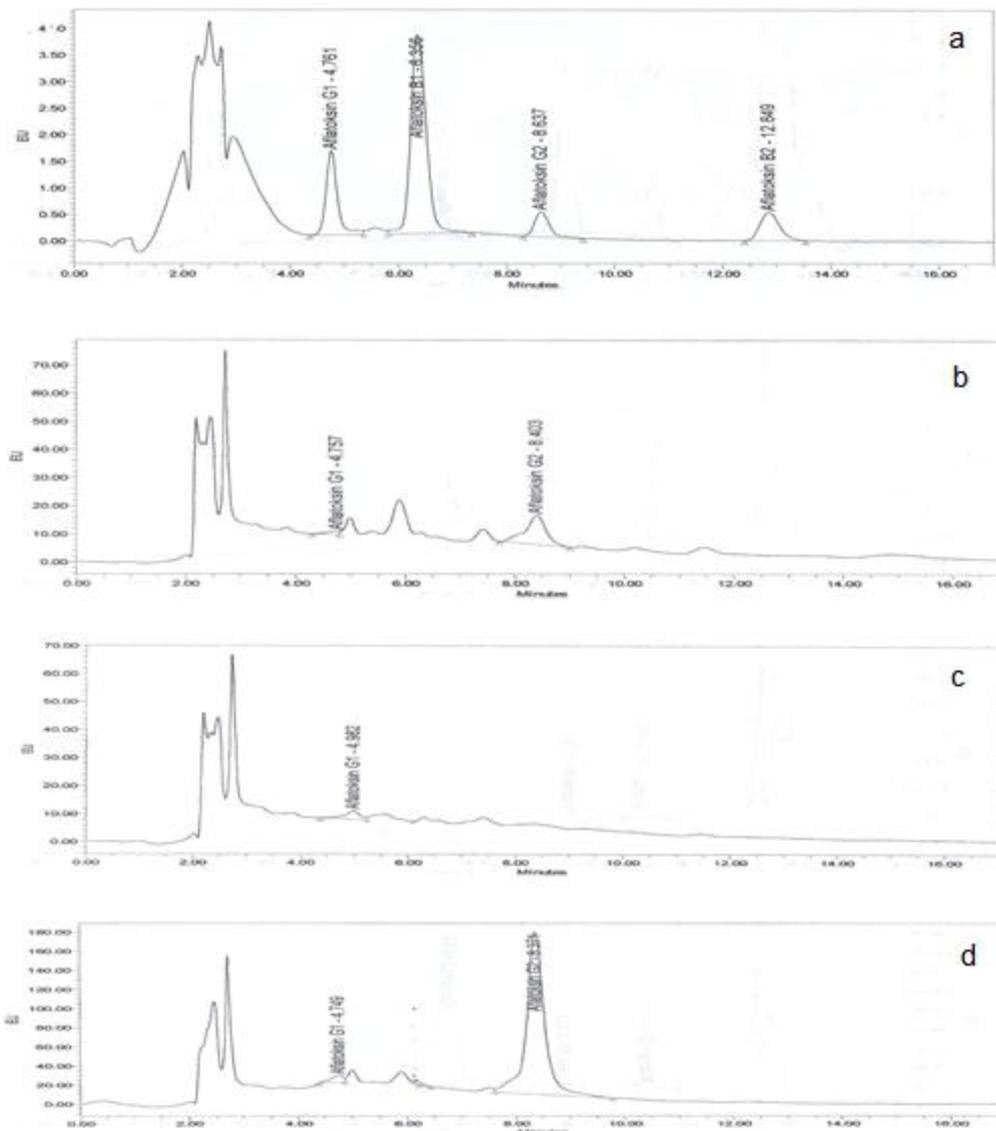
Cemaran aflatoksin G1 terdapat pada ketiga mutu ekstrak gambir, tetapi kesemuanya masih berada dibawah persyaratan. Cemaran aflatoksin G2 hanya terdapat pada ekstrak gambir mutu 1 dan 3. Kadar cemaran aflatoksin G1 dan aflatoksin G2 pada ekstrak gambir mutu 3 tertinggi dibandingkan kedua ekstrak

lainnya, dan cemaran aflatoksin G2 pada ekstrak gambir mutu 3 telah melebihi persyaratan. Ini dapat dikaitkan dengan penampilan organoleptik ekstrak gambir mutu 3 yang lebih lembab dari gambir mutu 1 dan 2. Terbukti dengan hasil kadar airnya yang tinggi akibat pengeringan yang kurang sempurna. Oleh karenanya ekstrak gambir mutu 3 mudah sekali untuk ditumbuhi mikroba *Aspergillus parasiticus*. Walaupun aflatoksin G2 relatif lebih tidak bahaya seperti aflatoksin B1 tetapi tetap harus dipantau dan dikendalikan pertumbuhannya. karena bila dibiarkan dapat terakumulasi dalam tubuh menyebabkan toksik. Perlu diperhatikan proses panen dan pasca panen seperti proses pengeringan, pembuatan ekstrak, transportasi, penyimpanan dimana iklim di Indonesia mendukung pula untuk tumbuhnya mikroba. Hal ini sangat penting karena bila faktor tersebut tidak diperhatikan akan merusak ekstrak dan berbahaya terhadap kesehatan. Untuk itu dalam menguji zat aktif dalam ekstrak

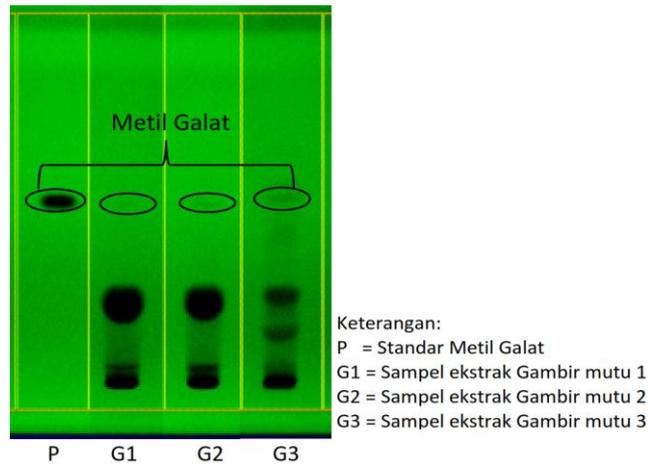
tanaman obat harus disertai dengan melakukan pengujian terhadap cemaran. Hasil penelitian yang telah dilakukan di Nigeria mendeteksi adanya aflatoksin B1, B2 dan G1 dalam obat herbal.²⁵ Hasil pengujian aflatoksin pada ketiga mutu ekstrak gambir secara KCKT dapat dilihat pada Gambar 2.

Hasil KLT ekstrak gambir dibaca menggunakan UV 254 nm, pada ekstrak gambir mutu 1 terdapat 3 bercak, ekstrak gambir mutu 2 terdapat 4 bercak, dan

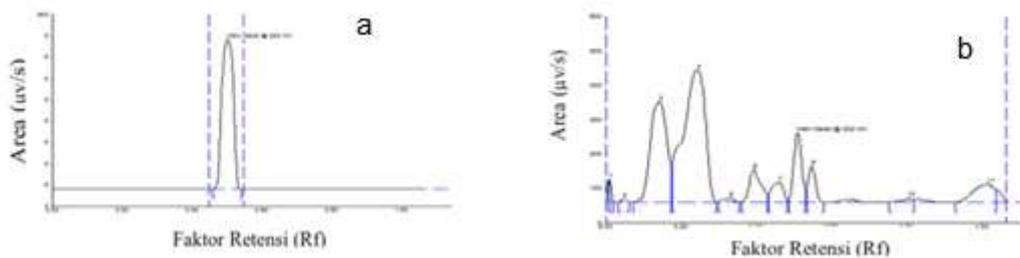
ekstrak gambir mutu 3 terdapat 7 bercak. Semua bercak yang tampak berwarna coklat kehitaman (Gambar 3). Hasil pengukuran kurva kalibrasi larutan standar metil galat diperoleh persamaan regresi $Y = 7335,5 + 2103,270 X$. Kadar metil galat dalam ekstrak gambir dihitung menggunakan persamaan regresi yang telah diperoleh dengan hasil perhitungan terdapat pada tabel 1. Hasil kromatogram standar metil galat, dan sampel ekstrak gambir terdapat pada Gambar 4.



Gambar 2. Kromatogram standar aflatoksin (a), aflatoksin pada ekstrak gambir mutu 1 (b), aflatoksin pada ekstrak gambir mutu 2 (c), aflatoksin pada ekstrak gambir mutu 3 (d)



Gambar 3. KLT standar metil galat dan sampel ekstrak gambir pada λ 254 nm



Gambar 4. Kromatogram standar metil galat (a) dan sampel ekstrak gambir (b) pada λ 282 nm

Hasil pengujian dengan KLT dilihat dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm menunjukkan sampel ekstrak gambir mutu 3 mempunyai bercak lebih banyak dibandingkan ekstrak gambir mutu 1 dan 2. Hal ini menandakan pada ekstrak gambir mutu 3 mengandung senyawa lebih banyak dibandingkan ekstrak gambir mutu 1 dan 2. Bercak tersebut bisa saja senyawa yang bermanfaat atau sebagai pengotor. Untuk mengetahui senyawa yang ada dari hasil KLT tersebut harus dengan menggunakan baku standar.

Berdasarkan hasil pencarian panjang gelombang maksimum dengan densitometer, diperoleh area maksimum metil galat adalah pada panjang gelombang 282 nm dengan nilai Rf 0,50. Selanjutnya

pengujian metil galat pada ketiga mutu ekstrak gambir dilakukan pada panjang gelombang maksimum tersebut. Kadar metil galat dihitung menggunakan persamaan regresi.

Ekstrak gambir mutu 3 mempunyai kadar metil galat yang terbesar bila dibandingkan dengan kedua mutu ekstrak gambir lainnya.

Ekstrak gambir mutu 3 merupakan kualitas yang paling rendah baik dalam proses pembuatan ekstraknya maupun dari kualitas gambirnya. Kemungkinan karena hal tersebut menjadikan keuntungan dimana senyawa metil galat yang bermanfaat tersebut tidak hilang selama proses pembuatan ekstrak, sehingga kandungan metil galat terbesar terdapat dalam ekstrak gambir mutu 3 (2,30%).

KESIMPULAN

Ekstrak gambir dengan organoleptik lembab, memiliki kadar air yang tinggi akan lebih mudah untuk ditumbuhi mikroba. Diantara ketiga mutu ekstrak gambir yang diuji ekstrak gambir mutu 3 yang paling tinggi terkontaminasi oleh kapang /khamir, aflatoksin G1 dan G2. Kadar metil galat tertinggi dimiliki oleh ekstrak gambir mutu 3 diikuti mutu 2 dan mutu 1.

SARAN

Perlunya dilakukan pencegahan tanaman terhadap kontaminasi jamur dengan melakukan pengeringan secepatnya dan melakukan penyimpanan yang sesuai. Selain itu dilakukan kolaborasi terpadu berbagai sector yang melibatkan petani, tenaga kesehatan, Kementerian Pertanian untuk meminimalkan kontaminasi

UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terima kasih disampaikan kepada Dra. Ani Isnawati, M.Kes., Apt selaku Penanggung Jawab Laboratorium Farmasi dan teman-teman yang telah memberi dukungan dalam penulisan artikel ini.

DAFTAR RUJUKAN

1. Nitha TG, Jayanthi J, Ragnathan MG. Antioxidant activity, total phenol, flavonoid, alkaloid, tannin, and saponin contents of leaf extracts of *Salvinia molesta*. Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research. 2016;9(1):200-3.
2. Taniguchi S, Kuroda K, Doi K, Yoneda Y, Tanabe M, dan Shibata T et al. Evaluation of gambir quality based on quantitative analysis of polyphenolic constituents. Yakugaku Zasshi The Pharmaceutical Society of Japan. 2007;127(8):1291-300.
3. Djanun L. Peluang Ekspor Gambir di Pasar Internasional. BPEN Depperindak Jakarta. 1998;
4. Amos A. Kandungan katekin gambir sentra produksi di Indonesia. J Stand. 2010;12(3):149–55.
5. Yunarto N, Elya B , Konadi L. Potensi fraksi etil asetat ekstrak daun gambir (*Uncaria gambir roxb.*) sebagai antihiperlipidemia. Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2015;5(1):1-10.
6. Yunarto N, Aini N. Effect of purified gambir leaves extract to prevent atherosclerosis in rats. Health Science Journal of Indonesia. 2015;6(2):105-10.
7. Pambayun R, Gardjito R, Sudarmadji M dan KK. Kandungan fenol dan sifat antibakteri dari berbagai jenis ekstrak produk gambir (*Uncaria gambir Roxb.*). Majalah Farmasi Indonesia. 2007;18(3):141–6.
8. Sulistyaningrum N, Rustanti L, Alegantina S. Uji mutagenik ames melengkapi data keamanan ekstrak gambir (*Uncaria Gambir Roxb.*) Jurnal Kefarmasian Indonesia. 2013;3(1):36-45
9. Isnawati A, Raini M, Sampurno OD, Mutiatikum D, Widowati L, Gitawati R. Karakterisasi tiga jenis ekstrak gambir (*Uncaria gambir Roxb*) dari Sumatera Barat. Buletin Penelitian Kesehatan.2012; 40(4): 201-8.
10. Angele N, Tchana, Paul F, Moundipa, and Tchouanguép FM. Aflatoxin contamination in food and body fluids in relation to malnutrition and cancer status in Cameroon. Int. J. Environ. Res. Public Health. 2010;7:178-188
11. Liu C, Zhang Y, Zhang F, Zhang S, Yin M, Ye H, et.al. Assessing pollutions of soil and plant by municipal waste dump. Environ. Geol., 2007; 52:641-51.
12. Fatoba PO, Udoh F, Emem G. Effects of some heavy metals on chlorophyll accumulation in *Barbula lambarenensis*. Ethnobotanical Leaflets. 2008;12:776-83.
13. Menteri Hukum dan Hak Asasi Manusia Republik Indonesia. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia Nomor 12 tahun 2014 tentang Persyaratan Mutu Obat Tradisional. Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia. 25 Agustus 2014
14. Rodriguez-Amaya DB, Sabino M. Mycotoxin research in Brazil: The last decade in review. Brazilian Journal of Microbiology. 2002;33:1–11.
15. Taufik M, Prasada E, Nurdin H, Ibrahim S, Dachriyanus. Antioxidant activity of methyl gallate isolated from the leaves of

- Toona sureni*. Indo.J.Chem. 2009;(3); 457-60.
16. Kamatham S, Naresh K. Isolation and characterization of gallic acid and methyl gallate from the seed coats of *Givotia rottleriformis* Griff and their anti-proliferative effect on human epidermoid carcinoma A431 cells. Toxicol Reports. 2015;2:520-9.
 17. Afsari T, Janeen H, Trembley WE, Christine E, Salomon E, Razak S, et.al. Growth inhibition and apoptosis in cancer cells induced by polyphenolic compounds of *Acacia hydaspica*: Involvement of multiple signal transduction pathways. Scientific reports. 2016;6(23077):1-12
 18. Kasture VS, Katti SA, Mahajan D, Wagh R, Mohan KS. Antioxidant and antiparkinson activity of gallic acid derivatives. Pharmacology online. 2009;1: 385-95.
 19. Departemen Kesehatan RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Direktorat Jenderal Obat dan Pengawasan Makanan. 2000
 20. Gumbira SE, Syamsu K, Mardliyati E, Herryandie A, Evalia NA, Rahayu DL, et.al 2009. Agroindustri dan Bisnis Gambir Indonesia. IPB Press, Bogor
 21. Badan Standardisasi Nasional (BSN) melalui SNI 01-3391-2000
 22. Departemen Kesehatan Indonesia. Farmakope Herbal Indonesia. Edisi I. Jakarta. 2008
 23. Peraturan Kepala Badan Pengawas Obat dan Makanan Republik Indonesia No. 12 tahun 2014. Persyaratan Obat Tradisional. Badan Pengawas Obat dan Makanan.
 24. Bokhari FM. Spices mycobiota and mycotoxins available in Saudi Arabia and their abilities to inhibit growth of some toxigenic fungi. Mycobiology. 2007;35 (2):47-53
 25. Ezekwesili-Ofili JO, Onyemelukwe NF, Agwaga P, Orji, The bioload and aflatoxin content of herbal medicines from selected states in Nigeria. Afr J Tradit Complement Altern Med. 2014;11(3):143-7.