

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SENGKUBAK  
(*Pycnarrhena cauliflora* Diels) TERHADAP TIKUS BETINA  
GALUR WISTAR DENGAN METODE OECD 425**

**NASKAH PUBLIKASI**



**Oleh :**

**RISKA WAHYU PAMUJI**

**NIM. I22111010**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS KEDOKTERAN  
UNIVERSITAS TANJUNGPURA  
PONTIANAK  
2015**

**NASKAH PUBLIKASI**

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SENGKUBAK  
(*Pycnarrhena cauliflora* Diels) TERHADAP TIKUSBETINA  
GALUR WISTAR DENGAN METODE OECD 425**

Oleh:  
**RISKA WAHYU PAMUJI**  
NIM. 122111010

Telah dipertahankan dihadapan Tim Penguji Skripsi  
Progran Studi Farmasi Fakultas Kedokteran  
Universitas Tanjungpura  
Tanggal : 30 Desember 2015

Disetujui

Pembimbing Utama,

Inarah Fajriaty, M.Si., Apt  
NIP. 198004072009122002

Pembimbing Pendamping,

Nera Umilia Purwanti, M.Sc., Apt  
NIP. 198102242008122003

Penguji I,

M. Andrie, M.Sc., Apt  
NIP. 198105082008011008

Penguji II,

Esy Nansy, M.Sc., Apt  
NIP. 198210132008122002

Mengetahui,  
Dekan Fakultas Kedokteran  
Universitas Tanjungpura

dr. Arif Wicaksono, M.Biomed  
NIP. 198310302008121002

Lulus tanggal : 30 Desember 2015  
No. SK Dekan FK : 5319/UN22.g/DT/2015  
Tanggal SK : 25 November 2015

**UJI TOKSISITAS AKUT EKSTRAK ETANOL DAUN SENGKUBAK  
(*Pycnarrhena cauliflora* Diels) TERHADAP TIKUS BETINA GALUR WISTAR  
DENGAN METODE OECD 425**

Riska Wahyu Pamuji<sup>1</sup>, Inarah Fajriaty<sup>1</sup>, Nera Umilia Purwanti<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Program Studi Farmasi, Fakultas Kedokteran, Universitas Tanjungpura  
Pontianak

**Abstrak:** Tanaman sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels) secara empiris banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat sakit kepala. Selain itu, daun sengkubak juga digunakan sebagai penyedap rasa pada makanan oleh masyarakat suku Dayak dan Melayu. Tujuan penelitian ini adalah untuk menentukan toksisitas akut dari ekstrak etanol daun sengkubak sehingga dapat dijadikan acuan untuk penggunaan terapi yang aman. Ekstrak etanol daun sengkubak diperoleh dari ekstraksi dengan cara maserasi menggunakan pelarut etanol 96%. Uji toksisitas akut dilakukan dengan metode yang diadopsi dari OECD (*Organization for economic co-operation and development*) 425: Acute Oral Toxicity (*Up and Down Procedure*). Hasil penapisan fitokimia dengan uji tabung menyatakan bahwa ekstrak etanol daun sengkubak mengandung alkaloid, flavonoid, steroid, fenol dan tanin. Hasil pengujian *Limit test* 2000 mg/kgbb dan 5000 mg/kgbb menunjukkan tidak terdapat kematian. Kesimpulan dari penelitian ini adalah ekstrak etanol daun sengkubak berada dalam kategori relatif tidak toksik.

**Kata Kunci:** OECD 425, sengkubak, toksisitas akut

**Abstract:** Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels) empirically has been used by the community as medicine for headache. Besides that, sengkubak leaves were also used as flavor in foods by the Dayaks and the Malays communities. The purpose of this research was to determine the acute toxicity of the ethanol extract of the leaves sengkubak so that it can be used as reference for safe therapy. Ethanol extract of Sengkubak leaf was obtained from extraction by maceration using ethanol 96%. The acute toxicity tests conducted with adopted methods from the OECD (*Organization for economic co-operation and development*) 425: Acute Oral Toxicity (*Up and Down Procedure*). The phytochemical screening results with tubes test stated that ethanol extract of sengkubak leaves contain alkaloids, flavonoids, steroid, phenol and tannin. The test results by *Limit test* 2000 mg/kg.bw and 5000 mg/kg.bw shows there

is no deaths. Conclusion of this research is ethanol extract of sengkubak leaves are in the category of relatively non-toxic.

**Keywords:** OECD 425, sengkubak, the acute toxicity

## **Pendahuluan**

Indonesia dikenal sebagai salah satu negara yang mempunyai keanekaragaman hayati berupa tumbuhan yang banyak digunakan sebagai obat tradisional, tetapi penelitian untuk mengevaluasi tingkat keamanannya belum banyak dilakukan. WHO (*World Health Organisation*) menetapkan standar mutu dari obat tradisional harus memenuhi beberapa persyaratan meliputi kualitas, keamanan, dan khasiat<sup>(1)</sup>.

Uji toksisitas oral akut merupakan salah satu uji praklinik yang bertujuan untuk melihat efek toksik yang terjadi dalam waktu singkat, melalui pemberian tunggal per oral ataupun dengan dosis berulang dalam waktu 24 jam<sup>(2)</sup>. Data kematian hewan coba yang dinyatakan dengan Dosis Letal 50 (LD<sub>50</sub>) merupakan parameter pada uji toksisitas akut<sup>(3)</sup>.

Tanaman sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels) secara empiris tanaman banyak dimanfaatkan oleh masyarakat sebagai obat sakit kepala<sup>(4)</sup>. Selain itu, daun sengkubak juga digunakan sebagai penyedap rasa pada makanan oleh masyarakat suku Dayak dan Melayu<sup>(5)</sup>.

Penelitian sebelumnya menunjukkan kandungan senyawa yang terkandung pada tanaman ini positif mengandung alkaloid dan tanin. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak metanol daun sengkubak memiliki aktivitas antioksidan kuat dengan nilai IC<sub>50</sub> 608,81 ppm (IC<sub>50</sub> < 1000 ppm) dan berpotensi sebagai antikanker dengan nilai LC<sub>50</sub> 248,75 ppm (LC<sub>50</sub> < 1000 ppm)<sup>(6)</sup>.

Dalam penggunaannya sebagai obat herbal, perlu diketahui keamanannya agar tidak menimbulkan efek berbahaya yang tidak diinginkan. Namun, saat ini belum ada data yang mendukung informasi keamanan mengenai tanaman daun sengkubak. Oleh sebab itu perlu dilakukan pengujian lebih lanjut pada hewan uji untuk melihat ada tidaknya efek toksik untuk menjamin keamanan penggunaannya. Hasil dari penelitian yang dilakukan diharapkan dapat memberikan informasi terkait LD<sub>50</sub> dan penggunaan dosis yang tepat saat membuat sediaan yang berasal dari ekstrak etanol daun sengkubak serta dapat mengenali tanda-tanda toksik yang terjadi.

## **METODOLOGI**

### **Alat dan Bahan**

Alat-alat yang digunakan yaitu ayakan 40 *mesh*, bejana maserasi, blender simplisia, cawan uap, corong pisah, desikator, gunting, penjepit tabung, pipet tetes, pisau bedah, *chamber*, *rotary evaporator*, sonde oral, tabung reaksi dan timbangan analitik.

Bahan-bahan yang digunakan adalah *CMC-Na*, simplisia daun sengkubak, pelarut ekstraksi yaitu etanol 96%, reagen skrining fitokimia (wagner dan dragendorff untuk alkaloid, HCl dan Mg untuk flavonoid, lieberman-burchard untuk triterpenoid atau steroid, FeCl<sub>3</sub> untuk fenol dan NaCl 10% dan gelatin untuk tannin) , plat KLT, etil asetat, toluen, pakan tikus dan akuades .

### **Hewan uji**

Hewan yang digunakan yaitu tikus betina galur wistar, jenis kelamin betina, berat badan 150-200 gram, umur 8-12 minggu, tidak sakit dan tidak ada kelainan anatomi yang tampak.

### **Pengambilan dan Pengolahan Sampel**

Daun sengkubak diambil dari Kecamatan Meliau, Kabupaten Sanggau, Kalimantan Barat. Daun sengkubak yang diambil berwarna hijau tua, tidak berwarna kuning, tidak rusak, dan diambil pada pagi hari.

Daun sengkubak yang telah dikumpulkan, dibersihkan dari kotoran dengan dicuci menggunakan air bersih yang mengalir dan ditiriskan. Kemudian dikeringkan dengan cara diangin-anginkan ditempat terbuka dan terlindung dari sinar matahari langsung sampai kering, kemudian simplisia kering dihaluskan dengan mesin penggiling kemudian diayak dengan ayakan no.40 *mesh* dan disimpan dalam wadah kering untuk menghindari kerusakan dan pengotor.

### **Pembuatan Ekstrak**

Simplisia daun sengkubak kering sebanyak 1 kg dimaserasi dengan sejumlah pelarut etanol 96% sampai terendam dan di biarkan selama 24 jam, kemudian disaring. Filtrat yang didapat kemudian ditampung dan sisa penyaringan direndam kembali dengan pelarut yang baru. Proses dilakukan sampai warna filtrat menjadi bening. Ekstrak etanol tersebut dipekatan menggunakan alat *evaporator* hingga diperoleh ekstrak kental ekstrak etanol daun sengkubak.

### **Skrining Fitokimia**

Uji fitokimia dilakukan untuk menentukan komponen bioaktif yang terdapat pada ekstrak etanol daun sengkubak. Uji fitokimia yang dilakukan terdiri dari uji alkaloid, flavonoid, saponin, steroid dan triterpenoid, fenol, dan tanin.

**Pemeriksaan Pola kromatogram Secara Kromatografi Lapis Tipis** KLT dilakukan untuk mempertegas hasil dari skrining tabung. KLT dilakukan menggunakan eluen yang terdiri dari campuran etil asetat : toluen (5:3) dan penampak bercak H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%

### **Uji Parameter Non Spesifik**

#### **Penetapan Susut Pengerinan**

Ekstrak sebanyak 5 gram dimasukkan ke dalam krusibel, dikeringkan pada suhu 105°C selama 30 menit hingga bobot tetap. Krusibel dikeluarkan dari oven dan dimasukkan ke dalam desikator hingga mencapai suhu ruang. Kemudian dilakukan penimbangan pada suhu ruang<sup>(7)</sup>.

#### **Penentuan Bobot Jenis**

Digunakan piknometer bersih, kering dan telah dikalibrasi dengan menetapkan bobot piknometer pada suhu 25°C dan bobot air yang baru dididihkan. Atur hingga suhu ekstrak cair lebih kurang 20°C, kemudian masukkan ke dalam piknometer. Atur suhu piknometer yang telah diisi hingga suhu 25°C, buang kelebihan ekstrak cair dan ditimbang. Kurangkan bobot piknometer kosong dari bobot piknometer yang telah diisi. Bobot jenis ekstrak cair adalah hasil yang diperoleh dengan membagi bobot ekstrak dengan bobot air, dalam piknometer pada suhu 25°C.

### **Uji Parameter Spesifik**

#### **Parameter Organoleptik**

Pemeriksaan organoleptik dilakukan dengan mendeskripsikan bentuk, warna, bau dan rasa dari serbuk kering<sup>(1)</sup>.

#### **Penetapan Kadar Sari Larut Etanol**

Sebanyak 5 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dalam 100 mL etanol 95% sambil dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring. Filtrat diuapkan sampai kering dalam krusibel yang telah dipanaskan dan ditara. Kemudian dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap<sup>(7)</sup>.

### **Penetapan Kadar Sari Larut Air**

Sebanyak 5 gram ekstrak dimaserasi selama 24 jam dalam 100 mL air-kloroform (2,5 ml kloroform dalam akuades 100 mL) sambil dikocok selama 6 jam pertama, kemudian dibiarkan selama 18 jam dan disaring. Filtrat diuapkan sampai kering dalam krusibel yang telah dipanaskan dan ditara. Kemudian dipanaskan pada suhu 105°C sampai bobot tetap<sup>(7)</sup>.

### **Pembuatan dan Pemberian Sediaan Uji**

Sediaan uji diberikan dalam bentuk ekstrak etanol daun sengkubak yang telah disuspensikan. *Suspending agent* yang digunakan yaitu CMC-Na 1% .

### **Uji Toksisitas Akut**

Uji toksisitas akut dilakukan berdasarkan pedoman OECD 425 : *Acute Oral Toxicity Up and Down Procedure*.

#### **a. Main Test**

Uji utama (*main test*) dilakukan dengan memperhatikan tingkat dosis dimana terjadi kematian pada uji pendahuluan. Satu hewan uji diberi dosis. Apabila setelah pengamatan 4 jam hewan tersebut tidak menunjukkan mortalitas, maka dosis untuk hewan berikutnya meningkat dengan faktor kenaikan 3,2 kali dosis awal. Jika mati, dosis untuk hewan berikutnya menurun perkembangan dosis yang sama. Dosis yang sama pada satu hewan uji lagi. Setiap hewan harus diamati dengan hati-hati hingga 48 jam sebelum membuat keputusan berapa banyak dosis hewan yang digunakan selanjutnya. Apabila hewan uji diberikan dosis dan tidak ada mortalitas, pemberian dosis dihentikan dan semua hewan uji diamati selama 14 hari.

#### **b. Limit Test**

*Limit test* 5000 bertujuan untuk melihat apakah LD50 sampel berada pada rentang 2000 – 5000 mg/kgbb atau berada pada rentang diatas 5000 mg/kgbb. Prosedur pengujian yang dilakukan sama dengan *limit test* 2000. Hanya saja pada *limit test* 5000 apabila terdapat tiga hewan uji tidak menunjukkan mortalitas, maka pemberian dosis dihentikan dan LD50 berada diatas 5000 mg/kgbb. Apabila terdapat tiga hewan uji menunjukkan mortalitas, maka dilakukan *main test* dengan dosis tertinggi 5000 mg/kgbb.

### **Pengamatan Hewan Uji**

Sebelum hewan uji diberikan dosis ekstrak etanol daun sengkubak, terlebih dahulu dilakukan uji perilaku pada hewan uji untuk melihat perbandingan perubahan perilaku yang muncul antara sebelum dan sesudah pemberian dosis. Uji perilaku yang

diamati berupa *platform*, *straub*, *piloereksi*, *ptiosis*, *refleks kornea*, *refleks pineal*, *lakrimasi*, *katalepsi*, sikap tubuh, menggelayut, *retablismen*, *fleksi*, *hafner*, *mortalitas*, *grooming*, *defekasi*, *urinasi*, pernafasan, *salivasi*, *vokalisasi*, *tremor*, kejang dan *writhing*. Setelah diberikan dosis uji, dilakukan pengamatan terhadap hewan uji mulai dari jam ke 0', 0,5', 1, 2 dan 24 jam. Apabila hewan tidak menunjukkan mortalitas, maka pengamatan dilakukan selama 14 hari. Perhatian khusus diberikan apabila terdapat tremor, kejang, salivasi, diare, lemah, tidur dan koma<sup>(10)</sup>.

### **Analisa data**

Data yang diperoleh berupa data kuantitatif dan kualitatif. Data kualitatif berupa data berat badan, uji perilaku, aktifitas psikomotor dan makropatologi. Aktifitas psikomotor berupa kejang, salivasi, diare, lemah, tidur dan koma. Sedangkan makropatologi dilakukan dengan mengamati organ hati, ginjal, jantung, paru-paru dan limpa. Data kuantitatif berupa jumlah hewan yang mati (dianalisis menggunakan software AOT425 untuk memperoleh nilai LD<sub>50</sub>).

## **HASIL**

### **Hasil Pengolahan Sampel dan Ekstraksi**

Hasil serbuk simplisia yang diperoleh berjumlah 332,85 gram daun. Rendemen ekstrak yang diperoleh adalah 9,17 % Ekstrak kental yang dihasilkan berwarna coklat kehitaman

### **Skrining Fitokimia**

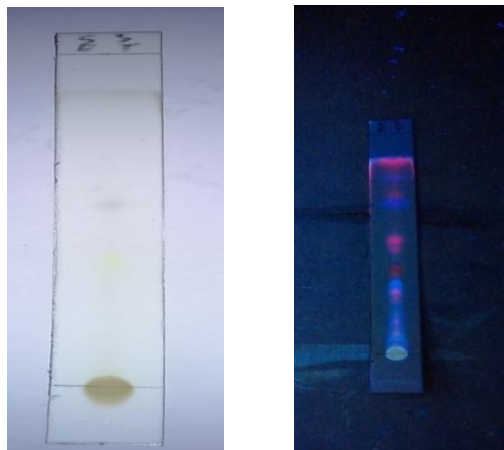
ekstrak etanol daun sengkubak mengandung senyawa alkaloid, flavonoid, steroid, fenolik dan tanin.



**Tabel 1. Hasil Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Sengkubak**

Pengujian	Hasil
Alkaloid (reagen wagner dan dragendroff)	Positif (+)
Flavanoid (HCl dan Mg)	Positif (+)
Saponin	Negatif (-)
Triterpenoid/Steroid (Anhidrida asetat dan asam sulfat pekat)	Positif (+)
Fenol (akuades panas + FeCl <sub>3</sub> )	Positif (+)
Tanin (Gelatin)	Positif (+)

**Hasil Pemeriksaan Pola Kromatogram Secara Kromatografi Lapis Tipis**



**Gambar 1.** Penampakan noda dibawah sinar UV 366 nm dengan *silica gel* F254 terhadap ekstrak etanol daun sengkubak dengan menggunakan fase gerak etil asetat : toluen perbandingan 5 : 3 dan penampak bercak H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 10%

## Hasil Pengujian Parameter Non Spesifik

### Hasil Susut Pengerinan

Susut pengerinan yang dilakukan pada ekstrak etanol daun sengkubak diperoleh sebesar 20,0067%. Ekstrak dengan presentase kandungan air dan pelarut dalam ekstrak yang mencapai 5-30% masuk dalam golongan ekstrak kental<sup>(8)</sup>

### Hasil Penentuan Bobot Jenis

Hasil bobot jenis diperoleh sebesar 0,8951 gram/mL.

## Hasil Pengujian Parameter Spesifik

**Tabel 2. Hasil Pemeriksaan Organoleptik**

Serbuk kering daun sengkubak	Pemeriksaan Organoleptis
Warna	Hijau kecoklatan
Bentuk	Serbuk kering
Bau	Khas
Rasa	Pahit

## Hasil Penetapan Kadar Sari Larut Etanol dan Kadar Sari Larut Air

Dari hasil penelitian didapatkan hasil presentase kadar sari larut etanol sebesar 49,53 % dan kadar sari larut air sebesar 21,86%.

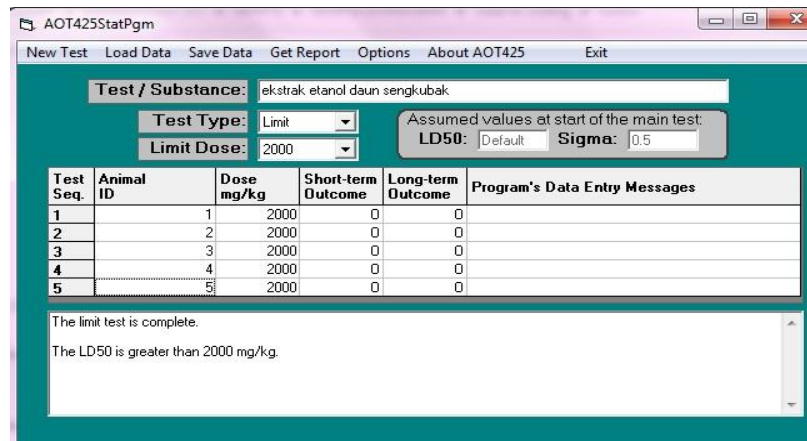
## Pembuatan dan Pemberian Sediaan Uji

Sediaan uji dibuat dalam bentuk suspensi. *Suspending agent* yang digunakan yaitu *CMC-Na* 1%. Ekstrak disuspensikan dengan *CMC-Na* 1% karena ekstrak tidak larut sempurna dalam air. *CMC-Na* merupakan senyawa yang tidak toksik dan tidak menimbulkan iritan, sehingga dapat dikatakan bahwa zat pembawa tidak berpengaruh pada uji toksisitas ini<sup>(9)</sup>.

Pemberian sediaan uji dilakukan secara oral dengan menggunakan sonde oral. Pemilihan rute oral karena secara empiris biasanya masyarakat mencampurkannya kedalam makanan saat mengkonsumsi daun sengkubak.

## Uji Toksisitas Akut

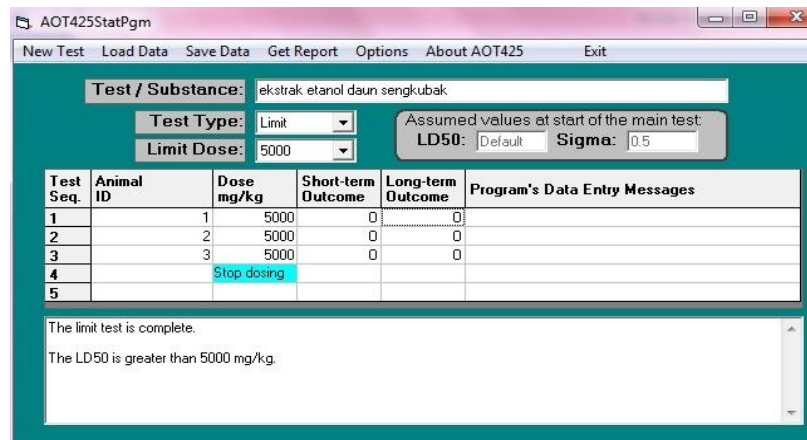
**Limit test 2000** Hasil pengujian terhadap 5 ekor tikus menunjukkan hingga pengamatan 14 hari tidak ada hewan uji yang menunjukkan mortalitas sehingga disimpulkan bahwa nilai LD50 adalah lebih besar dari 2000 mg/kg bb tikus.



**Gambar 2.** Hasil pengujian Limit Test 2000 mg/kgbb tikus ekstrak etanol daun sengkubak

Hasil pengamatan perilaku tikus menunjukkan pada dosis 2000 mg/kgbb terjadi penurunan jengukan pada jam 0,5' dan jam ke 1. Namun pada jam ke 2 dan 24 jumlah jengukan kembali meningkat. Aktivitas motorik pada tikus menunjukkan aktivitas 5 hewan normal pada jam ke 0, 2 hewan turun pada jam ke 0,5', dan 5 hewan kembali normal pada jam ke 1, 2 dan 24. Tidak terdapat hewan uji yang mengalami straub, tidak adanya aktivitas piloereksi pada hewan uji, hewan uji tidak menunjukkan adanya efek ptiosis, semua hewan uji memberikan refleks kornea dan pineal, hewan uji mampu menggelayut dan membalikkan badannya dengan cepat, pada uji hafner 1 ekor tikus tidak memberikan respon kesakitan pada jam ke 0,5' dan semua hewan uji mengalami urinasi dan defekasi

**Limit test 5000** Hasil pengujian dengan dosis 5000 mg/kgbb pada 3 ekor tikus juga tidak menunjukkan mortalitas hingga hari ke 14. Dari data mortalitas tersebut disimpulkan bahwa nilai LD50 ekstrak etanol daun sengkubak adalah lebih besar dari 5000 mg/kgbb.



**Gambar 3.** Hasil pengujian Limit Test 5000 mg/kgbb tikus ekstrak etanol daun sengkubak

Hasil pengamatan perilaku tikus pada dosis 5000 mg/kgbb menunjukkan terjadi penurunan jengukan pada jam 0,5' dan jam ke 1. Namun pada jam ke 2 dan 24 jumlah jengukan kembali meningkat. Pengamatan aktivitas motorik menunjukkan 3 hewan normal pada jam ke 0, 1 hewan turun pada jam ke 0,5, 2 hewan normal pada jam ke 1, dan 3 hewan normal pada jam ke 2 dan 24, terdapat 1 ekor hewan uji pada jam ke 1 mengalami straub, hewan uji tidak menunjukkan aktivitas piloereksi, terdapat 1 ekor hewan uji mengalami ptiosis pada jam ke 2, semua hewan uji memberikan refleks kornea dan pineal, hewan uji mampu menggelantung dan membalikkan badannya dengan cepat, 2 hewan uji pada jam ke 0,5 dan 1 hewan uji pada jam ke 2 tidak memberikan respon kesakitan pada uji hafner dan semua hewan uji mengalami urinasi dan defekasi.

Pengamatan dilanjutkan selama 14 hari untuk melihat adanya kematian dan terjadinya perubahan bobot badan pada tikus. Kelompok dosis 2000mg/kgbb menunjukkan tidak adanya kematian yang terjadi pada hari keempat belas dan bobot badan menunjukkan tidak terdapat perubahan drastis terhadap pertumbuhan atau perkembangan bobot badan tikus. Hal yang sama terjadi pada kelompok dosis 5000mg/kgbb. Pada hari keempat belas tidak menunjukan adanya kematian yang terjadi. Berdasarkan hal tersebut, maka disimpulkan ekstrak etanol daun sengkubak masuk dalam klasifikasi toksisitas ringan.

Pengamatan dilanjutkan pada hari kelima belas dan dilakukan pembedahan terhadap hewan uji untuk melihat indeks organ tikus yang telah diberi sediaan secara oral. Hal ini dilakukan untuk mengamati perubahan yang terjadi pada organ jantung,

paru-paru, limpa, hati, dan ginjal secara makroskopik akibat pemberian ekstrak etanol daun sengkubak.

Hasil pengamatan indeks organ jantung, paru-paru, limpa, hati, dan ginjal menunjukkan bahwa tidak terjadinya pembesaran organ yang berarti pada tiap tikus yang berada pada kelompok dosis 2000mg/kgbb dan 5000mg/kgbb.

### **Kesimpulan**

1. Ekstrak etanol daun sengkubak termasuk kedalam kategori relarif tidak toksik dengan LD50 lebih besar dari 5000 mg/kgbb
2. Ekstrak etanol daun sengkubak tidak menimbulkan kematian pada hewan uji dan tidak memberikan pengaruh terhadap parameter toksisitas akut.

### **Daftar Pustaka**

1. Depkes RI. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. Jakarta: Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan; 2000.
2. WHO Publications. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Geneva: 2004.
3. Dipasquale, LC & Hayes, AW. Acute Toxicity and Eye Irritancy. dalam: Wallace Hayes, Taylor & Francis, penyunting. Principles and Methods of Toxicology. Edisi ke-4 Philadelphia: Lippincot Williams and Wilkins; 2001; 853-75.
4. Hidayat, S. Konservasi *Ex Situ* Tumbuhan Obat di Kebun Raya Bogor, (Thesis). Institut Pertanian Bogor; 2011.
5. Muchtadi, D., S.R Palupi dan M. Astawan. Enzim Dalam industry Pangan. PAU Pangan dan Gizi IPB. Bogor; 1992.
6. Purba Dohot M, Wibowo M.A, Ardiningsih Puji. Aktivitas Antioksidan Dan Sitotoksik Ekstrak Metanol Daun Sengkubak (*Pycnarrhena cauliflora* Diels). 2014;3(1): 63-68.
7. Depkes RI. Material medika, jilid VI. Jakarta: Direktorat Jendral POM- Depkes RI; 1995
8. Voigt R. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press;1995.p.564
9. Voight, R. Buku Pelajaran Teknologi Farmasi. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press; 1971.
10. Depkes RI. Pusat Riset Obat dan Makanan. Jakarta: Direktorat Jendral Badan POM RI; 2009