
UJI EFEKTIVITAS INFUS DAUN PANDAN WANGI *Pandanus amaryllifolius* R. TERHADAP KADAR KOLESTEROL DALAM DARAH PADA TIKUS PUTIH *Rattus novergicus*

Astrindo Maatiri^{1*}, Joke L. Tombuku², Jeane Mongi¹, Vlagia I. Paat¹

¹Program Studi Farmasi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

²Program Studi Biologi, Fakultas MIPA, Universitas Kristen Indonesia Tomohon

*Penulis Korespondensi; astrindomaatiri@gmail.com

Diterima : 25 Juli 2020; Disetujui: 25 Oktober 2020

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan Untuk menguji efektivitas infus daun Pandan wangi terhadap penurunan kadar kolesterol darah pada Tikus Putih . Metode penelitian ini menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan, masing-masing perlakuan diberi 3 ekor tikus putih jantan sebagai ulangan dengan konsentrasi yang bervariasi. Perlakuan Kontrol negatif, Kontrol positif , infus daun Pandan wangi 25%, infus daun Pandan wangi 50% dan infus daun Pandan wangi 100% .

Berdasarkan uji *One Way anova bahwa* hasil yang diperoleh menunjukkan penurunan kadar kolesterol dalam darah pada tikus signifikan dengan nilai F hitung lebih besar dari F tabel dan nilai probabilitas adalah 0,01 dibawah taraf signifikan (α) = 0,05. Berdasarkan uji tukey diperoleh bahwa konsentrasi infus 100% dan 50% memiliki efek yang sama dibandingkan dengan konsentrasi 25% memiliki efek yang berbeda dengan konsentrasi 50% dan 100%. Sehingga dapat dikatakan bahwa infus daun Pandan wangi berpengaruh dalam menurunkan kolesterol pada tikus putih.

Kata Kunci : *Pandanus amaryllifolius* R, anti kolesterol, *Rattus novergicus*

ABSTRACT

The aims of this study is to test the effectiveness of Pandan wangi leaf infusion on reducing blood cholesterol levels in white rats. This research method used a completely randomized design (RAL) consisting of 5 treatments, each treatment was given 3 male white rats as replications with varying concentrations. Treatment Negative control, positive control, infusion of fragrant Pandan leaves 25%, infusion of fragrant Pandan leaves 50% and infusion of fragrant Pandan leaves 100% .

Based on the One Way ANOVA test, the results obtained showed a significant reduction in blood cholesterol levels in mice with the calculated F value greater than the F table and the probability value is 0.01 below the significant level (α) = 0.05. Based on the Tukey test, it was found that the infusion concentration of 100% and 50% had the same effect compared to the concentration of 25% which had a different effect with the concentration of 50% and 100%. So it can be said that the infusion of fragrant Pandan leaves has an effect in lowering cholesterol in white rats.

Keywords : *Pandanus amaryllifolius* R, anti kolesterol, *Rattus novergicus*

PENDAHULUAN

Kolesterol merupakan salah satu jenis lemak yang diproduksi oleh hati dan sangat diperlukan oleh tubuh. Tetapi kolesterol berlebih akan menimbulkan masalah, terutama pada pembuluh darah jantung dan otak. Setiap orang memiliki kolesterol di dalam darahnya, di mana 50% diproduksi oleh tubuh sendiri dan 50% berasal dari makanan. Kolesterol yang diproduksi terdiri atas 2 jenis yaitu kolesterol HDL dan kolesterol LDL. Kolesterol tidak hanya menjadi komponen penting dari dinding-dinding sel, kolesterol juga penting untuk produksi hormon-hormon tertentu. Bagi kebanyakan orang antara 70 sampai 75% kolesterol dalam darah diproduksi oleh hati ; 25 sampai 30% lainnya berasal dari makanan yang mereka makan [1]. *World health organization* (WHO) melaporkan bahwa kolesterol darah yang tinggi menjadi kontribusi untuk sekitar 56% penyakit kardiovaskular diseluruh dunia dan penyebab kematian sekitar 4,4 juta setiap tahun [2].

Kolesterol merupakan suatu lemak atau lipid golongan sterol yang diproduksi oleh tubuh. Dalam kadar tertentu kolesterol diperlukan oleh tubuh untuk pembentukan komponen-komponen penting dalam tubuh. Kadar kolesterol normal dalam darah berkisar 160-200 mg/dL. Berbeda dengan fungsinya pada saat kadar kolesterol normal, semakin tinggi kadar kolesterol dalam darah, semakin besar pula resiko terjadinya aterosklerosis. Aterosklerosis adalah penebalan dan pengerasan dinding arteri yang disebabkan oleh penumpukan kolesterol [3]. Aterosklerosis merupakan langkah awal pemicu timbulnya penyakit jantung. Menurunkan kadar kolesterol darah merupakan salah satu langkah perawatan kesehatan yang mencegah dari penyakit jantung [4]. Penurunan kadar kolesterol

dapat dilakukan dengan obat-obatan hipolipidemia. Namun, harga obat-obatan hipolipidemia yang mahal, menyebabkan tidak semua orang dapat menjangkaunya.

Daun Pandan wangi memiliki multi khasiat. Tanaman yang diidentifikasi William Roxburgh itu juga memperlancar peredaran darah, melarutkan asam urat dan asam lemak jenuh, dan sebagai antioksidan. Terdapat hubungan antara antioksidan dan tekanan darah tinggi. Antioksidan berperan menurunkan kadar kolesterol dan asam lemak jenuh penyebab hipertensi. [5] Berdasarkan pengalaman empiris, salah satu dari sekian banyak tanaman obat yang dapat digunakan sebagai obat tradisional adalah daun Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* R.). Tanaman ini telah digunakan sebagian masyarakat yang berada di daerah Talud sebagai obat kolesterol. Bagian yang digunakan adalah daun. Cara penggunaannya yaitu dengan mengambil daun Pandan wangi kemudian daunnya direbus hingga mendidih lalu di minum airnya 2 kali sehari. Daun Pandan sangat baik atau sangat banyak manfaatnya di bidang kesehatan. Salah satu contoh penyakit yang dapat disembuhkan adalah kolesterol [6]. Tetapi sejauh ini bukti ilmiah bahwa daun Pandan wangi mempunyai efek sebagai obat kolesterol belum banyak diketahui. Oleh karena itu perlu dilakukan uji melalui penelitian untuk membuktikan daun Pandan wangi yang berkhasiat terhadap penurunan kadar kolesterol.

METODE PENELITIAN

Tempat Dan Waktu Penelitian

Penelitian ini akan dilaksanakan di Laboratorium Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Kristen Indonesia Tomohon selama Maret sampai Juni 2016.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan dengan menggunakan metode eksperimen laboratorium menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 5 perlakuan, masing-masing perlakuan diberi 3 ekor tikus putih jantan sebagai ulangan dengan konsentrasi yang bervariasi. Perlakuan Kontrol negatif, Kontrol positif, Infus daun Pandan wangi konsentrasi 25%, konsentrasi 50% dan 100%. Variabel yang diamati adalah kadar kolesterol tikus putih.

Alat dan Bahan

Alat ukur dan stik kolesterol (Autocheck), Dispo 3cc, NGT 3.5, Gelas ukur, Batang pengaduk, Kurungan tikus, Beker gelas, Hot plate, Sarung tangan, Timbangan analitik, Kain flanel, Termometer air raksa.

Aquades, daun Pandan wangi, Tikus putih jantan, Makanan Tinggi Kolesterol, Simvastatin 10 mg, CMC, Tissue.

Variabel Penelitian

Variabel bebas: konsentrasi infus daun Pandan wangi

Variabel tetap : hewan uji (kadar kolesterol dalam darah)

Hipotesis

H0 : Pemberian dosis infus tidak berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah pada tikus putih.

H1 : Pemberian dosis infus berpengaruh terhadap kadar kolesterol dalam darah pada tikus putih.

Pengambilan dan Penyiapan Sampel

Sampel daun Pandan wangi diambil di

Kelurahan Kakaskasen III Tomohon sampel tersebut diambil dengan cara memetik daun yang sudah tua kemudian dicuci bersih dengan air yang mengalir, dan dibawa ke Laboratorium.

Penyiapan Hewan Uji

Pada penelitian ini menggunakan tikus putih jantan sebanyak 15 ekor dan dibagi menjadi 5 perlakuan. Masing-masing perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus putih. Tikus putih yang diambil adalah tikus putih dengan berat badan rata-rata 200 g.

Pembuatan Makanan Tinggi Kolesterol

Panaskan lemak babi hingga mencair, kemudian diamkan beberapa saat hingga hangat, aduk hingga homogen.

Pembuatan Larutan

Perhitungan Dosis

Volume diberikan secara oral sebanyak 3 ml yang merupakan volume yang boleh diberikan berdasarkan pada volume normal lambung tikus yaitu 5 ml. Jika volume infus melebihi volume lambung, dapat berakibat dilatasi lambung secara akut yang dapat menyebabkan robeknya saluran cerna (Ngatidjan, 2006). Takaran konversi dosis untuk manusia ke tikus dengan BB 200 g adalah 0.018 [7]. Daun Pandan wangi yang digunakan sebanyak 25 g untuk konsentrasi 25%, 50 g untuk konsentrasi 50% dan 100 g untuk konsentrasi 100% (lampiran 3).

Pembuatan Larutan Pembanding dan Volume Pemberian Suspensi CMC 0,5 %

Pembuatan Larutan CMC

Larutan suspensi CMC konsentrasi 0,5 % dibuat dengan melarutkan 0,5 g CMC dalam aquadest sampai 100 ml. Timbang 0,5 g CMC, ditaburkan merata ke dalam lumpang yang telah berisi air suling panas sebanyak 50 ml. Didiamkan selama 15 menit hingga

diperoleh massa yang transparan, digerus hingga terbentuk gel kemudian diencerkan dengan sedikit aquadest sampai garis batas [8].

Pembuatan Suspensi Simvastatin

Ditimbang sebanyak 8,4 mg serbuk Simvastatin kemudian digerus dengan penambahan suspensi CMC 0,5 % sampai homogen, dimasukkan ke dalam labu terukur 100 ml dicukupkan sampai garis tandan dengan suspensi CMC 0,5 %. Larutan Simvastatin diberikan pada tikus tergantung dari berat badan tikus.

Pembuatan Infus Daun Pandan Wangi

Cara pembuatan infus sebagai berikut :

1. Ambil daun Pandan wangi segar sebanyak 25 g dimasukkan dalam beker gelas, ditambahkan air sebanyak 100 ml, dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°C sambil sekali-kali diaduk. Serkai dengan kain flanel dan tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus sebanyak 100 ml.
2. Ambil daun Pandan wangi segar sebanyak 50 g dimasukkan dalam beker gelas, ditambahkan air sebanyak 100 ml, dipanaskan selama 15 menit pada 90°C sambil sekali-kali diaduk. Serkai dengan kain flanel dan tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus sebanyak 100 ml.
3. Ambil daun Pandan wangi sebanyak 100 g dimasukkan dalam beker gelas, ditambahkan air sebanyak 100 ml, dipanaskan selama 15 menit pada suhu 90°C sambil sekali-kali diaduk. Serkai dengan kain flanel dan tambahkan air panas secukupnya melalui ampas hingga diperoleh volume infus sebanyak 100 ml.

Tahap Kerja Dalam Penelitian

1. Tikus dibagi menjadi 5 perlakuan, tiap perlakuan terdiri dari 3 ekor tikus putih jantan. Diukur kadar kolesterol awal sebelum perlakuan.
2. Pada perlakuan kontrol negatif, kontrol positif, infus daun Pandan wangi konsentrasi 25%, 50% dan 100% diberi makanan tinggi kolesterol selama 60 hari hal tersebut bertujuan untuk meningkatkan kadar kolesterol darah pada tikus putih.
3. Semua perlakuan dilakukan pengukuran kadar kolesterol darah pada hari ke 3, 7, 15, 30, 45, 55, 60 hari setelah pemberian makanan tinggi kolesterol dan sebelumnya tikus dipuasakan selama 12 jam.
4. Pemberian infus daun Pandan wangi untuk perlakuan konsentrasi 25%, 50% dan 100%, Simvastatin untuk perlakuan Kontrol positif, dan Kontrol negatif diberi Aquadest.
5. Setelah pemberian infus, dilakukan pengambilan darah setiap 12 jam pada semua perlakuan darah diambil melalui ekor, kemudian dilakukan pengukuran kadar kolesterol pada darah tikus. Sebelumnya tikus dipuasakan selama 12 jam.

Cara Pengambilan Darah dan Pengukuran Kadar Kolesterol Darah

Tikus dipuasakan selama 12 jam sebelum dilakukan pengambilan darah. Pengambilan darah dilakukan sebelum percobaan (minggu ke -0), setelah di induksi makanan tinggi kolesterol selama 60 hari, dan setiap 12 jam setelah pemberian infus daun Pandan wangi. Pengambilan darah dilakukan dengan cara bagian ujung ekor tikus putih dibersihkan dengan alkohol 70%, kemudian dipotong kira-kira 1-2 mm [9]. Letakkan *autochek blood cholesterol tes strip* yang sudah dipasang pada alat *autochek* di dekat

darah yang keluar. Darah akan masuk dan hasil akan keluar melalui layar monitor. Hasil yang keluar merupakan kadar kolesterol normal setelah dipuaskan.

Analisis Data

Data ini dianalisis dengan *One Way Anova* menggunakan program SPSS dengan taraf signifikan (α) = 0,05, dilakukan untuk menguji apakah infus daun pandan wangi memiliki efek menurunkan kolesterol pada

tikus putih. Apabila signifikan maka pengujian dilanjutkan dengan uji Tukey untuk melihat perbedaan antar perlakuan dari setiap konsentrasi infus daun Pandan wangi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil pengukuran efektivitas infus daun Pandan wangi terhadap kolesterol dalam darah pada hewan uji, dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Hasil pengukuran rata-rata kolesterol pada hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan

| T0 | Perlakuan / ulangan | Sebelum pemberian | Setelah pemberian |
|-----------|--|-------------------|-------------------|
| 103 | 1 | 108,4 mg/dl | 102,4 mg/dl |
| 103 | Kontrol negatif 2 | 115,7 mg/dl | 103,8 mg/dl |
| 103 | 3 | 109,8 mg/dl | 108,4 mg/dl |
| \bar{x} | | 111,3 mg/dl | 104,8 mg/dl |
| 103 | 1 | 117,7 mg/dl | 106,4 mg/dl |
| 103 | Kontrol positif 2 | 114 mg/dl | 104,4 mg/dl |
| 103 | 3 | 117 mg/dl | 103,1 mg/dl |
| \bar{x} | | 116,2 mg/dl | 104,6 mg/dl |
| 103 | Infus daun Pandan wangi konsentrasi 25% 1 | 119,4 mg/dl | 106,8 mg/dl |
| 103 | 2 | 126,8 mg/dl | 107,2 mg/dl |
| 103 | 3 | 116 mg/dl | 104,2 mg/dl |
| \bar{X} | | 120,7 mg/dl | 106 mg/dl |
| 100 | Infus daun Pandan wangi konsentrasi 50% 1 | 111,1 mg/dl | 100,4 mg/dl |
| 100 | 2 | 114,2 mg/dl | 103 mg/dl |
| 100 | 3 | 116,6 mg/dl | 103,8 mg/dl |
| \bar{X} | | 113,9 mg/dl | 102,4 mg/dl |
| 100 | Infus daun Pandan wangi konsentrasi 100% 1 | 112,4 mg/dl | 101,5 mg/dl |
| 100 | 2 | 114,2 mg/dl | 101,4 mg/dl |
| 100 | 3 | 110,5 mg/dl | 102,2 mg/dl |
| \bar{X} | | 112,3 mg/dl | 101,7 mg/dl |

Keterangan :

T0 : Awal sebelum Perlakuan

\bar{X} : Rata-Rata Hewan uji 1,2,3

Dari hasil Penelitian menunjukkan bahwa terdapat variasi kadar kolesterol hewan uji sebelum dan sesudah perlakuan. Hasil Penelitian efektivitas infus daun Pandan wangi (*Pandanus amaryllifolius* R.) terhadap

hewan uji yang di induksi dengan makanan tinggi kolesterol dilakukan untuk melihat penurunan kolesterol yang dihasilkan dari pemberian infus daun Pandan wangi pada konsentrasi yang berbeda-beda. Sebelum

digunakan untuk penelitian hewan uji diaklimatisasi selama satu minggu agar dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan. Selama proses aklimatisasi, hewan uji diamati aktivitasnya maupun kondisi fisiknya setiap hari, yaitu dengan cara menimbang berat badan hewan uji dan melihat apakah ada luka atau tidak pada hewan uji. Setelah diaklimatisasi hewan uji dibagi menjadi 5 perlakuan yaitu sebagai kontrol negatif, kontrol positif, infus daun Pandan wangi konsentrasi 25%, 50% dan 100%.

Pembuatan infus merupakan cara yang paling sederhana untuk membuat sediaan herbal dari bahan lunak seperti daun dan bunga. Sediaan infus dapat diminum panas atau dingin. Sediaan infus herbal yang mengandung minyak atsiri akan berkurang khasiatnya apabila tidak menggunakan penutup pada pembuatan infus. Dalam penelitian ini menggunakan daun Pandan wangi sebanyak 25 g, 50 g dan 100 g yang dibuat dalam bentuk sediaan infus sebanyak 100 ml. Daun Pandan wangi yang digunakan yaitu daun Pandan wangi yang masih segar dibuat dengan cara merebus daun Pandan sesuai dengan konsentrasi masing-masing pada suhu 90°C selama 15 menit, dengan menggunakan hot plate dan beker gelas pada proses pembuatan infus.

Hewan uji yang digunakan adalah tikus putih sebanyak 15 ekor yang dibagi dalam 5 perlakuan, tiap perlakuan terdiri dari 3 ekor hewan uji putih sebagai ulangan. Pertama pengujian diawali dengan pengambilan darah awal sebelum di induksi makanan tinggi kolesterol tetapi sebelum pengambilan darah hewan uji dipuaskan terlebih dahulu selama 12 jam. Kemudian dilakukan lagi pengambilan darah pada hari ke-3 sebelum di induksi makanan tinggi kolesterol pada hewan uji, setelah itu hewan uji di induksi makanan tinggi kolesterol untuk meningkatkan kolesterol dalam darah selama

60 hari. Kemudian diberi perlakuan kepada masing-masing hewan uji dengan infus daun Pandan wangi berdasarkan konsentrasi yang berbeda-beda, selanjutnya dilakukan pengambilan darah setiap 12 jam sampai pada hari ketiga setelah diberikan sediaan infus yang telah dibuat. Pada pengamatan selama di induksi makanan tinggi kolesterol terjadi peningkatan kolesterol dalam darah pada hewan uji walaupun peningkatannya tidak secara merata, hal ini dikarenakan metabolisme dalam tubuh hewan uji yang berbeda-beda.

Hasil pengukuran darah awal pada semua perlakuan hewan uji yang merupakan kolesterol normal dari hewan uji sebelum di induksi makanan tinggi kolesterol diperoleh berkisar 100 mg/dL – 103 mg/dL. Setelah 60 hari di induksi makanan tinggi kolesterol diukur kembali kolesterol pada hewan uji diperoleh hasil rata-rata 108,4 mg/dL – 126,8 mg/dL. Peningkatan kolesterol dalam darah selama 60 hari setelah di induksi makanan tinggi kolesterol ini dibandingkan dengan hasil pengukuran kolesterol sebelum di induksi merupakan tanda bahwa hewan uji mengalami peningkatan kolesterol dalam darah.

Kelompok kontrol dan uji menunjukan adanya ketidakseragaman kadar kolesterol pada masing-masing hewan uji. Kadar kolesterol yang tidak seragam pada masing-masing hewan uji disebabkan faktor individual hewan uji juga mempengaruhi kadar kolesterol darah pada hewan uji. Karena dari hasil uji kolesterol menunjukan bahwa kadar kolesterol masing-masing hewan uji dalam satu kelompok berbeda-beda sehingga mempengaruhi rata-rata kolesterol semua kelompok kontrol dan kelompok uji. Tidak adanya standarisasi pemberian jumlah makanan standar pada hewan uji, sehingga tidak diketahui berapa banyak makanan yang dimakan tiap masing-masing hewan uji,

dengan demikian dapat mempengaruhi kadar kolesterol total pada masing-masing hewan uji.

Berdasarkan uji *One Way anova* hasil yang diperoleh menunjukkan penurunan kadar kolesterol dalam darah pada hewan uji signifikan. Signifikan dilihat dari nilai F hitung lebih besar dari F tabel dan nilai probabilitas adalah 0,01 dibawah taraf signifikan (α) = 0,05.

Berdasarkan uji tukey diperoleh hasil bahwa konsentrasi infus 100% dan 50% memiliki efek yang sama dibandingkan dengan konsentrasi 25% memiliki efek yang berbeda dengan konsentrasi 50% dan 100%. Secara Umum dalam daun Pandan wangi terdapat senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid ini merupakan senyawa yang erat kaitannya sebagai zat yang mempunyai kapasitas antioksidan bagi tubuh. Pemberian antioksidan dapat menurunkan tingkat pelepasan oksidasi sehingga memperlambat terjadinya penuaan dini dan komplikasi berbagai penyakit. Mekanisme kerja senyawa antioksidan dalam menurunkan kadar kolesterol total darah diduga bekerja dengan cara penghambatan terhadap HMG-CoA reduktase yang berfungsi sebagai pengkatalis dalam pembentukan kolesterol dan meningkatkan aktivitas *Lechitin Cholesterol Acyl Taransferase* (LCAT) [10]. LCAT merupakan enzim yang dapat mengkonversi kolesterol bebas menjadi ester kolesterol yang lebih hidrofobik, sehingga ester kolesterol dapat berikatan dengan partikel inti lipoprotein untuk membentuk HDL baru. Hal ini akan meningkatkan kadar HDL serum [11]. Berdasarkan hasil yang di dapat dikatakan bahwa infus daun Pandan wangi berpengaruh dalam menurunkan kolesterol pada hewan uji, dalam hal ini berarti bahwa H_0 di tolak dan H_1 di terima. Selain itu sediaan infus juga berpengaruh karena infus dapat menyari zat kandungan

aktif yang larut dalam air dari bahan-bahan nabati. Penyarian dengan cara ini menghasilkan sari yang tidak stabil dan mudah tercemar oleh kuman dan kapang. Oleh sebab itu sari yang diperoleh dengan cara ini tidak boleh disimpan lebih dari 24 jam [12].

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa infus daun Pandan wangi berpengaruh dalam menurunkan kolesterol pada hewan uji.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Santoso Urip. 2011 . Pentingnya Kolesterol Bagi Kesehatan kita. <http://www.ideafit.com/files/pdf/fitness-library/review-impact-exercise-cholesterol-levels>.
- [2] Ochani, Pooja C dan Pricilla D'mello. 2009. Antioxidant and Antihyperlipidemic Activity of Hibiscus Sabdariffa Linn. Leaves and Calyces Ekstracts in Rats. *India journal of experimental Biology*, vol.47.
- [3] Muctar, A.F. 2009. *Rahasia Hidup Sehat dan Bahagia*. BIP; Jakarta.
- [4]. Freeman, M. Junge, C. 2005. *Kolesterol Rendah Jantung Sehat*. BIP; Jakarta.
- [5] Valentina .2013. *Herbal Ahli Atasi Penyakit*. Jakarta : Penebar Swadaya.
- [6]. Dalimartha, S. 2009. Atlas Tumbuhan Obat Indonesia Jilid 1. Jakarta : Trubus Agriwidya.
- [7] Laurence.D.R, dan Bacharach, A. L. 1964. *Evaluation Of Drug Activities*

- Pharmacometrics*. Academy Press. London dan new york.
- [8]. Herra Studiawan dan Mulja Hadi Santosa. 2005. *Uji Aktivitas Penurun Kadar Glukosa Darah Ekstrak Daun Eugenia polyantha pada Mencit yang Diinduksi Aloksan*. Fakultas Farmasi , Universitas Airlangga Surabaya.
- [9]. Oruganti madhuri dan sudesh gadhani. 2011. Routine Bleeding Techniques in laboratory rodents, *internasional journal of pharmaceutical sciences and research vol 2*
- [10] Prameswar dan Simon. 2014. Uji Efek Ekstrak Air Daun Pandan Wangi. *Jurnal Pangan dan Agroindustri vol. 2*.
- [11] Aprila Fajrin, Fifteen. 2010. Aktivitas Ekstrak Etanol Ketan Hitam untuk Menurunkan Kadar Kolesterol. *Jurnal Farmasi Indonesia*. Vol. 5 No. 2.
- [12] Mayapuspita. google book. com. *Ekstraksi Dengan metode infudasi*. diakses pada tanggal 13 november 2016.