

KEMAMPUAN FRAKSI EKSTRAK AIR DAN ETIL ASETAT DAUN BENALU MINDI (*Dendrophthoe falcata* L.f Ettingsh) MELARUTKAN BATU GINJAL KALSIUM *IN VITRO* YANG DIUJI DENGAN METODE AKTIVASI NEUTRON CEPAT

CAPABILITY OF WATER AND ETHYL ACETATE FRACTIONS OF BENALU (*Dendrophthoe* L.f Ettingsh) LEAVES TO DISSOLVE CALCIUM KIDNEY STONE *IN VITRO*, DETERMINED USING FAST NEUTRON ACTIVATION METHOD

Sasmito* , Darsono**, Zainul Kamal**, Joko Kristanto*
Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada Yogyakarta
** P3TM BATAN Yogyakarta

ABSTRAK

Kasus penyakit batu ginjal merupakan penyebab kedua yang sering memicu penyakit gagal ginjal. Upaya pengobatan dapat dilakukan dengan operasi, menggunakan ultravibrasi dan obat-obatan traditional maupun modern.

Benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh) yang berasal dari inang Mindi (*Melia azedarach*) merupakan tanaman yang belum banyak dimanfaatkan, terutama untuk melarutkan batu ginjal kalsium.

Serbuk daun benalu diekstraksi menggunakan etanol 70% dan disari ulang menggunakan etil asetat. Fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu diperiksa kandungan senyawanya menggunakan kromatografi lapis tipis dengan fase diam selulosa dan fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5) . Dari data kromatogram diketahui bahwa fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi mengandung flavonoid.

Batu ginjal dianalisis menggunakan spektrofotometer infra merah untuk mengetahui komposisinya . Dari spektrogram diperoleh data bahwa batu ginjal uji mengandung unsur kalsium, magnesium, karbonat dan fosfat. Sedangkan untuk menentukan kadar kalium yang terlarut digunakan analisis pengaktifan neutron cepat (APNC) menggunakan generator neutron.

Fraksi air memiliki kemampuan melarutkan batu ginjal yang maksimal pada kadar fraksi 20%, sedangkan fraksi etil asetat pada kadar 40%. Senyawa pada fraksi air memiliki daya melarutkan batu ginjal lebih besar dibanding pada fraksi etil asetat.

Kata kunci : Batu ginjal , *Dendrophthoe falcata*, Fraksi air, Fraksi etil asetat.

ABSTRACT

Kidney stone disease is the second major causal leading to kidney failure. Treatment to the disease could be by surgery, ultravibration and either traditional or modern medicines. *Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh grow, as a parasite, on the mindi (*Melia azeradach*), a plant has yet been used to cure kidney disorder caused by calcium kidney stone.

Dendrophthoe falcata (L.f) Ettingsh leaves powder was extracted by ethanol (70%) and re-extracted by ethyl acetate. The compound content in water and ethyl acetate fractions were analyzed by thin layer chromatography (TLC) using cellulose as the stationary phase and a mixture of butanol: acetic acid: water (4:1:5) as mobile phase. The TLC data showed that water and ethyl acetate fractions contained flavonoid compounds.

Kidney stone was analyzed using Infra Red Spectrophotometer to identify its chemical contents. The result showed that the kidney stone consisted of calcium and magnesium carbonate/phosphate. The Fast Neutron Activation analysis was utilized to determine the solubility of kidney stone. The result exhibited that the maximum solubility of kidney stone was achieved in water fraction with the concentration of 20 % or in

ethyl acetate fraction with the concentration of 40 %. The solubility of kidney stone in water fraction was higher than that in ethyl acetate fraction.

Key word : Kidney stone , *Dendrophthoe falcata* , Water fraction, Ethyl acetat fraction.

PENDAHULUAN

Batu di saluran ureter dan ginjal disebutkan sebagai penyebab kedua yang sering memicu penyakit gagal ginjal. Karena tergolong membahayakan kesehatan maka diupayakan berbagai cara untuk mencegah, menghindari, dan mengatasi batu ginjal. Upaya pencegahan paling sederhana dengan mengatur jenis makanan yang dikonsumsi, banyak minum air putih dan olah raga teratur. Namun jika sudah terbentuk batu dalam ginjal maka pengobatan dilakukan dengan operasi, penyinaran dan obat, baik dengan obat modern maupun tradisional (Yusurtadi, 1997). Pengobatan batu ginjal dengan obat tradisional menjadi pilihan alternatif karena selain murah, efek sampingnyapun diharapkan lebih kecil.

Penelitian penggunaan tanaman sebagai obat umumnya berawal dari penggunaan empiris oleh masyarakat. Masyarakat mengenal benalu terbatas sebagai tanaman yang hidup liar, melekat dan parasit pada tanaman inang (Chozin dkk, 1992).

Tanaman mindi (*Melia azedarach* L.) dikenal masyarakat sebagai obat cacing, laksatif dan diuretika. Mindi mengandung toosendanin, margosida, kaemferol, flavonoid jenis flavonol (Manitto, 1992), resin, tanin, β -sitosterol, triterpen kulinon (Wijayakusuma, 1992), Benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh) merupakan salah satu jenis benalu yang hidup pada tanaman mindi, yang kemungkinan mengandung senyawa yang mirip dengan inangnya.

Penelitian tentang peluruhan batu ginjal berkalsium oleh Pramono dkk, (1993) menyimpulkan bahwa flavonoid merupakan zat aktif pada daun tempuyung (*Sonchus arvensis*) yang membentuk kompleks khelat dengan kalsium batu ginjal.

Adanya efek diuretika dan kandungan kimia pada inangnya, maka dilakukan penelitian mengenai kemampuan dari kandungan kimia daun benalu mindi yang mungkin dapat melarutkan batu ginjal berkalsium secara *in vitro*, yang kemungkinan adanya flavonoid sehingga peluruhan batu ginjal melalui mekanisme pembentukan kompleks khelat.

Penelitian tentang benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh) memang sudah ada, namun penelitian dari benalu mindi belum pernah ada dan pengembangan lebih lanjut terutama tentang tingkat keamanan pengobatan dengan benalu, khususnya yang digunakan dalam pengobatan batu ginjal belum pernah dilaporkan.

Analisis pengaktifan neutron cepat (APNC) merupakan metode analisis yang dapat digunakan untuk analisis kualitatif dan kuantitatif. Analisis kualitatif didasarkan pada energi *gamma* yang dipancarkan dan dapat digunakan untuk mengidentifikasi unsur-unsur yang terbentuk dari reaksi inti yang terjadi. Sedangkan analisis kuantitatif dilakukan dengan menentukan identitas sinar gamma. Dari kedua analisis didapatkan berbagai informasi cuplikan (Pudjorahardjo, 1994).

Sehingga melalui penelitian ini diharapkan dapat memberi nilai tambah terhadap tanaman benalu tersebut dan dapat dikembangkan pemanfaatannya sebagai obat tradisional.

Penyakit batu ginjal merupakan penyakit yang disebabkan oleh adanya sedimen urin dalam ginjal dan saluran kemih (Brown, 1989). Penyebab utama batu ginjal secara pasti belum diketahui, batu itu akan lebih sering terjadi apabila urin sangat pekat atau apabila seseorang tidak minum cukup banyak air. Keadaan ini akan sangat mendukung kemungkinan terjadinya pengendapan dari sedimen-sedimen yang terdapat dalam urin sehingga lama-kelamaan akan terbentuk suatu massa padat dan keras menyerupai batu (Pramono, dkk., 1988).

Faktor-faktor yang dapat menyebabkan terbentuknya batu ginjal yaitu : Adanya presipitasi garam-garam yang larut dalam urin; Adanya kelainan yang menyebabkan kristal-kristal berkumpul menjadi batu antara lain karena perubahan pH urin, penurunan volume urin, adanya koloid dalam urin; Adanya infeksi di ginjal oleh jenis bakteri tertentu yang dapat memacu pembentukan batu ginjal; Terlalu aktifnya kelenjar paratiroid yang dapat menyebabkan kalsium dalam urin (Brown, 1989). Batu ginjal secara visual dapat dikenali karena setiap jenis memiliki ciri-ciri yang karakteristik. Hal ini sering terlihat dari bentuk dan warnanya serta keadaan dari batu ginjal itu sendiri.

Batu asam urat berwarna coklat dengan penampang melintang terlihat lingkaran berbentuk cincin. Batu asam urat biasanya keras dan merupakan kombinasi dari bermacam-macam senyawa urat, bisa juga bercampur oksalat. Batu asam urat terbentuk pada urin asam. Batu fosfat lebih sederhana dari batu jenis lain. Batu fosfat biasanya berwarna putih, halus dan berkapur serta rapuh, keras dan permukaan terlihat kasar, sebagaimana batu asam urat, batu oksalat terbentuk pada urin bersifat asam.

Batu kalsium karbonat sangat jarang ditemukan pada manusia, tetapi sering terjadi pada herbivora. Bentuknya kecil dengan warna putih keabu-abuan, bulat serta memiliki permukaan licin dan kasar. Batu sistin yang muncul kurang dari 1% pada kasus batu ginjal, umumnya berbentuk oval silindris, kecil dan agak licin dengan warna kuning keputihan dan agak konsisten. Batu ksantin yang muncul lebih jarang dari batu sistin, mempunyai warna yang bervariasi dari putih sampai kuning kecoklatan sehingga sering mengacaukan karena hampir menyerupai batu jenis urat. Permukaan batu jenis ini biasanya agak licin. Batu ginjal jenis lain dapat berupa uro-stealith, batu fibrin, batu kolesterol. Batu-batu jenis ini sangat jarang dijumpai (Pramono dkk, 1988).

METODOLOGI

Bahan : Tanaman benalu mindi diperoleh dari desa Wonokerti, Wonogiri, batu ginjal diperoleh dari pasien di Rumah Sakit Nirmala Suri, Sukoharjo, petroleum eter, etanol 70%, etil asetat tween 80 dan aqua bidestilata.

Alat : Spektrofotometer infra merah (Hitachi 270-50), generator neutron (Sames J-25), spektrometer gamma (EG & G ORTEC).

Jalannya penelitian :

Penyiapan bahan : Batu ginjal yang diperoleh dari pasien di Rumah Sakit Nirmala Suri, Sukoharjo, digerus dalam mortir, kemudian serbuk diayak dengan ayakan 40-60 mesh sehingga diperoleh serbuk yang homogen. Daun benalu mindi yang telah dicuci bersih, dikeringkan di bawah sinar matahari dan ditutup dengan menggunakan kain hitam. Daun benalu mindi setelah kering dan rapuh kemudian dihancurkan dalam blender.

Penyiapan sampel : Serbuk kering dan benalu mindi ditimbang 30,0 gram dibungkus dalam kertas saring hingga rapat dan tidak bocor. Hasil pembungkusan dimasukkan dalam alat Soxhlet. Ekstraksi dilakukan dengan 150 ml petroleum eter volume 2 sirkulasi dengan pemanasan pada suhu 50-60°C sampai pelarut jernih. Serbuk yang telah diawalemakan dikeringkan kembali.

Hasil pengawalemakan yang telah kering diekstraksi secara maserasi dengan etanol E. Merck p.a. (mutu pereaksi) 70% selama 3 x 24 jam atau sampai jernih. Hasil maserasi disaring dengan corong buchner ekstrak dikumpulkan dan dipekatkan menggunakan *rotaevaporator* 40°C sampai alkohol habis menguap dan yang tersisa ekstrak berair saja.

Fraksinasi ekstrak sisa disari menggunakan etil asetat dalam corong pisah dan diperoleh 2 fase, yaitu fase I sari air dan fase II sari etil asetat. Sari air dipekatkan dengan penguapan pada cawan porselin, sisa penguapan ditimbang. Hasilnya ditambah tween 80% 2 ml dilarutkan dalam aqua bidestilata sampai volume 100,0 ml untuk mendapat fraksi air 100%. Sari etil asetat diperlakukan seperti sari air untuk mendapat fraksi etil asetat 100%.

Uji Kandungan Kimia dengan KLT.

Larutan fraksi air dan fraksi etil asetat sebanyak 10,0 ml dipekatkan kemudian ditambah etanol (p.a) 10,0 ml. Filtrat yang diperoleh digunakan untuk uji KLT. Larutan yang diperoleh ditotolkan pada lempeng selulosa dan dielusi dengan fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5 v/v) dengan panjang elusi 10 cm. Perbandingan yang digunakan adalah rutin 1%. Pendeteksian bercak digunakan sinar UV 366 nm, uap amoniak dan pereaksi semprot $AlCl_3$ 5%.

Analisis Kualitatif Batu Ginjal dengan Spektrofotometer IR.

Batu ginjal digerus mortir sampai halus, ditimbang 1 mg ditambah 300 mg kalium bromida dan dicampur homogen. Campuran homogen dibuat tablet dengan tekanan ± 10.000 psi selama 10 menit, sehingga diperoleh tablet yang transparan dan siap dianalisis. Spektrogram yang diperoleh dibandingkan

dengan spektrogram standar "Analyse des Calculs per Spectrophotometrie Infrarouge" (Daudon, 1978 c.f. Tresnawati, 1999).

Perendaman Batu Ginjal

Fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi diambil 0,5 ml; 1,0 ml; 2,0 ml; 3,0 ml; 4,0 ml; 5,0 ml; 7,0 ml masing-masing diencerkan dengan aqua bidestilata sampai 10,0 ml, sehingga diperoleh larutan fraksi dengan kadar 5%, 10%, 20%, 30%, 40%, 50% dan 70% v/v.

Serbuk batu ginjal ditimbang 100,0 mg, dimasukkan dalam tabung reaksi yang berisi 10,0 ml; larutan fraksi, kemudian direndam dalam penangas air pada temperatur 37°C selama 5 jam dan digojok setiap 15 menit kemudian disaring dengan kertas saring. Filtrat yang diperoleh, kalsium diaktivasi menggunakan neutron cepat.

Pembuatan standar kalsium

Larutan kalsium karbonat standar 1% b/v diambil 1,0 ml dan dimasukkan dalam labu takar 100,0 ml, ditambah HCl 5% sebanyak 2,0 ml dan diencerkan dengan aquades sampai 100,0 ml. Larutan kalsium karbonat standar dibuat pada kadar 100 mg/L.

Larutan standar, blangko dan filtrat hasil perendaman batu ginjal pada masing-masing kadar fraksi dimasukkan dalam kapsul (kuvet). Dua sampel diletakkan di depan target dan foil A1-27 kode AB diletakkan paling dekat target. Aktivasi dilakukan selama 30 menit, selama generator neutron dioperasikan, perangkat spektrometer gamma diatur sehingga saat aktivasi dihentikan sampel bisa langsung dicacah. Setelah selesai aktivasi, sampel dan foil diambil untuk dicacah dengan spektrometer gamma. Pencacahan dimulai dari foil yang terletak paling jauh dari target, dan dicatat waktu tunda (t_d), serta waktu cacah (t_c) mengingat yang terjauh memiliki fluks terkecil.

Hasil pencacahan berupa intensitas dan energi gamma kalsium di dalam fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi, larutan kalsium standar dan larutan blangko serta intensitas dan energi gamma untuk aluminium pada foil A1-27 kode AB. Hasil pengukuran kemudian dianalisis.

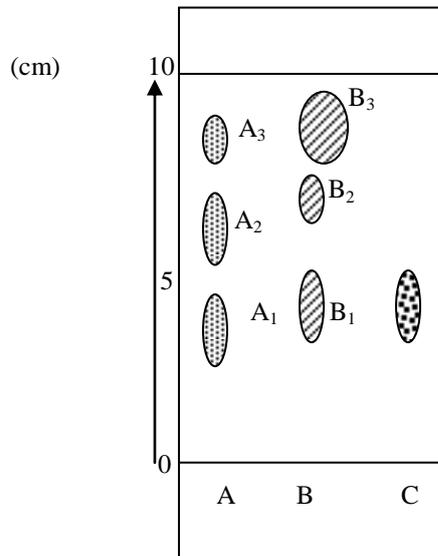
HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji kromatografi lapis tipis dalam penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya senyawa flavonoid dalam fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi. Penotolan dilakukan pada fase diam selulosa dengan fase gerak butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5 v/v), sedangkan pembandingnya digunakan larutan rutin 1%. Pengembangan dilakukan dengan jarak 10 cm, dengan kromatogram seperti Gambar 1

Bercak hasil dideteksi menggunakan sinar UV 366 nm, uap amoniak dan pereaksi semprot $AlCl_3$ 5%. Deteksi adanya senyawa flavonoid dilakukan dengan cara diuapi amonia, warna kuning yang terbentuk menunjukkan adanya flavonoid jenis flavon atau flavonol, hal ini karena uap amonia menyebabkan gugus hidroksi flavonoid terionisasi sehingga terjadi pergeseran panjang gelombang yang diserap, yang berpengaruh terhadap warna flavonoid yang terbentuk. Serta diperkuat dengan deteksi menggunakan pereaksi semprot $AlCl_3$ 5% yang memberi warna kuning juga hal ini karena logam aluminium dari pereaksi $AlCl_3$ 5% akan membentuk kompleks dengan gugus ortho-hidroksil, ortho-glikosil dan/atau gugus hidroksil. Selain itu dengan sinar UV 366 nm maka akan terbentuk warna yang khas karena adanya kromofor polisiklik yang koplanar pada flavonoid.

Tabel I. Harga Rf dan warna bercak fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi.

Sampel	Harga Rf	Warna bercak		$AlCl_3$ 5%
		UV 366 nm	NH_3 /UV 366 nm	
Fraksi air	$A_1 = 0,53$	Fluoresensi biru muda	Fluoresensi hijau biru	Kuning
	$A_2 = 0,73$	Lembayung gelap	Tetap	Kuning
	$A_3 = 0,93$	Fluoresensi jingga	Tetap	Kuning
Fraksi etil Asetat	$B_1 = 0,53$	Fluoresensi hijau biru	Tetap	Kuning
	$B_2 = 0,74$	Lembayung gelap	Tetap	Kuning
	$B_3 = 0,95$	Fluoresensi jingga	Tetap	Kuning
Rutin	$C = 0,55$	Coklat merah	Tetap	Kuning

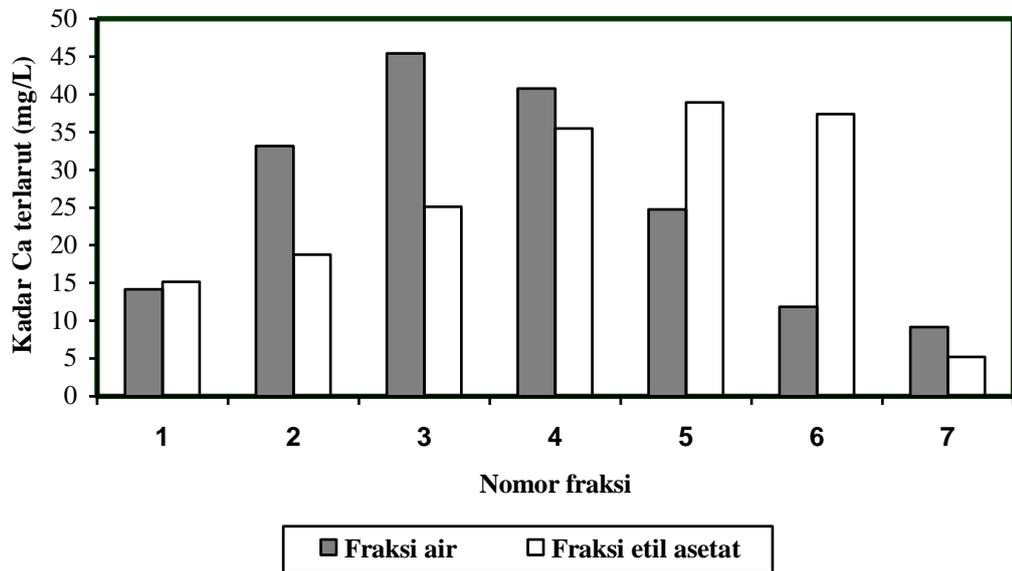


Gambar 1. Kromatogram fraksi air, kandungan kimia fraksi etil asetat daun benalu mindi dan rutin 1%
 Harga Rf : $A_1 = 0,53$; $A_2 = 0,73$; $A_3 = 0,93$ $B_1 = 0,53$; $B_2 = 0,74$; $C_3 = 0,95$
 Keterangan : A = fraksi air B = fraksi etil asetat C = rutin

Tabel II. Harga fluks, cacah kalsium terkoreksi, kadar kalsium batu ginjal terlarut dan kadar kalsium batu ginjal terlarut yang terkoreksi.

No.	Sampel	$\Phi \times 10^9$ (N/cm ² Menit)	Cacah kalsium	Waktu Tunda (menit)	Cacah kalsium Terkorelasi ($X e^{-\ln 2.t/d/1/2}$)	Kadar Kalsium (mg/L)	Kadar kalsium (mg/L)
1	Standar	8,12	2211	3,58	197,67	100	96,47
2	A 5%	2,74	116	0,55	114,02	14,12	10,59
3	A 10%	3,29	330	0,48	325,08	33,12	29,59
4	A 20%	2,27	309	0,63	302,97	45,40	41,87
5	A 30%	2,98	331	3,67	295,09	40,79	37,26
6	A 40%	1,16	86	0,57	84,48	24,74	21,21
7	A 50%	2,92	89	3,37	80,09	11,86	8,33
8	A 70%	5,64	155	0,57	152,25	9,17	5,14
9	EA 5%	2,74	113	3,60	100,96	15,15	11,62
10	EA 10%	3,29	168	3,58	150,19	18,75	15,22
11	EA 20%	2,27	155	3,53	138,79	25,08	21,55
12	EA 30%	2,98	326	0,50	320,94	36,49	32,96
13	EA 40%	1,16	123	3,58	109,96	38,94	35,41
14	EA 50%	2,92	327	0,43	322,63	37,37	33,84
15	EA 70%	5,64	80	3,72	78,59	5,21	1,68

Keterangan : Blangko = 3,53 mg/L



Gambar 2. Histogram kadar kalsium batu ginjal terlarut pada fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi

Keterangan :

Fraksi nomor 1 : kadar 5%

Fraksi nomor 2 : kadar 10%

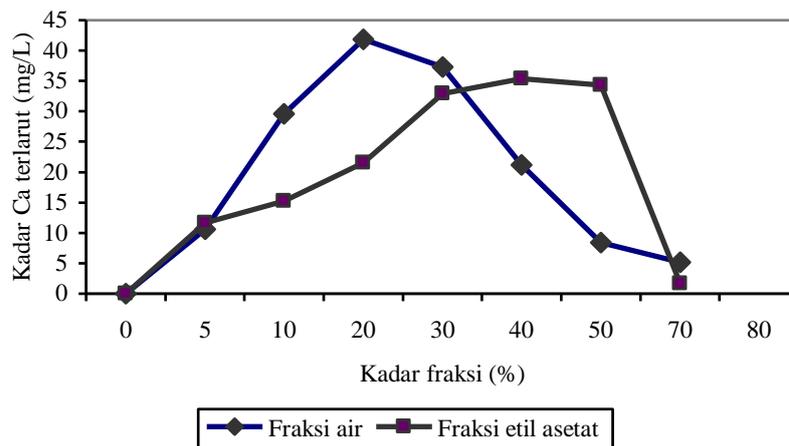
Fraksi nomor 3 : kadar 20%

Fraksi nomor 4 : kadar 30%

Fraksi nomor 5 : kadar 40%

Fraksi nomor 6 : kadar 50%

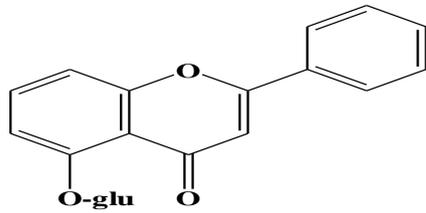
Fraksi nomor 7 : kadar 70%



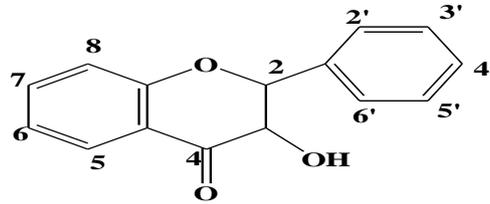
Gambar 3. Kurva hubungan kadar kalsium batu ginjal terlarut dalam fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu mindi.

Jenis flavonoid yang kemungkinan terdapat pada fraksi air daun benalu mindi adalah; bercak A₁ merujuk pada jenis flavon dan flavanon yang tak mengandung 5-OH, misal 5-OH glikosida serta jenis

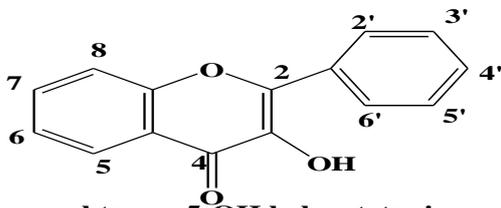
flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersubstitusi di 3-OH bebas. Bercak A₂ merujuk pada jenis flavonol tersubstitusi pada 3-O mempunyai 5-OH bebas tetapi tanpa 4-OH bebas. Bercak A₃ merujuk pada jenis flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan 5-OH bebas (Markham, 1988).



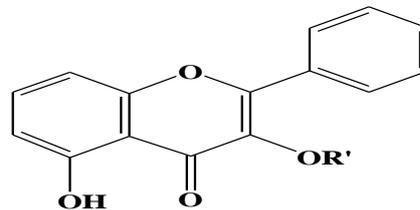
Flavon yang tak mengandung 5-OH dengan X = glikosida



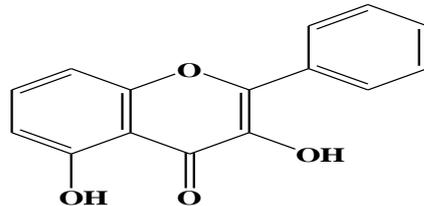
Flavanon yang tak mengandung 5-OH



Flavonol tanpa 5-OH bebas tetapi tersubstitusi pada 3-OH

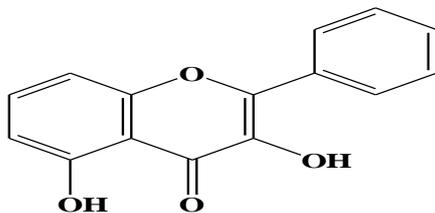


Bercak A₂: Flavonol dengan 5-OH bebas tetapi tersubstitusi pada 3-OH bebas, dengan R' kemungkinan senyawa polar.

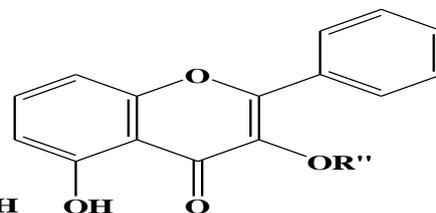


Bercak A₂: Flavonol yang mengandung 3-OH bebas dan 5-OH bebas

Gambar 4a. Struktur flavonoid pada fraksi air yang mungkin membentuk kompleks dengan kalsium batu ginjal



Bercak B₁ dan B₂ Flavonol dengan 3-OH bebas dan 5-OH bebas



Bercak B₂: Flavonol dengan 5-OH bebas dan tersubstitusi pada 3-OH dengan'' kemungkinan senyawa polar.

Gambar 4b. Struktur flavonoid pada fraksi etil asetat yang mungkin membentuk kompleks dengan kalsium batu ginjal.

KESIMPULAN

Fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh) yang berasal dari inang mindi (*Melia azedarach*, L) memiliki daya melarutkan kalsium batu ginjal.

Fraksi air dan fraksi etil asetat daun benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh) mengandung senyawa flavonoid yang mampu melarutkan kalsium batu ginjal dan senyawa lain yang kemungkinan menghambat pelarutan kalsium batu ginjal oleh flavonoid daun benalu mindi.

Fraksi air benalu (*Dendrophthoe falcata* (L.f) Ettingsh) memiliki daya melarutkan kalsium batu ginjal yang maksimal pada kadar fraksi 20%, sedangkan fraksi etil asetat pada kadar fraksi 40%.

DAFTAR PUSTAKA

- Brown, C.B., 1989, *Manual Penyakit Ginjal*, diterjemahkan oleh Moch. Sadikin dan Winarsi Rudiharso, 204-211, Binarupa Aksara, Jakarta.
- Chozin. A., Wahjoedi. B., Pudjiastuti, 1992, Informasi Penelitian Batani dan Fitokimia Tanaman Benalu, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, I-2, Vol. 4 no. 4 Jakarta.
- Doudon, M., Prostat, M.F., and Reveiland, R. J., 1978, *Analyse des Calcus par Spectrophotometrie Infrarouge Advantage et Limites dela Methode*, 475-489, Vol 36. Ann Biol, Clim.
- Manitto, P., 1992, *Biosintesis Produk Alami*, Diterjemahkan oleh Koensomardiyah, 434-435,449, IKIP Semarang Press, Semarang.
- Markham, K.R., 1988, *Cara Identifikasi Flavonoid*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata, 1-54, Penerbit ITB, Bandung.
- Pramono, S. 1988, *Buku Temu Risalah Temu Ilmiah 1987 Fakultas Farmasi UGM*, 341-343, Fakultas Farmasi UGM Yogyakarta.
- Pramono S., Sumarmo, Wahyono, S., 1993, Flavonoid Daun *Sonchus arvensis* Senyawa aktif Pembentuk Komplek dengan Batu Ginjal Berkalsium, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, 5-7, Vol.2, No.3, Jakarta.
- Pudjorahardjo, S.D., 1994, *Petunjuk Aktivasi Neutron Cepat*, Bidang Fisika Nuklir dan Atom, PPNY Batan, Yogyakarta.
- Tresnawati, 1999, Daya Melarutkan Fraksi Etil Asetat dan Fraksi Air Rimpang Temulawak (*Curcuma zanthorrhiza Roxb*) Terhadap Batu Ginjal Kalsium In Vitro, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Wijayakusuma, H., 1992, *Tanaman Berkhasiat Obat di Indonesia*, Jilid II, 94-95, Pusataka Kartini, Jakarta.
- Yusutardi, 1997, Berbagai Upaya Mencegah Batu Ginjal, *Sidowayah*, 29-31, No.23, Tahun VI.
- Harga Rf :