

Formulasi *Effervescent* Rumput Laut sebagai Antihipertensi

Tara Mandiricha, Lustyafa Inassani, Ibnu Malik, Zahrotul Hasanah Harum, dan Meddy Setiawan

ABSTRACT: *Eucheuma spinosum* belongs to rhodophyceae seaweed that comprises bioactive peptides. Those peptides worked by decreasing blood pressure, i.e. ACE inhibitor drugs. These studies are conducted to determine reaction of *Eucheuma spinosum* distribution as natural ACE inhibitor in form of effervescent formulation. These studies were true experimental with pre-post test only control group. Sample consists of 28 Wistar rats, divided into 4 groups; a group of control (K) and 3 groups of experiment (P1,P2,P3) were given *Eucheuma spinosum*, dose 200 mg/kgBW/day, 400 mg/kgBW/day, & 600 mg/kgBW/day. The result shows that there is an effect of *Eucheuma spinosum* distribution to the blood pressure of hypertensive rats.

Keywords : *Effervescent Eucheuma spinosum*, hypertension, bioactive peptide, ACE Inhibitor

ABSTRAK: Telah dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh rumput laut (*Eucheuma spinosum*) terhadap tekanan darah pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar model hipertensi serta formulasinya sebagai *effervescent*. Penelitian ini dilakukan dengan menentukan reaksi distribusi *Eucheuma spinosum* sebagai ACE inhibitor alamiah yang diformulasikan dalam bentuk sediaan *effervescent*. Penelitian ini merupakan penelitian true experimental dengan pendekatan *pre test-post test only control group design*. Sebagai objek pada penelitian ini adalah 28 ekor tikus Wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu K(+), P1, P2, dan P3 yang diberi *Eucheuma spinosum*, dengan dosis 200 mg/kgbb/hari, 400 mg/kgBB/hari, & 600 mg/kgBB/hari. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) dapat menurunkan sistole dan diastole tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain Wistar model hipertensi melalui mekanisme sebagai ACE Inhibitor alami yang dikemas dalam *effervescent*.

Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah, Malang

Kata kunci: *Effervescent, Eucheuma spinosum*, hipertensi, peptida bioaktif, ACE Inhibitor

Korespondensi:

Tara Mandiricha

Email : mandiricha574@gmail.com

PENDAHULUAN

Hipertensi telah menjadi masalah kesehatan yang sangat serius karena merupakan salah satu penyebab morbiditas dan mortalitas paling sering di seluruh dunia. Hipertensi atau yang lebih dikenal darah tinggi adalah suatu keadaan dimana seseorang mengalami peningkatan tekanan darah di atas 140/90 mmHg (1). Menurut *American Heart Association* bahwa presentase hipertensi pada pria lebih tinggi dari wanita sampai usia 45 tahun dan sekitar 69% orang yang mengalami serangan jantung, 77% yang mengalami stroke, dan 74% yang mengalami gagal jantung kongestif memiliki tekanan darah lebih tinggi dari 140/90 mmHg (2).

Hipertensi sering disebut juga “*silent killer*” karena termasuk penyakit yang mematikan, tanpa disertai dengan gejala-gejalanya terlebih dahulu sebagai peringatan bagi pengidapnya (3). Pengidap tidak selalu gampang marah-marah atau sering pusing seperti yang selama ini dibilakan. Namun kita baru mengetahui mengidap hipertensi setelah memeriksakan tekanan darah. Penderita yang datang ke dokter umunya sudah parah, karena tidak tahu bahwa dirinya mengidap hipertensi.

Obat antihipertensi yang sering diresepkan oleh dokter salah satunya adalah captopril, enalapril, dll bekerja dengan cara menghambat *angiotensin I-converting enzyme* (ACE) (4). ACE merupakan enzim pengatur tekanan darah dalam sistem renin-angiotensin aldosteron yang memiliki peran ganda yaitu mengkatalisis produksi *angiotensin II* sebagai vasokonstriktor dan menginaktivasi bradikinin sebagai vasodilator yang membuat pembuluh darah menyempit sehingga tekanan darah meningkat (5).

Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitor merupakan obat yang bekerja dengan menghambat ACE supaya tidak memproduksi hormon *angiotensin II* yang dapat menaikkan tekanan darah. ACE inhibitor membiarkan pembuluh darah melebar dan membiarkan lebih banyak darah mengalir ke jantung, sehingga menurunkan

tekanan darah (6). Obat-obat ini juga digunakan untuk mengobati gagal jantung kongestif, *diabetic nephropathy*, dan untuk mengobati pasien yang telah terkena serangan jantung (7). Dapat juga digunakan untuk membantu mencegah serangan jantung dan stroke pada pasien dengan resiko tinggi (8).

Obat *ACE inhibitor* diketahui memiliki efek samping yang tidak diinginkan seperti menyebabkan batuk kering dan angioedema serta tidak dianjurkan selama kehamilan (9). Berdasarkan beberapa hal tersebut diperlukan alternatif obat *ACE inhibitor* yang minim efek samping mengingat obat hipertensi digunakan dalam waktu yang lama. Obat-obatan herbal/berbahan tanaman menjadi alternatif yang penting untuk diperhatikan, sebab obat herbal dikenal secara luas minim efek samping dan memiliki khasiat yang dapat dibuktikan. Hal ini dapat meningkatkan minat dalam menemukan sumber-sumber alami dan aman yang memungkinkan komunitas ilmiah untuk berbelok pada obat berbahan alami diantaranya adalah ganggang sebagai sumber daya melimpah yang bermanfaat karena sampai saat ini, ganggang dan mikroalga dirujuk dalam literatur sebagai sumber senyawa bioaktif untuk digunakan sebagai bahan pangan fungsional (10,11). Ganggang dengan pigmen bewarna merah berupa phycoerythrobilin (ganggang merah) sebagai bertanggung jawab dalam sifat fungsional yang mempunyai beberapa fungsi fisiologis bagi tubuh yaitu aktivitas antioksidan (12), antihipertensi, antikoagulan, maupun aktivitas antimikroba (13).

Salah satu jenis rumput laut merah yang banyak digunakan sebagai bahan makanan secara langsung karena mempunyai kandungan gizi yang cukup baik adalah *Eucheuma spinosum* (14). Hal ini dikarenakan rumput laut mengandung beberapa peptida dengan aktivitas *ACE-inhibitor* yang efektif mampu mempertahankan tekanan darah pada kondisi normal. Kandungan peptida bioaktif dalam rumput laut tersebut merupakan kekayaan bahari yang berpotensi untuk dijadikan sebagai salah satu alternatif dalam pengelolaan

hipertensi dengan efek samping minimal dan harga yang lebih murah (15). Dengan mengemas ekstrak rumput laut dalam *effervescent* merupakan sediaan alternatif yang efisien, modern dan memiliki akseptabilitas lebih tinggi dibandingkan dengan sediaan yang masih umum beredar di masyarakat.

Berdasarkan potensi tersebut maka perlu dilakukan penelitian dengan tujuan untuk mengetahui pengaruh rumput laut (*Eucheuma spinosum*) terhadap tekanan darah pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar model hipertensi serta formulasinya sebagai *effervescent*.

METODE

Desain Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental* dengan pendekatan *pre test-post test only control group design*. Sebagai objek pada penelitian ini adalah 28 ekor tikus wistar yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu K(+), P1, P2, dan P3. Seluruh kelompok diinduksi dengan prednisone 1,5 mg/kgBB dan NaCl 2,5% selama 2 minggu yang diharapkan mampu meningkatkan tekanan darah sistolik dan diastolik tikus putih jantan dari tekanan fisiologis yaitu 124/82 mmHg menjadi 165-200 mmHg (16).

Perlakuannya adalah dengan pemberian ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) dengan dosis bervariasi yaitu 200 mg/kgBB (P1), 400 mg/kgBB (P2), dan 600 mg/kgBB (P3) secara oral selama 2 minggu. Keluarannya berupa tekanan darah tikus wistar setelah diinduksi hipertensi (*pre test*) dan setelah diberi perlakuan ekstrak rumput laut (*post test*).

Pembuatan Ekstrak Rumput Laut

Rumput laut dengan spesies *Eucheuma spinosum* sebanyak 800 g, kemudian dicuci bersih, diiris, dan dikeringkan dengan oven suhu 80°C selama 4 jam, kemudian di blender hingga menjadi tepung. Untuk mengekstrak fraksi larut metanol,

20 g setiap tepung rumput laut dicampur dengan 1 liter metanol untuk satu hari. Ekstrak tersebut kembali diekstraksi beberapa kali menjadi 100% methanol sampai hasil methanol hilang menggunakan rotary evaporator. Kemudian diinkubasi 72 jam untuk memberi kesempatan zat pelarut menarik bahan aktif. Selanjutnya dilakukan penyaringan atau filtrasi dengan menggunakan kertas saring whatman nomor 2 dilakukan ekstraksi dengan rotari evaporator dan didapatkanlah ekstrak rumput laut yang kering. Pembuatan ekstrak rumput laut dilakukan di laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang.

Persiapan Hewan Coba

Hewan coba yang digunakan adalah tikus putih jantan galur Wistar dengan berat 180-200 g berumur 3 bulan yang kemudian dilakukan aklimatisasi selama 1 minggu di kandang bersih yang berukuran 50 cm x 50 cm x 40 cm dalam kondisi yang dikontrol secara otomatis dengan suhu ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), kelembaban (sekitar 75%), dan pencahayaan (cahaya dari pukul 16.00-07.00). Tikus diberi akses bebas mengkonsumsi air dan pakan standart BR-1. Pemeliharaan hewan coba pada penelitian ini telah didasarkan pada komisi etik kehewan. Dan proses pemeliharaan tersebut dilakukan di Laboratorium Biomedik Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang.

Pengukuran Tekanan Darah

Pengukuran tekanan darah pada tikus menggunakan sfigmomanometer *Student* dengan metode *non invasive blood pressure*. Tikus ditempatkan dalam alat untuk memfiksasi, kemudian pada pangkal ekornya dipasang *tail cuff* untuk mendeteksi denyut aliran darah yang terhubung dengan *oscillograph*. Saat tikus telah tenang, alat dinyalakan. Penilaian hasil pengukuran dilakukan dengan membaca grafik yang tercetak oleh alat. Pengukuran tersebut dilakukan di Laboratorium Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Gadjah Mada.

Pembuatan Tablet Effervescent

Pembuatan tablet dari ekstrak rumput laut dilakukan dengan metode granulasi basah. PVP K-30 dilarutkan terlebih dahulu dalam etanol 96% sampai larut kemudian ditambah dengan pewarna dan dibagi menjadi dua. Untuk pembuatan granul asam : ekstrak rumput laut ditetesi dengan etanol qs kemudian ditambah cabo-sil 2/5 bobot ekstrak dan ditambah sebagian manitol dicampur ad homogen. Selanjutnya, ditambahkan no.1 campur ad homogen. Kemudian ditambah asam sitrat dan asam tartrat sampai menjadi massa granul yang baik. Dan untuk pembuatan granul basa : natrium bikarbonat ditambah dengan sebagian manitol campur sampai homogen, kemudian ditambahkan no.1 dicampur sampai menjadi massa granul yang baik. Granul no 2 dan 3 dilewatkan melalui ayakan 12 mesh, lalu dikeringkan pada oven pada suhu 400C sampai MCnya 0,2 – 0,3%. Granul kering dilewatkan melalui ayakan 18 mesh. Granul yang diperoleh dicampur dan ditambah magnesium stearat sampai homogen. Sebagian dari granul tersebut digunakan untuk pemeriksaan mutu fisik granul, meliputi: kecepatan alir, sudut diam, kelembaban dan distribusi granul. Campuran granul dikompresi menjadi tablet dengan tekanan 1 ton dan ditahan $\pm$ 2 detik dan dievaluasi mutu fisik tablet *effervescent*.

Teknik Pengumpulan Data

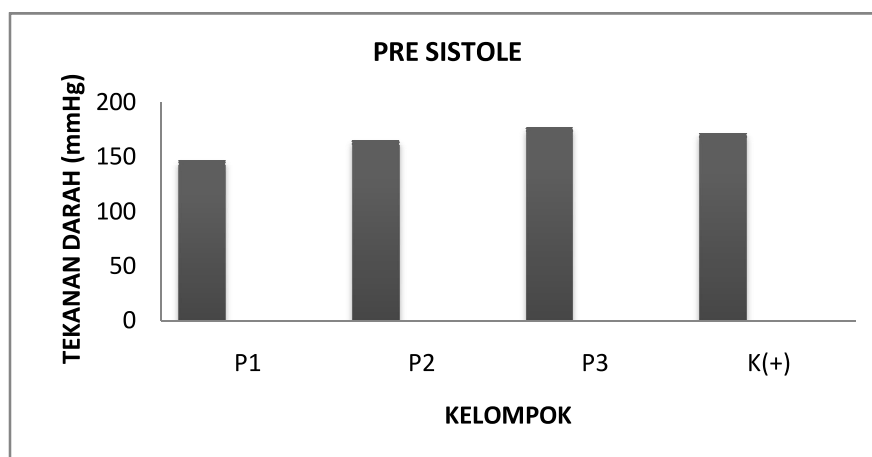
Tikus yang telah diinduksi hipertensi kemudian diberi berbagai perlakuan selama 2 minggu lalu tekanan darah tikus diukur menggunakan *blood pressure analyzer*, dan data dari setiap perlakuan tikus dikumpulkan untuk dimasukkan ke dalam tabel. Data yang telah terkumpul kemudian dianalisa dan diinterpretasikan.

Analisis Data

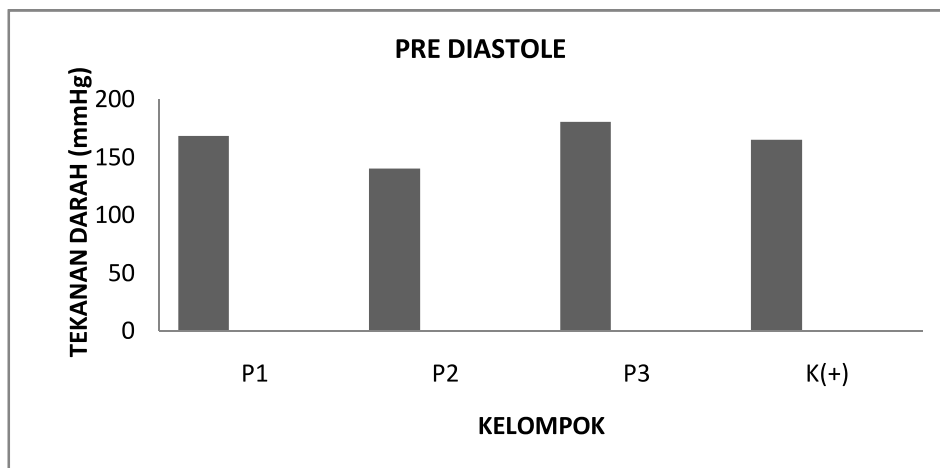
Data dianalisis dengan menggunakan *SPSS version 10.0*. hasil dinyatakan sebagai mean $\pm$ S.D. Arti penting dari berarti perbedaan antara kelompok kontrol dan masing-masing perlakuan kelompok ditentukan oleh *Student t-test*. Data tersebut diuji normalitasnya dengan uji *Kolmogorov Smirnov*. Jika didapatkan data normal, maka dilakukan uji homogenitas dengan menggunakan statistik parametrik *Anova*, dan jika didapatkan perbedaan yang bermakna ($p < 0,01$), maka dilanjutkan dengan uji statistik *Post Hoc*. Kemudian dilakukan uji korelasi.

HASIL DAN PEMBAHASAN

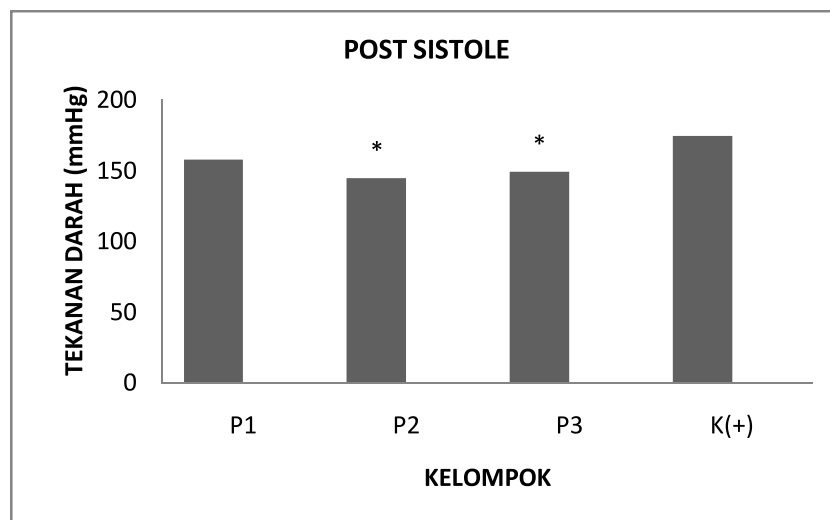
Perubahan tekanan darah pada tikus setelah diinduksi prednisone 1,5 mg/kgbb dan NaCl 1,5% selama *pre test* ditunjukkan dalam Gambar 1.



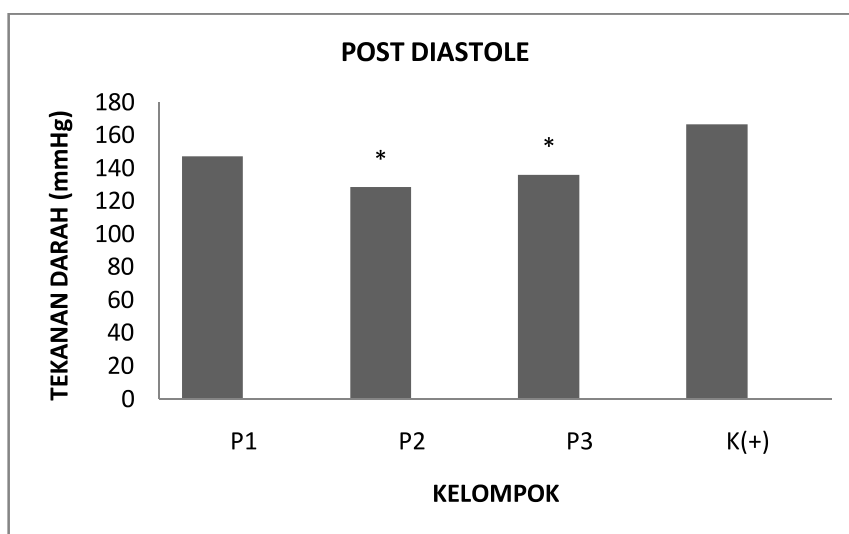
Gambar 1. Perubahan tekanan darah sistole setelah induksi hipertensi pada tikus (*pre test*)



Gambar 2. Perubahan tekanan darah diastole tikus setelah induksi hipertensi (*pre test*)



Gambar 3. Pengaruh ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) terhadap tekanan darah systole tikus saat *post test*



Gambar 4. Pengaruh ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) terhadap tekanan darah diastole tikus saat *post test*

Berdasarkan Gambar 1 & 2 bahwa perubahan tekanan darah pada kelompok P1, P2, dan P3 tidak berbeda nyata dengan kelompok K(+) saat *pre test*. Hal ini sesuai dengan desain penelitian bahwa semua tikus memiliki tekanan darah yang tinggi sebelum diberi perlakuan karena mendapat induksi yang sama yaitu prednisone 1,5mg/kgbb dan NaCl 1,5% dan belum mendapat perlakuan ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*).

Berdasarkan hasil analisis statistik pada Gambar 3 & 4 tersebut menunjukkan bahwa pada kelompok P2 dan P3 tampak perubahan tekanan darah yang berbeda nyata dengan kelompok K(+), sedangkan pada kelompok P1 tidak berbeda nyata dengan kelompok K(+). Hal ini disebabkan karena kelompok P1 yaitu tikus yang diberi perlakuan ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) dengan dosis 200 mg/kgbb tidak efektif menurunkan tekanan darah tikus model hipertensi. Sedangkan pada kelompok P2 dan P3 dengan dosis 400 mg/kgbb dan 600 mg/kgbb terbukti efektif menurunkan tekanan darah tikus model hipertensi.

Tablet yang dihasilkan diuji keseragaman bobot, kekerasan, kerapuhan dan waktu larutnya. Uji kekerasan tablet dilakukan dengan meletakkan tablet pada *hardness tester* dengan posisi vertikal. Sekrup diputar pada ujung yang lain sehingga tablet tertekan yang dinyatakan sebagai keadaan awal dengan skala pada skala nol (0). Pemutaran dihentikan sampai tablet pecah dan diperhatikan skalanya. Percobaan dilakukan untuk masing-masing 20 tablet dan dihitung rata-ratanya. Kekerasan tablet yang baik adalah 4-8 kg untuk tablet tidak bersalut (17). Hasil uji kekerasan menunjukkan bahwa formulasi *effervescent* rumput laut (*Eucheuma spinosum*) adalah 4 kg sehingga telah memenuhi persyaratan tablet yang baik. Kekerasan tablet dipengaruhi oleh tekanan saat penabletan, sifat bahan yang dikempa, jumlah dan jenis bahan pengikat yang digunakan. Dalam formulasi ini digunakan PVP-K 30 untuk semua formula sebagai bahan pengikat yang dapat menambah kekompakan tablet (18).

Pengujian kerapuhan perlu dilakukan karena

kekerasan tablet bukan parameter absolut dari kekuatan tablet. Kerapuhan tablet menggambarkan kekuatan fisik bagian luar tablet yang berperan untuk melawan guncangan mekanik. Uji kerapuhan tablet dilakukan dengan membebas-debukan 20 tablet kemudian ditimbang dan dimasukkan ke dalam friabilator tester. Alat dijalankan selama 4 menit dengan kecepatan 25 putaran per menit. Setelah itu, tablet dibebaskan lagi dan ditimbang (18). Kerapuhan dinyatakan sebagai % sesuai dengan persamaan (1).

$$\text{Kerapuhan} = \frac{M1 - M2}{M1} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

M1= berat tablet awal

M2= berat tablet setelah perlakuan

Tablet yang baik mempunyai nilai kerapuhan tidak lebih dari 1% (Anwar, 2010). Hasil uji kerapuhan pada *effervescent* rumput laut (*Eucheuma spinosum*) termasuk baik, yaitu < 1%. Semakin banyak jumlah sukrosa dalam tablet menyebabkan tablet menjadi lebih keras. Ikatan yang kuat antar partikel pada permukaan tablet menyebabkan tablet tidak rapuh (17).

Waktu larut tablet merupakan karakteristik yang penting dalam tablet *effervescent* (17). Uji waktu hancur dilakukan dengan memasukkan sebuah *effervescent* ke dalam aquades dengan volume 200 ml. Waktu hancur dihitung dengan *stopwatch* mulai *effervescent* tercelup sampai semua tablet hancur dan larut. *Effervescent* yang baik umumnya akan terlarut dengan cepat dalam waktu 1-2 menit (18). Hasil uji waktu hancur menunjukkan bahwa formulasi *effervescent* rumput laut (*Eucheuma spinosum*) mempunyai waktu hancur yang baik, yaitu 37 detik. Semakin keras tablet, ikatan antar partikel penyusun semakin kuat dan pori-pori tablet menjadi kecil sehingga menghambat laju penetrasi air ke dalam tablet. Akibatnya waktu larut tablet menjadi lebih lama. Sebaliknya, dengan jumlah aspartam semakin banyak tablet menjadi lebih rapuh. Air menjadi mudah untuk berpenetrasi ke dalam tablet me-

lalui pori-pori tablet yang longgar sehingga waktu larutnya lebih cepat. Larutan yang terbentuk dari *effervescent* tersebut tidak mutlak jernih tetapi masih ada residu dari rumput laut yang tidak larut (17).

Menurut penelitian sebelumnya (19) mengenai pengaruh ekstrak buah mengkudu terhadap penurunan tekanan darah tikus didapatkan bahwa pemberian ekstrak buah mengkudu dengan dosis 1000 mg/kg BB lebih banyak menurunkan tekanan darah tikus putih jantan dibandingkan dengan pemberian ekstrak buah mengkudu dosis 500 mg/kg BB. Pada penelitian Wang (2007) mengenai pengaruh ekstrak daun *O Africana* sebagai antihipertensi menunjukkan bahwa ekstrak *O Africana* dengan dosis 1000 mg/kgBB juga efektif menurunkan tekanan darah kembali normal. Hal ini menjelaskan bahwa untuk mendapatkan efek antihipertensi dari bahan alami umumnya membutuhkan dosis yang lebih besar (20). Sedangkan pada penelitian ini, dosis efektif yang mampu menurunkan tekanan darah pada tikus adalah 400 mg/kgBB. Jika membandingkan hasil penelitian dari Tista (2011) dan Wang (2007), maka ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) lebih efektif mampu menurunkan tekanan darah tikus dengan dosis yang lebih kecil. Oleh karena itu ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) layak diperhitungkan menjadi antihipertensi yang lebih efektif daripada tanaman herbal yang lainnya.

Penelitian sebelumnya Seon-Heui Cha (2006) melaporkan bahwa rumput laut mempunyai aktivitas sebagai anti hipertensi dengan mekanismenya yang mirip dengan *ACE inhibitor*. Diduga rumput laut ini menurunkan tekanan darah melalui mekanisme penurunan tahanan perifer pembuluh darah tanpa menyebabkan penurunan laju jantung yang berarti. Hal ini juga diperkuat oleh gejala lain yang diamati selama percobaan, yakni terjadinya diuresis pada tikus (data tidak ditampilkan). Terjadinya diuresis menunjukkan adanya penambahan volume urin yang diproduksi dan menunjukkan peningkatan jumlah pengeluaran zat-zat terlarut dan air. Sebagai akibatnya terjadi penurunan cairan volume ekstrasel. Pada kondisi hipertensi, proses diuresis akan menurunkan kadar natrium dalam cairan tubuh dan dengan adanya efek vasodilatasi maka terjadi penurunan resistensi perifer yang kemudian menurunkan tekanan darah (3).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian tersebut menunjukkan bahwa ekstrak rumput laut (*Eucheuma spinosum*) dapat menurunkan sistole dan diastole tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) strain wistar model hipertensi melalui mekanisme sebagai *ACE Inhibitor* alami yang dikemas dalam *effervescent*.

DAFTAR PUSTAKA

1. Foex P., Sear J.W. Hypertension: Pathophysiology and Treatment. Oxford Journals. 2009. 4(3): 71-75.
2. Mozaffarian D, R. V. 2013. High Blood Pressure. American Heart Association, 127:e6-e245.
3. Tajuddin, I. Pelatihan Relaksasi Autogenik Untuk Menurunkan Tingkat Stres Pada Penderita Hipertensi. Tesis. Fakultas Psikologi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta. 2011.
4. Jurca T., Vicas L. Complexes Of The Ace-Inhibitor Captopril. Farmacia. 2010. 58 (2): 198-202.
5. Masuyer G, S. S. Molecular recognition and regulation of human angiotensin-I converting enzyme (ACE) activity by natural inhibitory peptides. Europe PubMed Central, 2012. 2:717.
6. Guyton, A.C., Hall, J.E. Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology. Edisi ke-12. Elsevier Saunders. Philadelphia. USA. 2010.
7. Chua D., Ignaszewski A., Schwenger E. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors: An Ace In The Hole For Everyone. BC Medical Journal. 2011. 53(5).
8. Madhur, M.S. Hypertension. <http://emedicine.medscape.com/article/241381-overview>. Diakses

tanggal 2 September 2013.

9. Jarred G, Kennedy R.L. Therapeutic Perspective: Starting An Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor Or Angiotensin II Receptor Blocker In A Diabetic Patient. National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. 2010. 1(1): 23–28.
10. Plaza, M., Herrero M, Cifuentes A, Ibañez E Innovative natural functional ingredients from Microalgae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2009. 57: 7159–7170.
11. Plaza, M., Cifuentes A, Ibañez E. In the search of new functional food ingredients from algae. *Trends in Food Science & Technology* 2008. 19: 31–39.
12. Byun, H.G., J.K. Lee, H.G. Park, J.K. Jeon, S.K. Kim. 2009. Antioxidant peptides isolated from the marine rotifer, *Brachionus rotundiformis*. *Process Biochemistry* 44: 842–846.
13. Ngo, D.H., I. Wijesekara, T.S. Vo, Q.V. Ta, S.V. Kim. Marine food-derived functional ingredients as potential antioxidants in the food industry: an overview. *Food Research International* 2011. 44: 523–529.
14. Sulistyowaty, D. Efek Diet Rumput Laut *Eucheuma* Sp. Terhadap Kadar Glukosa Darah Tikus Wistar Yang Disuntik Aloksan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Diponegoro. Semarang. 2009.
15. Bernstein M., Woods M. Seaweed as a Rich New Source of Heart-Healthy Food Ingredients. *American Chemical Society (ACS) Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2011.
16. Luo Y, Owens D, Mulder G, McVey A. 2008. Blood Pressure Characterization of Hypertensive and Control Rats for Cardiovascular. http://www.criver.com/files/pdfs/rms/shr/rm_rm_r_08_bp_characterization_of_hypertensive_and.aspx. Diakses tanggal 2 September 2013.
17. Pratiwi G., Hertiani T. Optimasi Komposisi Sukrosa Dan Aspartam Sebagai Bahan Pemanis Pada Formula Tablet-Effervescent Ekstrak Etanolik Buah Mengkudu. *Majalah Obat Tradisional*. 2011. 16(2): 43 – 50.
18. Anwar, K. Formulasi Sediaan Tablet Effervescent Dari Ekstrak Kunyit (*Curcuma Domestica* Val.) Dengan Variasi Jumlah Asam Sitrat-Asam Tartrat Sebagai Sumber Asam. *Sains dan Terapan Kimia*. 2010. 4(2): 168-178.
19. Tista, G.N.B. Pemberian Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia* L) Menurunkan Tekanan Darah Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Yang Hipertensi. Tesis. Universitas Udayana, Bali. 2011.
20. Wang, Xu. The Antihypertensive Effect Of Aqueous Extract Of *O Africana* Leaves. Tesis. Department Of Medical Bioscience At The University Of The Western Cape, South Africa. 2007.