

Penapisan Fitokimia Dan Uji Efek Nefroprotektif Ekstrak Daun Ceri Terhadap Toksisitas Gentamisin Pada Tikus

Eka Fitrianda, Elsi Yuwanda, Ifmaily

Sekolah Tinggi Farmasi Indonesia Perintis Padang, Jl. Adinegoro KM. 17 Padang

Detail Artikel

Diterima : 25 September 2020

Direvisi : 07 Oktober 2020

Diterbitkan : 28 Oktober 2020

Kata Kunci

Muntingia calabura L
nefrotoksisitas
ginjal
fitokimia

Penulis Korespondensi

Name : Eka Fitrianda
Affiliation : Sekolah Tinggi
Farmasi Indonesia Perintis Padang,
Jl. Adinegoro KM. 17. Padang.
Email : ekafitrianda@gmail.com

ABSTRAK

Penelitian dilakukan untuk menyelidiki komponen metabolit sekunder pada ekstrak daun Ceri serta kemampuannya dalam memproteksi organ ginjal dari nefrotoksisitas gentamisin. Penapisan fitokimia dilakukan dengan menggunakan metoda standar penetapan kualitatif fitokimia. Uji aktivitas nefroprotektif dilakukan dengan metoda induksi gentamisin. Hewan uji diinduksi dengan injeksi subkutan gentamisin dosis 40 mg/KgBB selama 8 hari, hewan kontrol normal diinjeksi dengan NaCl fisiologis. Satu jam sebelum penginduksian, kelompok I-II diberikan NaCMC, kelompok III-V diberi ekstrak dosis 75, 150, dan 300 mg/kgBB secara peroral. Pada hari ke-9 darah diambil untuk diukur kadar kreatininnya, ginjal ditimbang dan diperiksa histopatologinya. Kadar kreatinin diukur dengan metode Jaffe menggunakan fotometer DIRUI DR-7000 D panjang gelombang 492 nm. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak daun ceri mengandung senyawa flavonoid, fenolik dan saponin. Sementara itu, kadar

kreatinin rata-rata kelompok I-V adalah: 0,394, 3,074, 1,394, 1,436, 1,374 mg/dl, dan berat relatif ginjal 1,061%, 0,66%, 0,6%, 0,704%, 0,794 %. Ekstrak daun ceri mempengaruhi kadar kreatinin serum dan rasio berat ginjal secara signifikan ($p < 0,05$). Hasil pemeriksaan histopatologi menunjukkan infiltrasi sel radang yang ringan, kongesti menurun, regenerasi sel terbaik pada kelompok dosis 300 mg/kgBB. Sehingga disimpulkan bahwa ekstrak daun ceri mengandung flavonoid, fenolik dan saponin dan memiliki efek nefroprotektif terbaik terhadap toksisitas gentamisin pada dosis 300 mg/KgBB.

ABSTRACT

This study aims to investigate the secondary metabolite components present in the extract of cherries and its ability to protect kidney organs from gentamicin nephrotoxicity. Phytochemical screening was carried out using a standard qualitative method. Meanwhile, the nephroprotective activity test was carried out by gentamicin induced method. Animals were induced by subcutaneous injection of gentamicin at a dose of 40 mg/kg for 8 days, while normal controls were injected with physiological NaCl. One hour before induction, groups I-II were administered with NaCMC as control carriers, while groups III-V were administered with the extract at a dose of 75, 150 and 300 mg/kg respectively. On the 9th day, blood samples were taken to measure their creatinine levels, the kidneys were taken to be weighed and histopathological examination is carried out. Serum creatinine levels

were measured by the Jaffe method using a photometer DIRUI DR-7000 D at a wavelength of 492 nm. Phytochemical screening test showed that the cherry leaf extract contained flavonoid, phenolic and saponin compounds. Meanwhile, the results of the average creatinine levels in group I-V were: 0.394, 3.074, 1.394, 1.436, 1.374 mg / dl, and the relative weight of the kidneys in each group was 1.061%, 0.66%, 0.6 %, 0.704%, 0.794%. Administration of cherry leaf extract significantly affected serum creatinine levels and kidney weight ratio ($p < 0.05$). Meanwhile, the results of histopathological examination showed mild inflammatory cell infiltration, decreased congestion, and the best cell regeneration was seen in the 300 mg/kg dose group. Thus it is concluded that cherry leaf extract contains flavonoids, phenolics and saponins and has the best nephroprotective effect against gentamicin toxicity at a dose of 300 mg / KgBW.

PENDAHULUAN

Gentamisin pada dosis tertentu dapat menyebabkan sejumlah gejala toksisitas seperti neurotoksisitas, ototoksisitas (auditori dan vestibular), dan nefrotoksisitas (meningkatkan klirens kreatinin). Sifat toksik gentamisin pada berbagai organ seperti ginjal, hepar, paru-paru, dan kulit ini diperantarai oleh induksi radikal bebas dan stress oksidatif (Ninditya et al., 2016). Pemberian senyawa yang dapat melindungi ginjal (nefroprotektif) dari pengaruh toksik gentamisin yang sangat diperlukan selama penggunaan obat ini dalam penanganan infeksi. Senyawa antioksidan seperti flavonoid, tannin, triterpene, saponin dan polifenol diketahui dapat memperbaiki fungsi ginjal yang mengalami kerusakan akibat gentamisin. Senyawa antioksidan tersebut dapat mengurangi senyawa radikal bebas yang dihasilkan dari proses metabolisme gentamisin dan mencegah kerusakan ginjal (Dahal & Mulukuri, 2015).

Salah satu tumbuhan yang memiliki potensi sebagai nefroprotektor adalah daun ceri (*Muntingia calabura* L.). Hal ini dikarenakan daun ceri telah terbukti memiliki aktivitas antioksidan dalam sejumlah penelitian ilmiah yang telah dipublikasikan (Rahmawati et al., 2018). Pengaruh pemberian ekstrak daun ceri terhadap kesehatan telah banyak diteliti, diantaranya dapat memberikan antidiabetes (Verdayanti, 2009), analgetik (Triswanto & Pangestu, 2016), dan antibakteri (Sulaiman et al., 2017). Selain itu, ekstrak daun ceri telah terbukti memiliki efek terapi pada ginjal tikus jantan yang diinduksi etilen glikol (Sasmita, 2017).

Berdasarkan latar belakang diatas, maka dilakukan penelitian untuk menentukan kandungan metabolit sekunder yang terdapat dalam ekstrak etanol daun ceri serta efek nefroprotektifnya pada tikus putih jantan yang diinduksi gentamisin, sehingga didapatkan data ilmiah mengenai kandungan serta aktivitas nefroprotektif dari daun ceri.

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat: timbangan digital tipe ABJ 220-4M (Kem®), rotary evaporator (Ika®), lumpang dan stamper (Haldenwanger®), alat-alat gelas standar laboratorium, sarung tangan, tabung vacutest (Vaculab®), alat-alat bedah (gunting, pinset, kapas, benang), spuit injeksi (Terumo®), plat tetes, rak tabung, sentrifuse (Hettich EBA 200), photometer panjang gelombang 492 (DIRUI DR-7000D), oven (Memmert®), furnest (Carbolite®), krus (Haldenwanger®).

Bahan: etanol 96% (Emsure®), gentamisin, makanan standar mencit, NaOH (Emsure®), aquadest, NaCMC, kloroform (Emsure®), NaCl fisiologis, pewarna hematoxylin-eosin (Emsure®), xilol (Emsure®), alkohol absolute (Emsure®), paraffin (Emsure®), serbuk Mg (Emsure®), Larutan pereaksi kreatinin Ecoline Merck® yang terdiri dari:

- reagen 1 : NaOH 0,2 mol/L
- reagen 2 : larutan asam pikrat 20 mmol/L
- larutan standar kreatinin : 2mg/dL (177 µmol/L kreatinin)

Sampel: daun ceri (*Muntingia calabura L.*) segar yang diperoleh dari daerah Kurai Taji Pariaman Selatan, Sumatera Barat. Sampel diidentifikasi di Herbarium Universitas Andalas Padang.

Prosedur Penelitian

Penyiapan ekstrak etanol daun ceri

Daun ceri yang telah dibersihkan, dirajang lalu ditimbang sebanyak 1 kg kemudian dimasukkan ke dalam botol maserasi dan tambahkan etanol 96% hingga sampel terendam. Maserasi dilakukan selama 3 hari sambil sesekali diaduk, lalu disaring dengan kertas saring hingga didapatkan maserat. Hasil maserasi tersebut diuapkan dengan rotary evaporator hingga didapatkan ekstrak kental (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008)

Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Ceri

Ekstrak kental daun ceri dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan 5 ml aquadest dan 5 ml kloroform dan dibiarkan sampai terbentuk 2 lapisan air dan kloroform (Harborne, 1998). Selanjutnya dilakukan penapisan terhadap kandungan metabolit sekundernya dengan cara:

1. Uji fenolik

Lapisan air sebanyak 1-2 tetes pada plat tetes ditambahkan pereaksi FeCl₃. Terbentuknya warna biru menandakan adanya kandungan fenolik.

2. Uji flavonoid (Metode “Sianida Test”)

Lapisan air sebanyak 1-2 tetes pada plat tetes ditambahkan serbuk Mg dan HCl (p), terbentuknya warna merah menandakan adanya flavonoid.

3. Uji Terpenoid dan Steroid (metode “Simes”)

Lapisan kloroform dilewatkan di atas kapas yang berisi norit, lalu ditambahkan H₂SO₄ (p) dan asam asetat anhidrat, terbentuknya warna biru ungu menandakan adanya steroid sedangkan bila terbentuk warna merah menandakan adanya terpenoid.

4. Uji saponin

Lapisan air dikocok kuat-kuat dalam tabung reaksi, terbentuknya busa yang permanen (± 15 menit) menunjukkan adanya saponin.

5. Uji Alkaloid

Lapisan kloroform ditambahkan 10 ml kloroform amoniak 0,05 N dan diaduk perlahan. Selanjutnya ditambahkan beberapa tetes H₂SO₄ 2N kemudian dikocok perlahan dan dibiarkan memisah. Lapisan asam ditambahkan beberapa tetes pereaksi mayer, reaksi positif alkaloid ditandai dengan adanya kabut putih hingga gumpalan putih.

Uji Aktivitas Nefroprotektif

Hewan percobaan yang digunakan adalah tikus putih jantan usia 2-3 bulan dengan bobot badan 200-300 gram sebanyak 25 ekor. Hewan ini diaklimatisasikan dengan lingkungan percobaan selama lebih kurang seminggu dengan menimbang berat badannya setiap hari, mengamati tingkah lakunya dan memberinya makanan dan minuman yang sama. Tikus yang digunakan adalah tikus yang sehat dan selama aklimatisasi berat badannya tidak berubah lebih dari 10% (Normasari et al., 2017).

Hewan dikelompokkan secara acak menjadi lima kelompok yang masing-masingnya terdiri dari 5 ekor hewan. Seluruh hewan uji pada kelompok II-V diinduksi dengan injeksi subkutan gentamisin pada dosis 40 mg/KgBB selama 8 hari, sementara hewan pada kelompok I sebagai kontrol normal diinjeksi dengan NaCl fisiologis. Satu jam sebelum penginduksian, kelompok I dan II diberikan NaCMC sebagai control pembawa, sementara kelompok III, IV dan V diberi ekstrak dengan dosis masing-masing 75,150, dan 300 mg/kgBB secara peroral. Pada hari ke-9 sampel darah dari seluruh hewan diambil untuk diukur kadar kreatininnya. Pengambilan serum darah tikus diawali dengan pengambilan sejumlah volume darah melalui mata kemudian dimasukkan ke dalam mikrotube. Selanjutnya darah disentrifuge dengan kecepatan 4000 rpm selama 20 menit dan diambil supernatan pada bagian atas berupa cairan bening agak kekuningan. Serum darah diambil dan disimpan pada suhu -20°C hingga digunakan saat analisis kreatinin.

Kadar kreatinin serum diukur dengan menggunakan metoda Jaffe, yaitu dengan cara memipet 50µl serum ke dalam tabung reaksi campuran dengan 1µl. Larutan reagen 1 (larutan NaOH) dan inkubasi selama 3 menit. Kemudian tambahkan 0,25 µl reagen 2 (larutan asam pikrat), sehingga membentuk kompleks kreatinin pikrat berwarna kuning. Pengukuran kadar kreatinin dilakukan dengan alat fotometer analyzer DIRUI DR- 7000D pada panjang gelombang 492 nm (Normasari et al., 2017)

Selanjutnya hewan dikorbankan dan diambil organ ginjalnya untuk ditimbang dan dilakukan pemeriksaan histopatologinya. Hewan yang telah dikorbankan dibedah pada bagian-bagian abdomen secara vertikal. Organ ginjal, lalu dibersihkan dan ditimbang. Rasio berat organ ginjal terhadap berat badan dapat ditentukan menggunakan persamaan (Aniagu et al., 2005).

$$\text{Rasio Organ Hewan} = \text{Berat organ hewan} \times 100\%$$

Berat badan hewan

Pemeriksaan histopatologi dilakukan dengan cara pembuatan preparat dengan metoda parafin yang kemudian dapat diperiksa secara mikroskopik. Ginjal yang telah dipisahkan dari hewan dimasukkan ke dalam larutan NaCl fisiologis maksimal selama 30 menit. Selanjutnya dipindahkan ke dalam larutan formalin 10% untuk pengawetan dan dipotong dengan

ketebalan \pm 4 mm. Jaringan didehidrasi menggunakan larutan alkohol 50%, 70%, 80%, 90%, 96% dan alkohol absolut masing-masing selama 1 jam. Penjernihan dilakukan dengan memindahkan objek ke dalam xilol selama 1 jam. Kemudian objek dimasukkan ke dalam larutan infiltrasi yang dilakukan didalam inkubator pada suhu 55-60°C selam 3 jam.

Untuk penanaman, objek dimasukkan ke dalam cetakan logam (2x2x2) cm³ yang sudah berisi paraffin, lalu didinginkan di dalam freezer selama 5 jam. Untuk penyayatan, dilakukan dengan memasang block paraffin dalam holder, kemudian diiris tipis dengan pisau microtom 4 μ m. Untuk penempelan, kaca objek digosok dengan Mayer's albumin, kemudian ditetesi dengan air dan direntangkan diatas hotplate. Pewarnaan dengan pencelupan dilakukan dengan menggunakan alkohol absolut selama 10 menit, kemudian dimasukkan ke dalam hematoksilin Erlich selama 1-5 menit, kemudian dicelupkan ke dalam aquadest selama 1 menit untuk membersihkan. Kemudian dilanjutkan dengan memasukkan preparat ke dalam eosin selama 15 menit, lalu ke dalam alkohol 96% selama 3 menit dan alkohol absolut selama 3 menit, lalu kedalam xilol selama 10 menit. Untuk penutupan, jaringan ditutup dengan cover glass dan dikeringkan dengan thermostat. Terakhir preparat diberi label kemudian diperiksa secara mikroskopis dan dibuat foto mikroskopis. Preparat yang telah sesuai diberi label kemudian diperiksa secara mikroskopi dengan pembesaran 10x10 mm, mengamati kerusakan sel pada glomerulus, serta kondisi tertentu (Normasari et al., 2017).

Analisis data

Analisis data kadar kreatinin dan berat relatif ginjal dilakukan dengan menggunakan ANOVA satu arah dilanjutkan dilanjutkan dengan uji Duncan. Hasil dinyatakan berbeda signifikan jika $P < 0,05$.

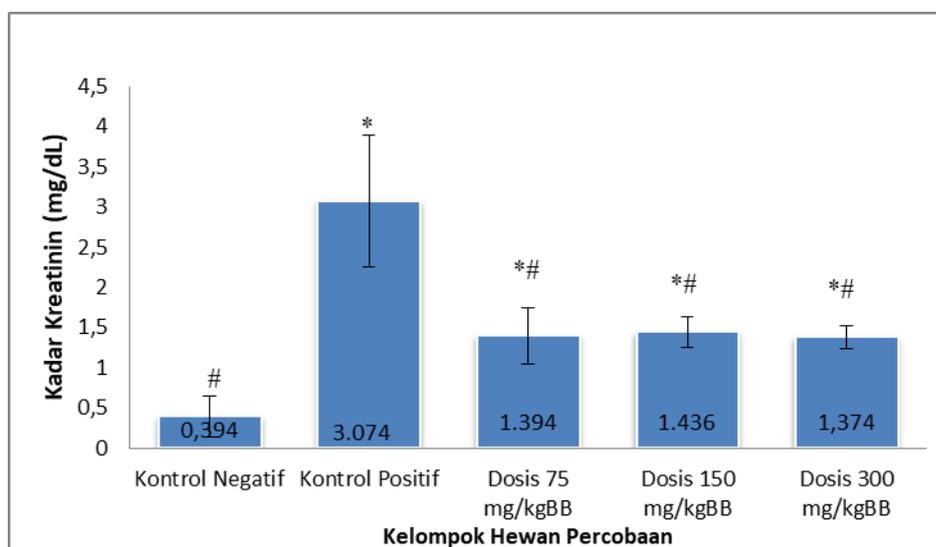
HASIL DAN PEMBAHASAN

Penapisan fitokimia yang dilakukan terhadap ekstrak etanol daun ceri menunjukkan bahwa daun ceri mengandung senyawa flavonoid, saponin dan fenolik. Penapisa fitokimia dilakukan untuk memberikan informasi golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan kemungkinan efek farmakologis dari ekstrak. Hasil lengkap penapisan fitokimia dari ekstrak etanol daun ceri tercantum pada tabel I.

Tabel I. Hasil Penapisan Fitokimia Ekstrak Etanol Daun Ceri

| No | Kandungan kimia | Pereaksi | Pengamatan | Hasil |
|----|-----------------|---|--------------------------------|-------|
| 1. | Alkaloid | Mayer | Kabut putih – Endapan putih | – |
| 2. | Flavonoid | Mg/HCl | Jingga merah | + |
| 3. | Terpenoid | Anhidrat asetat/H ₂ SO ₄ | Putih hijau | – |
| 4. | Steroid | Anhidrat asetat/H ₂ SO ₄ | Putih | – |
| 5. | Fenolik | FeCl ₃ | Hijau tua | + |
| 6. | Saponin | Air | Berbusa (tahan 15 menit) | + |

Hasil pengukuran terhadap kadar kreatinin rata-rata pada masing-masing kelompok hewan uji ditunjukkan oleh gambar 1.



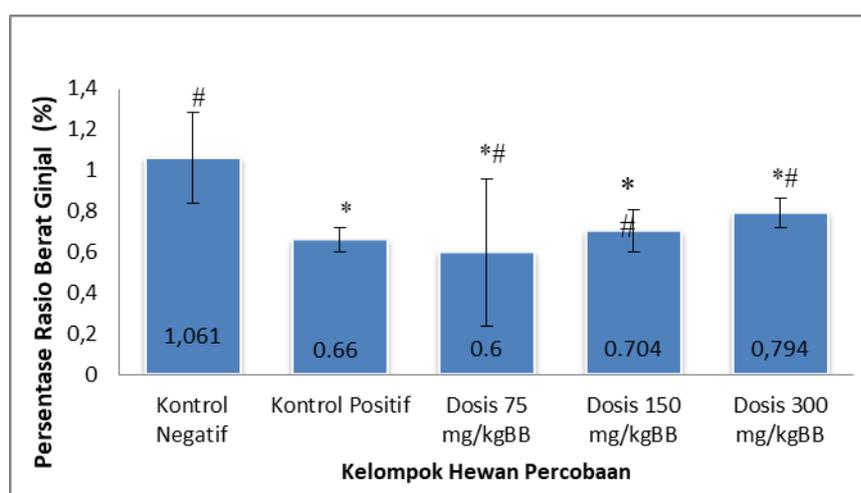
Gambar 1. Diagram kadar kreatinin serum rata-rata hewan uji
Keterangan : * = Berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif
= Berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif

Dari hasil ini dapat dilihat bahwa kadar kreatinin paling rendah ada pada kelompok I yang merupakan kelompok kontrol negatif atau hewan yang tidak diinduksi dengan gentamisin, dimana kadar kreatininnya (0,394 mg/dL) merupakan gambaran dari kadar kreatinin normal dalam darah. Sementara itu, kadar kreatinin tertinggi sebesar 3,074 mg/dL pada kelompok II yang merupakan kelompok kontrol positif, atau hewan uji yang diinduksi dan tidak diberi zat nefroprotektor merupakan gambaran kadar kreatinin pada hewan uji yang mengalami efek nefrotoksik dari gentamisin. Selanjutnya secara berturut-turut terlihat penurunan kadar kreatinin darah pada hewan uji yang diinduksi gentamisin dan diberikan ekstrak etanol daun ceri dengan dosis 75,150, dan 300 mg/kgBB. Hal ini menunjukkan bahwa terdapat efek nefroprotektif dari ekstrak daun ceri yang ditandai dengan turunnya kadar kreatinin plasma sebagai indikator kerusakan ginjal. Dari hasil analisa statistic dapat dilihat bahwa penurunan kadar kreatinin yang diakibatkan oleh pemberian ekstrak daun ceri mencapai nilai berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif yang tidak diberi nefroprotektor, meskipun tidak sampai mencapai nilai yang sama dengan kadar kreatinin normal. Selain itu, tidak terdapat perbedaan signifikan kadar kreatinin pada ketiga kelompok dosis.

Aktivitas nefroprotektif dari daun ceri diduga kuat berhubungan dengan aktivitas antioksidannya. Senyawa golongan flavonoid dapat mencegah stress oksidatif di ginjal dengan cara meningkatkan aktivitas antioksidan glutathion S- transferase (GSH), meningkatkan sintesis GSH, dan memerangkap secara langsung ROS dengan cara mendonorkan atom H dari gugus hidroksil (OH) ke senyawa radikal bebas sehingga senyawa radikal bebas yang terbentuk tidak reaktif dan sementara itu senyawa flavonoid yang menjadi

donor berubah menjadi senyawa flavonoid radikal yang akan berikatan dengan senyawa flavonoid radikal lainnya menjadi bentuk yang tidak reaktif sehingga dapat digunakan sebagai nefroprotektif (Dahal & Mulukuri, 2015). Data uji aktivitas antioksidan IC50 dari daun ceri Aktivitas antioksidan dari daun ceri telah dibuktikan dalam penelitian ilmiah. Daun ceri segar, kering, dan rontok masing-masing menunjukkan IC50 sebesar -291187,5 mg/L, -48958,9 mg/L, dan -235305,6 mg/L (Pamungkas et al., 2016). Antioksidan adalah zat yang mampu memberikan satu elektron kepada radikal bebas sehingga bersifat netral. Antioksidan menstabilkan radikal bebas dengan melengkapi kekurangan elektron yang dimiliki radikal bebas, dan menghambat terjadinya reaksi berantai dari terbentuknya radikal bebas. Antioksidan dapat digunakan sebagai peredam radikal yang bermanfaat apabila setelah bereaksi dengan radikal bebas, akan menghasilkan radikal baru yang stabil atau senyawa bukan radikal (Birben et al., 2012)

Hasil penimbangan berat organ ginjal pada hewan dalam setiap kelompok menunjukkan ditunjukkan oleh gambar 2.



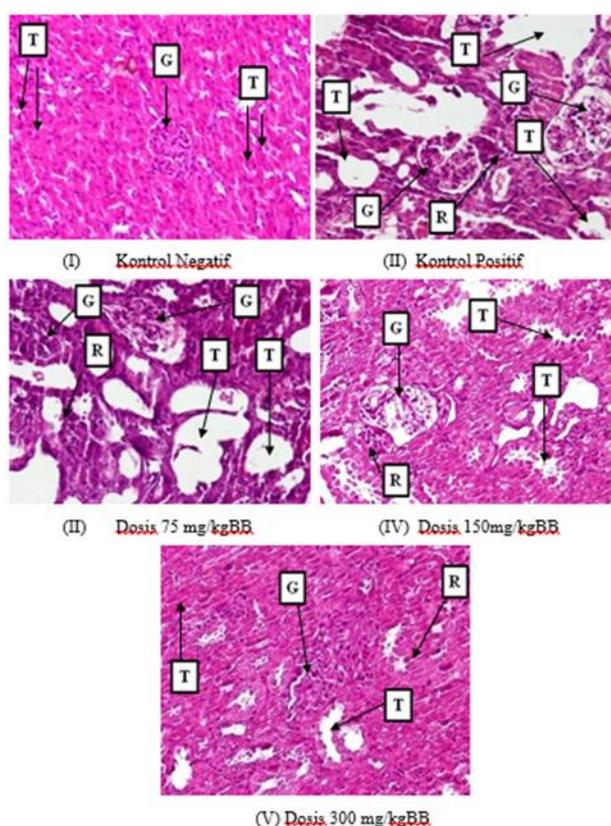
Gambar 2. Berat relatif rata-rata ginjal hewan uji

Keterangan : * = Berbeda signifikan dengan kelompok kontrol negatif

= Berbeda signifikan dengan kelompok kontrol positif

Dari hasil pengukuran berat organ ginjal, dapat dilihat bahwa kelompok hewan yang diinduksi gentamisin mengalami penurunan berat relative organ ginjal disbanding dengan organ ginjal hewan normal yaitu 0,66% dibanding 1,061%. Hal ini menunjukkan bahwa pada hewan yang diinduksi gentamisin terjadi penurunan massa organ yang diakibatkan oleh efek toksik dari gentamisin terhadap sel-sel ginjal. Pemberian ekstrak daun ceri dengan dosis 75, 150 dan 300 mg/kg dapat meningkatkan berat relatif ginjal secara signifikan disbanding hewan control positif, meskipun tidak dapat mencapai berat relatif pada kelompok hewan normal. Selain itu, juga tidak terdapat perbedaan berat ginjal relative yang signifikan pada setiap kelompok dosis.

Hasil pengamatan secara histopatologi terhadap organ ginjal hewan uji menunjukkan bahwa terdapat perbedaan histopatologi pada masing-masing kelompok hewan uji. Pada kelompok I (kontrol negatif), sel epitel tubuli nampak normal, tidak terjadi infiltrasi, kongesti dan terlihat regenerasi normal. Pada kelompok II (kontrol positif) sebagian besar sel epitel tubuli mengalami degenerasi, dilatasi tubuli, terjadinya infiltrasi sel radang pada glomerulus dan interstisial di sekitar tubuli serta terjadi kongesti hebat. Pada kelompok III (Dosis 75 mg/kgBB) terlihat berkurangnya dilatasi tubuli, serta degenerasi sel, adanya infiltrasi sel radang sedang, kongesti jaringan menurun, dan pada epitel tubuli terjadi regenerasi sel. Pada kelompok IV (dosis 150 mg/kgBB) terlihat berkurangnya dilatasi tubuli, serta degenerasi sel, adanya infiltrasi sel radang ringan, kongesti jaringan menurun, pada epitel tubuli terjadi regenerasi sel. Sedangkan pada kelompok V (dosis 300 mg/kgBB) berkurangnya dilatasi tubuli, serta degenerasi sel, adanya infiltrasi sel radang ringan, kongesti jaringan menurun, pada epitel tubuli terjadi regenerasi sel (gambar 3).



Gambar 3. Gambaran histopatologi organ ginjal pada setiap kelompok
Keterangan: (T) Tubulus, (G) Glomerulus, (R) Infiltrasi

Dari gambaran histopatologis tersebut, dapat dilihat bahwa jaringan organ ginjal pada kelompok V merupakan jaringan yang paling mendekati histologi dari organ ginjal normal (kelompok I), atau dengan kata lain ekstrak daun ceri pada dosis 300 mg/kg memberikan perlindungan paling baik terhadap toksisitas gentamisin pada ginjal tikus.

SIMPULAN

Ekstrak daun ceri (*Muntingia calabura* L.) mengandung metabolit sekunder golongan flavonoid, fenolik dan saponin dan memiliki efek nefroprotektif terbaik terhadap toksisitas gentamisin pada dosis 300 mg/KgBB

DAFTAR PUSTAKA

- Aniagu, S. O., Nwinyi, F. C., Akumka, D. D., Ajoku, G. A., Dzarma, S., Izebe, K. S., Ditse, M., Nwaneri, P. E. C., Wambebe, C., & Gamaniel, K. (2005). Toxicity studies in rats fed nature cure bitters. *African Journal of Biotechnology*. <https://doi.org/10.5897/AJB2005.000-3022>
- Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., & Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. In *World Allergy Organization Journal*. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- Dahal, A., & Mulukuri, S. (2015). Flavonoids in kidney protection. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(03), 362–382.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia Edisi I. Farmakope Herbal Indonesia*.
- Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods A Guide To Modern Tecniques Of Plant Analysis, Third Edition*. Chapman & Hall.
- Ninditya et. al. (2016). Pengaruh Ekstrak Daun Kersen (*Muntingia calabura*) Terhadap Gambaran Mikroskopis Hepar Tikus Wistar. *Jurnal Kedokteran Diponegoro*, 5(4), 871–883.
- Normasari, R., Dewi, R., & Rachmana, S. (2017). Efek Ekstrak Daun Singkong terhadap Perbaikan Struktur dan Fungsi Ginjal Mencit yang Diinduksi Gentamisin. *Journal of Agromedicine and Medical Science*, 5(3), 117-182.
- Pamungkas, J. D., Anam, K., & Kusrini, D. (2016). Penentuan Total Kadar Fenol dari Daun Kersen Segar, Kering dan Rontok (*Muntingia calabura L.*) serta Uji Aktivitas Antioksidan dengan Metode DPPH. *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 19(1), 15. <https://doi.org/10.14710/jksa.19.1.15-20>
- Rahmawati, et. al. (2018). Intracellular antioxidant activity of *Muntingia calabura* leaves methanolic extract. *Nusantara Bioscience*, 10(4), 210–214. <https://doi.org/10.13057/nusbiosci/n100402>
- Sulaiman, et. al. (2017). Hal 1-6.) Uji Anti Bakteri Ekstrak daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Koloni *Streptococcus viridians*. *Indones. J. Heal.Sci*, 01(02), 1–7.
- Triswanto, S., & Pangestu, S. (2016). Uji Efek Analgesik Ekstrak Etanol Daun Kersen (*Muntingia calabura L.*) pada Mencit Putih Jantan. *Jurnal Ilmiah Manutung*, 2(2), 147–153.
- Verdayanti, T. E. (2009). Uji Efektifitas Jus Buah Kersen (*Muntingia calabura L.*) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). Universitas Muhammadiyah Malang, 4330035.