

UJI EFEK TERATOGENIK FRAKSI BUTANOL BUAH MAHKOTA DEWA [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] TERHADAP MENCIT PUTIH (*Mus Musculus L*)

Aprilita Rinayanti., Ema Dewanti, Vera*)
*)Fakultas Farmasi Universitas 17 Agustus 1945 Jakarta

Abstrak

Telah dilakukan uji efek teratogenik fraksi butanol buah mahkota dewa dengan menggunakan mencit betina berumur \pm 12 minggu dengan berat badan 20-30 gram. Pemberian fraksi butanol buah mahkota dewa secara oral dilakukan terhadap 24 ekor mencit yang terbagi dalam 4 kelompok perlakuan yaitu kelompok normal (KN) dengan aquadest; kelompok perlakuan 0,5 g/kg BB (KE1); 1 g/kg BB (KE2); 2 g/kg BB (KE3). Mencit diaklimatisasi selama 2 minggu, dikawinkan pada masa estrus lalu dipisah. Pemberian fraksi butanol dilakukan pada hari ke-1 sampai hari ke-17 kehamilan. Pada hari ke-18 kehamilan, mencit dibedah untuk pengambilan fetus, lalu diamati satu persatu untuk melihat adanya kecacatan fisik yang terjadi baik berupa abnormalitas jumlah, bentuk, ukuran maupun eksistensi organ-organ fisiknya dibandingkan kontrol normal. Data kuantitatif dianalisis menggunakan analisis varian (ANOVA) satu jalur dengan signifikansi 5% dan dilanjutkan dengan metode *Least Significant Different* (LSD) untuk mengetahui letak perbedaan. Pada pemeriksaan terhadap fetus dapat disimpulkan bahwa fraksi butanol buah mahkota dewa dapat memberikan efek kelainan morfologi (kerdil) dan resorpsi.

Kata kunci : Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.], Teratogenik, mencit putih (*Mus Musculus L*).

Abstract

Already conducted research from effect of giving *butanol* fraction of [*Phaleria macrocarpa*] (Scheff.) Boerl] to *Mus Musculus L*. In this study is using female rats age \pm 12 weeks with weight 20-30 gram. Giving *butanol* fraction of *Phaleria macrocarpa* orally is performed to 24 rats which divided into 4 treatment group that is normal group (KN) with aquadest; treatment group 0.5 g/kg BB (KE1); 1 g/kg BB (KE2); 2 g/kg (KE3). Rats is acclimated during 2 weeks, it is married in estrus period then separated. Giving *butanol* fraction is performed in 1st day until 17th pregnant day. In 18th pregnant day, rats is surged to taking it's fetus, next is observed one by one to look existence physical defect which occur in both abnormality of form, size or existence of physical organ compared with normal control group. Quantitative data is analyzed using One-Way variant analysis (ANOVA) with significance level 5%, and continued with *Least Significant Different* (LSD) method to know different level. In examination to fetus can be concluded that *butanol* fractional of *Phaleria macrocarpa* can cause morphology abnormal effect (stunted) and resorption.

Keyword : *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl, Teratogenic, *Mus Musculus L*).

PENDAHULUAN

Masyarakat saat ini menunjukkan kecenderungan untuk mencapai hidup sehat dengan menggunakan bahan-bahan yang berasal dari alam, salah satunya dengan menggunakan obat-obatan yang berasal dari bahan alam. Hal ini ditandai dengan permintaan obat-obatan dari bahan alam yang meningkat pesat (Kuswara, 2000).

Salah satu tanaman asli Indonesia yang berkhasiat sebagai obat dan sedang marak digunakan oleh sebagian masyarakat adalah mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)Boerl.]. Mahkota dewa mengandung senyawa kimia alkaloida, saponin, polifenol pada daun, sedangkan buahnya selain alkaloida dan saponin juga mengandung flavonoid dan tanin yang berkhasiat untuk antihistamin, antioksidan, asam urat, lever, rematik,

kencing manis, ginjal, tekanan darah tinggi sampai kanker (Harmanto, 2003). Senyawa kimia tersebut diduga berperan sebagai konstituen yang menghasilkan aktivitas penghambat enzim konversi angiotensin oleh daging buah mahkota dewa. Meskipun demikian, tanpa adanya acuan informasi ilmiah yang mendukung, maka penggunaan tanaman mahkota dewa akan tetap menjadi sangat terbatas sehingga pemanfaatannya sebagai suatu bentuk pengobatan antihipertensi menjadi tidak optimal (Zaini dkk., 2000).

Efek suatu bahan sangat erat kaitannya dengan senyawa kimia yang terkandung dalam bahan tersebut. Dalam kulit buah mahkota dewa terkandung senyawa alkaloid, saponin, dan flavonoid, sedangkan daunnya mengandung senyawa alkaloid, saponin serta polifenol (Gaotama dkk,1999). Di antara senyawa-senyawa tersebut flavonoid memiliki bermacam-macam efek, yaitu efek antitumor, immunostimulan, antioksidan, analgesik, antiinflamasi, antivirus, antibakteri, antifungi, antidiare, antihepatotoksik, antihiperlipidemik, dan sebagai vasodilator (de Padua *et al*,1993; Willman, 1995 dalam Sumastuti dan Sonlimar, 2002).

Pada penelitian sebelumnya telah menunjukkan bahwa ekstrak buah maupun ekstrak daun mahkota dewa mempunyai efek sitosoksik terhadap sel-sel hela, dan efek ekstrak buah lebih besar 4 kali dari pada efek ekstrak daunnya. Bahan yang mempunyai efek sitotoksik, berpotensi untuk mematikan sel dan bersifat sebagai teratogen yang dapat menyebabkan kelainan atau cacat pada (Sumastuti dan Sonlimar, 2002).

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat

Kertas saring, timbangan analitik, pisau, gelas ukur, pipet tetes, gelas arloji, aluminium foil, spatula, gelas beaker, tabung reaksi, kandang untuk pemeliharaan mencit beserta tempat minum, spuit 1 ml, sonde oral, pinset, gunting bedah, pot plastik, papan parafin, koran, sarung tangan, jarum pentul, kamera digital, cotton bud, objek glas, mikroskop, *rotary evaporator*, corong, obor.

Bahan

Daging buah mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa L*), Hewan uji mencit betina putih dan jantan (*Mus musculus L*) yang sudah matang kelamin, Aquadest, CMC 0,5%, NaCl 0,9%, aqua, formalin buffer, eter, alkohol 70%, asam asetat anhidrat, asam sulfat, kalium hidroksida, Besi (III) klorida, pereaksi Dragendroff, pereaksi Mayer, pereaksi Bouchardad, asam klorida, natrium hidroksida, amonium hidroksida, kloroform, logam Mg, kalium permanganat, amil alkohol.

Pembuatan Ekstrak Sampel

Simplisia kering *Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl yang telah dihaluskan, diekstraksi dengan metode maserasi mula-mula menggunakan methanol 80%. Selanjutnya ekstrak metanol dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* sehingga diperoleh ekstrak kental metanol. Ekstrak metanol pekat difraksinasi dengan heksan menghasilkan fraksi heksan dan ampas. Ampas yang diperoleh difraksinasi dengan etil asetat menghasilkan fraksi etil asetat dan ampas. Selanjutnya ampas dari fraksinasi etil asetat difraksinasi dengan butanol menghasilkan fraksi butanol dan ampas. Sisa larutan yang tidak tertarik pada pelarut etil asetat dan metanol dinamakan fraksi air.

Pemeriksaan Kandungan Kimia

Penapisan fitokimia dilakukan terhadap senyawa kimia golongan alkaloid, flavonoid, fenol, saponin, tanin, dan sterol – triterpenoid (Culei, 1984), serta lemak dan glikosida (Anonim, 1989).

Perlakuan

Hewan uji dikawinkan pada masa estrus, bila ditemukan sumbat vagina keesokan harinya, maka dianggap mencit berada pada kehamilan ke-nol. Mencit betina yang telah hamil dipisahkan dari yang belum hamil. Mencit betina yang hamil dibagi menjadi 4 kelompok perlakuan, yaitu: kelompok kontrol diberi aquadest; kelompok perlakuan berikutnya diberi dosis 0,5; 1; 2 g/kg BB. Pemberian senyawa dilakukan pada hari ke 1-17 kehamilan.

Pengamatan Efek Teratogen

Pembedahan dilakukan pada hari ke-18 kehamilan. Fetus dikeluarkan dan diamati apakah terjadi resorpsi, lahir mati dan kelainan morfologis.

Hasil dan Pembahasan

Hasil pemeriksaan kandungan kimia pada fraksi butanol daging buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] menunjukkan adanya kandungan senyawa alkaloid, tannin, saponin, fenolik, flavonoid, triterpenoid dan glikosida.

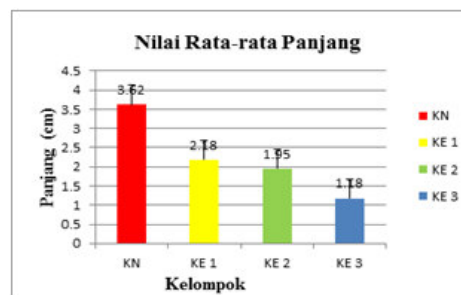
Jumlah Fetus

Tabel 1. Nilai Rata-rata Jumlah Fetus pada Tiap Kelompok Dosis (ekor)

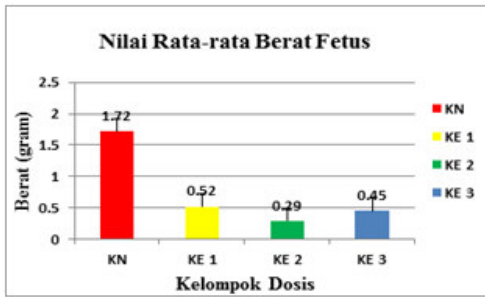
Kelompok	Rerata
KN	11,33
KE 1	9,67
KE 2	9,17
KE 3	8,17

Hasil penelitian menunjukkan bahwa peningkatan dosis fraksi butanol buah mahkota dewa cenderung diikuti dengan menurunnya jumlah fetus. Perbedaan yang bermakna ($p < 0,05$ yang berarti ada perbedaan perlakuan) terlihat pada perlakuan terhadap hewan uji dengan pemberian dosis 3. Fetus mengalami resorpsi pada pemberian dosis 3. Jumlah fetus mengalami resorpsi seiring dengan meningkatnya dosis fraksi yang diberikan. Resorpsi fetus merupakan salah satu indikasi agen teratogenik (Santoso, 2006)

Berat dan Panjang Fetus



Gambar 1. Grafik Nilai Rata-rata Panjang Fetus



Gambar 2. Grafik Nilai Rata-rata Berat Fetus

Nilai rata-rata bobot dan panjang fetus cenderung menurun dengan meningkatnya dosis. Secara statistik antara kelompok normal dengan kelompok perlakuan menunjukkan perbedaan yang bermakna secara statistik ($p < 0,05$). Peningkatan dosis tidak berpengaruh terhadap peningkatan jumlah korpora luteum. Bobot badan adalah parameter penting untuk mengetahui pengaruh senyawa asing terhadap fetus. Laju pertumbuhan dan perkembangan fetus menunjukkan variasi ukuran anakan. Penurunan bobot badan fetus merupakan bentuk yang paling minimal dari ekspresi teratogenik dan merupakan parameter yang lebih sensitif untuk uji teratogenik (Yantrio dkk, 2002). Pengamatan terhadap fetus juga menunjukkan adanya kelainan fetus, yaitu fetus berukuran kerdil.



Gambar 3. Fetus Normal (A), Fetus Kerdil (B,C,D), Fetus yang mengalami resorpsi (E)

Pembahasan

Pada penelitian ini, simplisia yang digunakan adalah bagian daging buah mahkota dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] yang diperoleh dari Badan Penelitian Tanaman Rempah dan Obat (BALITRO) dan telah dideterminasi oleh Lembaga Ilmu Pegetahuan Indonesia, Cibinong. Tujuan dari determinasi tumbuhan ini adalah untuk menunjukkan bahwa simplisia yang digunakan adalah benar dari spesies *Phaleria macrocarpa* [Scheff.] Boerl.) dan berasal dari suku Thymelacea (Lampiran 1).

Sampel daging buah mahkota dewa dipilih sebagai bahan uji karena bagian tersebut merupakan bagian tanaman yang paling banyak digunakan sebagai obat tradisional untuk menurunkan tekanan darah yang umumnya dilakukan dengan cara seperti membuat seduhan teh (Harmanto, 2001).

Daging buah mahkota dewa yang digunakan dalam penelitian dipilih dari buah yang telah masak dan berwarna merah marun. Pemilihan jenis buah yang telah masak mengacu pada penggunaan secara empiris oleh masyarakat. Buah yang masak secara umum menunjukkan kadar kandungan metabolit sekunder yang paling tinggi, sehingga pengujian aktivitas biologi terhadap senyawa metabolit sekunder tanaman dapat terwakili dengan sempurna (Lisdawati, 2002). Hasil uji farmakologi terdahulu melaporkan bahwa efek teratogenik mencapai puncaknya dalam ekstrak yang berasal dari buah yang masak dibandingkan dengan ekstrak buah yang masih muda (Sumastuti, 2003).

Daging buah mahkota dewa yang diperoleh pertama dicuci dengan air mengalir yang bertujuan agar kotoran-kotoran atau bahan asing lainnya ikut terbuang bersama aliran air kemudian dilakukan pengeringan untuk mendapatkan simplisia yang tidak mudah rusak, karena dengan mengurangi kadar air dapat mencegah penurunan mutu atau kerusakan simplisia dari pembusukan (Anonim, 1985).

Setelah pengeringan, simplisia disortir kembali dari pengotor yang tertinggal dan dijadikan serbuk dengan menggunakan blender agar luas permukaan bertambah sehingga mempermudah penarikan senyawa kimia saat dilakukan proses ekstraksi.

Cara maserasi dipilih karena metode maserasi merupakan salah satu metode ekstraksi cara dingin yang mudah dilakukan karena alat/caranya sederhana, dan memungkinkan senyawa aktif yang terkandung di dalam simplisia tidak rusak karena cara dingin dapat digunakan untuk simplisia yang tahan/tidak tahan akan pemanasan. Bila dibandingkan dengan metode cara dingin lain (perkolasi), metode maserasi dinilai lebih efisien karena metode perkolasi membutuhkan waktu ekstraksi dan pelarut yang lebih banyak (Anonim, 2000).

Dalam penelitian ini digunakan mencit betina berumur ± 12 minggu. Mencit dengan umur tersebut merupakan mencit dewasa muda yang mempunyai keadaan fisiologis optimum. Sebelum digunakan mencit diadaptasi selama 2 minggu. Tujuannya agar mencit dapat menyesuaikan diri dengan lingkungan selama penelitian berlangsung. Mencit yang dipilih untuk penelitian adalah mencit yang sehat dengan ciri-ciri bulu bersih bercahaya, mata jernih bersinar, tingkah laku normal dan berat badan bertambah selama adaptasi. Selama penelitian semua mencit diberi makan dan minum cukup dengan takaran yang sama untuk setiap kandang.

Sebelum dikawinkan mencit betina di periksa dulu masa estrusnya dengan metode apus vagina. Masa estrus ditandai dengan banyaknya sel epitel berinti. Pemberian sediaan uji dilakukan pada hari ke-1 sampai hari ke-17 kehamilan yaitu pada tahap embriogenesis, dimana fetus sangat rentan pada zat teratogen. Pembedahan dilakukan pada hari ke-18, satu hari sebelum lahir normal karena untuk mencegah induk mencit memakan fetus yang lahir cacat.

Teratologi terdiri dari kondisi, mekanisme, wujud, dan sifat efek toksik racun. Nasib racun di dalam tubuh menggambarkan perjalanan racun sejak bersentuhan, masuk, bereaksi, dan akhirnya keluar tubuh. Proses yang mengantarkan perpindahan racun di dalam tubuh ini meliputi absorpsi, distribusi, metabolisme, dan ekskresi (Imono, 2005).

Absorpsi racun dari tempat pemejanannya melintas membran dan masuk ke dalam sirkulasi darah, dapat terjadi melalui kulit, paru, dan saluran cerna. Absorpsi racun melintasi membran dapat berlangsung melalui mekanisme filtrasi pori, difusi pasif, transport aktif, transpor yang dipermudah, fagositosis, dan pinositosis (Imono, 2005).

Distribusi dari sirkulasi darah ke suatu tempat di dalam tubuh, merupakan proses yang mengantarkan racun sampai ke tempat aksi tertentu di dalam tubuh. Tempat distribusi ini dapat berupa jaringan, organ, lemak, tulang dan lain sebagainya. Beberapa faktor penting yang dapat mempengaruhi keefektifan distribusi racun, diantaranya ikatan protein, keterlaluhan lipid, dan kecepatan alir darah (Imono, 2005).

Eliminasi racun dari dalam tubuh berlangsung dengan proses metabolisme atau ekskresi. Metabolisme atau perubahan hayati racun menjadi sesuatu metabolit yang secara kimia berbeda dengan zat kimia induk, terutama terjadi dalam hati. Keefektifan metabolisme racun dan ketosikannya dipengaruhi oleh aneka ragam faktor seperti faktor intrinsik xenobiotik, fisiologi, farmakologi, patologi, susunan makanan, dan lingkungan. Dan jenis pengaruh aneka ragam faktor tersebut, bergantung pada sifat metabolit xenobiotika yang terbentuk, dapat menurunkan atau meningkatkan ketoksikan racun (Imono, 2005).

Evaluasi efek teratogen mempunyai beberapa kategori di antaranya adalah aberasi, resopsi dan toksisitas janin. Aberasi adalah cacat morfologik meliputi struktur luar dan/atau dalam. Selain itu, mungkin terdapat kelainan fungsional.

Contohnya, adanya tulang rusuk tambahan dan kelainan pada penulangan sternum mungkin sedikit efeknya atau tidak nampak pada morfologi luar, aktivitas fungsional, atau kelangsungan hidup janin (Lu, C. F, 1995).

Resorpsi adalah manifestasi kematian hasil konsepsi. Resorpsi fetus merupakan salah satu indikasi agen teratogenik. Semakin tinggi tingkat dosis pada kisaran dosis embriotoksik, akan mengakibatkan terjadinya respon yang tingkatannya lebih tinggi, berkisar dari hambatan pertumbuhan, malformasi, sampai kematian intrauterin, dan resorpsi (Santoso, 2006).

Toksisitas janin tampak dari berkurangnya berat badan janin yang tidak bertahan hidup. Data ini sering digunakan sebagai penyokong dalam menilai teratogenisitas toksikan tersebut (Lu, C. F, 1995).

Pada pemberian fraksi butanol buah mahkota dewa terhadap mencit terlihat adanya efek teratogenik karena fetus-fetus yang diperoleh mengalami penurunan jumlah, berat badan dan panjang seiring dengan meningkatnya dosis yang diberikan jumlah fetus hidup menurun dengan meningkatnya dosis fraksi yang di berikan. Kematian fetus tidak terjadi pada setiap induk karena kemampuan yang berbeda dari masing-masing induk dalam memetabolisir fraksi butanol buah mahkota dewa. Teratogen tertentu dapat mempengaruhi pasokan energi yang dipakai untuk metabolisme dengan cara langsung mengurangi persediaan substrat (misalnya defisiensi makanan) atau bertindak sebagai analog atau antagonis vitamin, asam amino esensial, dan lainnya. Selain itu, hipoksia dan zat penyebab hipoksia (CO,CO₂) dapat bersifat teratogen dengan mengu-rangi oksigen dalam proses metabolisme yang membutuhkan oksigen dan mungkin juga menyebabkan ketidakseimbangan osmolaritas. Hal ini dapat menyebabkan edema dan hematoma, yang pada gilirannya dapat menyebabkan kelainan bentuk dan iskemia jaringan (Lu, C. F, 1995).

Rerata berat dan panjang fetus berbeda nyata antara kontrol dengan perlakuan, sementara antar dosis perlakuan tidak berbeda nyata. Penurunan berat dan panjang tubuh fetus adalah bentuk teringan dari efek agensia teratogenik dan merupakan parameter yang sensitif (Yantrio dkk, 2002).

Gangguan perkembangan individu dalam uterus menyebabkan kelainan antara lain kelahiran dengan berat badan tidak normal. Berkurangnya berat dan panjang fetus adalah indikasi adanya hambatan pertumbuhan fetus. Hambatan pertumbuhan terjadi bila agen mempengaruhi proliferasi sel, interaksi sel, dan pengurangan laju biosintesis berkaitan dengan hambatan sintesis asam nukleat, protein atau mukopolisakarida (Yantrio dkk, 2002).

Individu yang mengalami malformasi (kecacatan) umumnya lebih kecil dibandingkan individu normal. Oleh karena itu sebelum menyatakan adanya abnormalitas pada suatu individu maka berat hewan perlakuan harus dibandingkan dulu dengan kontrol untuk memastikan bahwa hambatan pertumbuhan suatu organ merefleksikan hambatan pertumbuhan secara umum. Beberapa agen teratogen juga dapat mengakibatkan kelainan visceral maupun skeletal tanpa menunjukkan adanya kelainan morfologi eksternal (Santoso, 2006).

Kesimpulan

Fraksi Butanol Buah Mahkota Dewa [*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.] pada dosis 2 g/kg BB memiliki efek teratogenik pada mencit putih (*Mus Musculus* L) berupa kelainan morfologi (kerdil) dan resorpsi.

Daftar Pustaka

A, Almahdy, Febrianti, Rika., dan Djamal, Rusjdi. (2008). Efek Fetotoksisitas Ekstrak Biji Mahkota Dewa (*Phaleriamacrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada mencit. Universitas Andalas., Padang.

Anfiandi, Venty. (2013). *Uji Teratogenik Infusa Daun Pegagan (Centella asiatica [L.] Urban) pada Mencit Betina (Mus musculus)*, Fakultas Farmasi, Universitas Surabaya, Vol. 2 No. 1.

Anonim, 1985. *Cara Pembuatan Simplisia, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Anonim, (1995). *Materia Medika Indonesia*, Jilid VI, Departemen Kesehatan Republik Indonesia (Dep Kes RI), Jilid V, Jakarta: 143-147.

Anonim, (1995). *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia.

Anonim, (2000). *Parameter Standart Umum Ekstrak Tumbuhan Obat, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan makanan*, Departemen Kesehatan RI, Jakarta.

Harmanto, N. (2001), *Mahkota Dewa Obat Pusaa Para Dewa*, Agro Media Pusaka, Jakarta. hlm: X + 54.

Harmanto, N. (2003), Potensi Mahkota Dewa sebagai Obat Tradisional, dalam *Seminar Sehari Mahkota Dewa*, 6 Agustus 2003, Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional Balitbang Kes, Dep Kes RI., Jakarta.

Harmita, (2006). *Analisis Kuantitatif Bahan Baku dan Sediaan Farmasi*. Depok : Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.

Hutapea, J.R. I. Gotama, and M. Nurhadi, (1999), *Inventaris Tanaman Obat Indonesia*, Jilid V, Dep Kes R.I., Badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan, hlm: 147-148.

Kardono, L.B.S. (2003), Kajian Kandungan Kimia Mahkota Dewa, dalam: *Seminar Sehari Mahkota Dewa*, 6 Agustus 2003, Puslitbang Farmasi dan Obat Tradisional Balitbang Kes, Dep Kes R.I., Jakarta.

Kuswara, H.M.U. (2000). Pengembangan Obat dari Bahan Alam di PT. Kimia Farma, *Warta Tumbuhan Obat Indonesia*, Vol. 6, No. 2, hlm 16-22.

Lisdawati, V., (2002), BSLT, Bioassai Antikanker in Vitro dengan Sel Leukimia, dan Isolasi Serta Penentuan Struktur Molekul Senyawa Kimia dari Buah Mahkota Dewa, *Tesis S-2*, Jurusan Farmasi, FMIPA UI, 107 hlm.

Malole, M.B.M and C.S.U. Pramoni. (1989). *Pemeliharaan, Pembiakan dan penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. UI Press, Jakarta: 276.

Muna, Lintal, Okid Parama Astirin dan Sugiyarto. (2009). Uji Teratogenik Ekstrak Pandanus conoideus Variatus Buah Kuning terhadap Perkembangan Embrio Tikus Putih (*Rattus norvegicus*). *Bioteknologi*, 8 (2): 65-77.

Pearce, E.C. (2002), *Anatomi Dan Fisiologi Untuk Paramedis, Terj. Anatomy & Physiology for Nurses oleh Sri Yuliani Handono*, PT. Gramedia Pustaka Utama, Jakarta. Hal 121-130;141-143

Purwantini, I. E.R.Setyowati, and T. Hertiani, (2002), *Uji Toksisitas Ekstrak Etanol Buah, Biji, Daun Mahkota Dewa Terhadap Aritmia Salina Leach Dan Profil KLT Ekstrak Aktif*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 13 (20, hlm 101-106.

Putri, Diana. (2012), Uji Teratogenik Ekstrak Daun Mahkota Dewa (*Phaleria macrocarpa*) Terhadap Perkembangan Mencit. Universitas Sebelas Maret., Surakarta .

Rinayanti, A., Widayanti, Victor,S. (2010). Uji Efek Ekstrak etanol daging buah mahkota (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada tikus putih jantan. *Jurnal Bahan Alam Indonesia*, 7(2), 63-67.

Ritiasa, Ketut. (2000). *Parameter Standard Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Departemen Kesehatan R.I., Jakarta. Hal:9.

Setyawati, Iriani, Dwi, Ariani, Yulihastuti. (2011). *Penampilan Reproduksi dan Perkembangan Skeleton Fetus Mencit Setelah Pemberian Ekstrak Buah Nanas Muda*, Fakultas Biologi, Universitas Udayana, Jurnal Ilmiah, Vol. 12 No. 3.

Sherley, Napitupulu, R, Wisaksono, S.L., *et al* (2008). Taksonomi, koleksi tanaman obat, kebun tanaman Obat Citeureup Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia Deputi Bidang Pengawasan Obat Tradisional, Kosmetik, dan Produk Komplemen.

Smith, Jhon. B.V. SC and Mangkoewidjojo, Soesanto. (1988). *Pemeliharaan Pembiakan dan Penggunaan Hewan Percobaan di Daerah Tropis*, Press Universitas Indonesia: 10-36.

Sumastuti, R.(2003), *Penelitian-Penelitian Terhadap Daun dan Buah Mahkota Dewa, dalam: Seminar Sehari Mahkota Dewa, 6 Agustus 2003, Pustlibang Farmasi dan Obat Tradisional Balitbang Kes, Dep Kes R.I., Jakarta*.

Tiwari, P, Bimles, K, Mandeep, and K, Gurpreet, K.(2011). *Photochemical Screening And Extracction: A Review*. International Pharmaceutical Science, jan-march, Vol-1, Ussue 1, hal 1-9.

Triastuti, A.Choi, J W. (2008), *Protective Effects of Ethyl Acetate Fraction of Phaleria Macrocarpa (Scheff) Boerl. On Oxidative Stress Associated with Alloxan-Induced Diabetic Rats*, Department of Pharmacy, Islamic University of Indonesia, Jurnal Ilmiah Farmasi. Vol.5 No.1.

Widyastuti, Nurul, Widiyani, Tetri., dan Listyawati, Shanti. (2006). Efek Teratogenik Ekstrak Buah Mahkota Dewa (*Phaleris macrocarpa* (Scheff.) Boerl.) pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*L.) Galur Winstar. Universitas Sebelas Maret., Surakarta.