

Vol. 18, No. 2 Maret 2012

ISSN 0854-4263

INDONESIAN JOURNAL OF
**Clinical Pathology and
Medical Laboratory**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

| | | | | | |
|---|---------|-------|-------------|------------------------|-------------------|
| IJCP & ML (Maj. Pat. Klin. Indonesia & Lab. Med.) | Vol. 18 | No. 2 | Hal. 77-146 | Surabaya Maret 2012 | ISSN 0854-4263 |
|---|---------|-------|-------------|------------------------|-------------------|

Diterbitkan oleh Perhimpunan Dokter Spesialis Patologi Klinik Indonesia

Published by Indonesian Association of Clinical Pathologists

Terakreditasi No: 66b/DIKTI/KEP/2011, Tanggal 9 September 2011

INDONESIAN JOURNAL OF
**CLINICAL PATHOLOGY AND
 MEDICAL LABORATORY**

Majalah Patologi Klinik Indonesia dan Laboratorium Medik

DAFTAR ISI

PENELITIAN

- Korelasi Kadar Crp, TNF- α dan Bone Mineral Density dengan Carboxyterminal Crosslinked Teloepptide Type I of Collagen di Penderita Arthritis Reumatoid
 (Correlation Between CRP, TNF- α and Bone Mineral Density with Carboxyterminal crosslinked Teloepptide Type I of Collagen in Rheumatoid Arthritis Patients)
Kusworini Handono, BP Putra Suryana, Sulistyorini 77-82
- Korelasi antara Kadar Interferon- γ Plasma dengan Jumlah Viral Load di Penderita HIV
 (Correlation of Plasma Interferon- γ and Viral Load in HIV Patients)
Hermi Indita, Endang Retnowati, Erwin Astha Triyono 83-86
- Keterkaitan Antigen NS1 Infeksi Virus Dengue dengan Serotipe Virus Dengue
 (NS1 Antigen Dengue Virus Infection Associated with Serotypes of Dengue Virus)
Roudhotul Ismaillya Noor, Aryati, Puspa Wardhani 87-91
- Nilai Rujukan Free Light Chain Serum dengan Imunoturbidimetri
 (The Reference Value of Serum Free Light Chain with Immunoturbidimetry)
Lidya Utami, Riadi Wirawan, Alida R Harahap, Abdul Muthalib, Harny Edward 92-96
- Acetosal, Buah Mengkudu (*Morinda Citrifolia L.*) dan Waktu Perdarahan
 (Acetosal, Noni Fruits Extract (*Morinda citrifolia L.*) and Bleeding Time)
I Wayan Putu Sutirta Yasa, Ketut Widayani Astuti, I Gusti Made Aman 97-104
- Analisis Pola Human Leukocyte Antigen (HLA) Kelas I pada Penderita Demam Berdarah Dengue Populasi Indonesia di Jawa Timur
 (Analysis of HLA Class I on Dengue Haemorrhagic Fever Indonesian Population in East Java)
EM. Judajana, Paulus Budiono, Indah Nuraini 105-110
- Analisis Filogenetik Dengue di Indonesia
 (Phylogenetic Analysis of Dengue Virus in Indonesia)
Aryati 111-116
- Diagnostic of C-reactive Protein in Febrile Children
 (Nilai Diagnostik C-Reactive Protein pada Anak Demam)
Johanis, Aryati, Dominicus Husada, Djoko Marsudi, M. Y. Probohoesodo 117-123
- Uji Diagnostik Metode Imunositokimia NS1 Virus Dengue, untuk Diagnosis Infeksi
 (Diagnostic Test Method for Immunocytochemical NS1 of Dengue Virus, for Infection Diagnosis)
Nafiandi, Ellyza Nasrul, Rismawati Yaswir 124-128
- Eksresi Koreseptor Human Immunodeficiency Virus CCR5 dan CXCR4 pada Subset Sel Limfosit T Serta Monosit
 (Human Immunodeficiency Virus Coreceptor CCR5 and CXCR4 Expression on Lymphocyte T Subset and Monocyte)
Agnes Rengga Indrati, Hinta Meijerink, Herry Garna, Bacht Alisjahbana, Ida Parwati, Reinout van Crevel, Andre van der Venn 129-133

TELAAH PUSTAKA

- Sindrom Hormon Antidiuretik Berlebih
 (Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone (SIADH))
Arleen N. Suryatenggara, Dalima A. W. Astrawinata 134-140

LAPORAN KASUS

Penderita Dengan Hemokromatosis Primer
(*Patient with Primary Hemochromatosis*)

Kadek Mulyantari, A.A.Wiradewi Lestari, A.A.N. Subawa, Tjokorda Gede Oka, Sudewa Djelantik..... 141-144

INFORMASI LABORATORIUM MEDIK TERBARU **145-146**

ACETOSAL, BUAH MENGGUDU (*MORINDA CITRIFOLIA L.*) DAN WAKTU PERDARAHAN

(Acetosal, Noni Fruits Extract (*Morinda citrifolia L.*) and Bleeding Time)

I Wayan Putu Sutirta Yasa^{1,4}, Ketut Widyani Astuti², I Gusti Made Aman^{3,4}

ABSTRACT

Research regardless the effect of noni fruit for increasing bleeding time have already been carried out widely. The similar activity of noni fruit extract and acetosal can be concerned that the fruit extract has a potential activity for prolonged bleeding time. This study aims to know the present of prolonged of bleeding time as a results of intake of combination of noni fruit extract with acetosal on mice. This research was carried out at Unit Binatang Percobaan, Departemen Farmakologi Universitas Udayana. This is an experimental study with pre and post-test control group design. Subject was compromised of 3 groups of mice and each group contain of 7 mice. The first group was treated with a dose of 40 mg/kg bw acetosal, the second group treated with a dose of 100 mg/kg bw ethanol noni fruit extract, and the third group treated with combination of 40 mg/kg bw acetosal and 100 mg/kg bw ethanol extract of noni fruit. All groups were fed once per day for a week. Bleeding time was determined on the basis of tail bleeding method. This study results that the first group experience bleeding time increased from 61.42±9.43 second to 160.71±19.77 second. Increase bleeding time of the second group is from 59.14±7.12 to 138.14±59.91 second. For the third group, the bleeding time increases from 65.00±7.91 to 213.00±20.92 second. One Way ANOVA analysis indicates that there is a significant different among these three groups after treatment $p = 0.006$ ($p < 0.05$). Bleeding time of the third group which was treated with combination of noni fruit and acetosal results in the highest increase compare to the other two groups. In conclusions, combination of noni fruit and acetosal treatment results in increase of bleeding time on mice.

Key words: Acetosal, noni fruit, bleeding time

ABSTRAK

Penelitian buah mengkudu yang memiliki pengaruh memperpanjang waktu perdarahan telah banyak dilakukan. Kesamaan aktivitas zat aktif antara sari buah mengkudu dan acetosal ada kemungkinan aktivitas yang ditandai dengan lama waktu perdarahan yang semakin memanjang. Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui adanya perpanjangan waktu perdarahan akibat pemberian gabungan sari buah mengkudu dengan acetosal di mencit. Penelitian ini dilakukan di Unit Binatang Percobaan, Departemen Farmakologi Universitas Udayana. Penelitian percobaan dilakukan dengan rancangan penelitian rancangan kelompok pembandingan pra dan pasca-uji. Subjek terdiri dari tiga (3) kelompok mencit, yang setiap kelompoknya terdiri dari tujuh (7) ekor mencit. Kelompok kesatu (1) diberi acetosal dosis 40 mg/kg bb, kelompok kedua (2) diberi sari etanol buah mengkudu dosis 100 mg/kg bb dan kelompok ketiga (3) diberi gabungan acetosal dosis 40 mg/kg bb dan sari etanol buah mengkudu dosis 100 mg/kg bb satu kali sehari selama tujuh (7) hari. Lama waktu perdarahan ditetapkan dengan cara pendarahan ekor. Kelompok kesatu (1) yang menerima acetosal 40 mg/kg bb didapatkan hasil mengalami peningkatan lama waktu perdarahan dari 61,42±9,43 detik menjadi 160,71±19,77 detik. Kelompok kedua (2) yang menerima sari buah mengkudu 100 mg/kg bb mengalami peningkatan lama waktu perdarahan dari 59,14±7,12 detik menjadi 138,14±59,91 detik. Kelompok ketiga (3) yang menerima gabungan acetosal 40 mg/kg bb dan sari buah mengkudu 100 mg/kg bb mengalami peningkatan lama waktu perdarahan dari 65,00±7,91 detik menjadi 213,00±20,92 detik. Analisis data dilakukan dengan uji ANOVA satu arah dan menunjukkan rerata lama waktu perdarahan di ketiga kelompok sesudah diberikan perlakuan berbeda secara bermakna $p=0,006$ ($p < 0,05$). Lama waktu perdarahan kelompok yang menerima gabungan acetosal dan sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) lebih tinggi dibandingkan dengan yang diberi acetosal tunggal dan sari buah mengkudu di mencit. Didasari dari telitian ini dapat disimpulkan bahwa gabungan acetosal dan sari buah mengkudu (*Morinda citrifolia L.*) dapat memperpanjang waktu perdarahan di mencit.

Kata kunci: Acetosal, buah mengkudu, waktu perdarahan

PENDAHULUAN

Keseimbangan sistem faal penghentian perdarahan (hemostasis) penting bagi kehidupan manusia. Jika faal hemostasis terganggu, maka luka kecilpun dapat menyebabkan perdarahan yang mengancam jiwa

seseorang. Atau dalam keadaan sebaliknya, bila darah cenderung mudah membeku sehingga mempermudah pembentukan darah beku (trombus) dan meningkatkan bahaya pembuluh darah tersumbat (trombosis) dan penyakit sumbatan pembuluh darah (emboli). Penyumbatan yang tidak diperlukan dalam pembuluh

¹ Departemen Patologi Klinik FK Unud/RSUP Sanglah Denpasar, E-mail: psutirtayasa@yahoo.com

² Mahasiswa Program Magister Biomedik Pascasarjana Unud

³ Departemen Farmakologi FK Unud Denpasar

⁴ Pascasarjana Universitas Udayana

darah disebut trombosis dan dapat membahayakan jiwa. Trombus yang terbentuk di plak *atheroma* dalam pembuluh arteri koroner akan menyebabkan infark miokardia, sedangkan trombus di pembuluh darah vena dapat menyebabkan *pulmonary embolism* yang mengganggu aliran darah paru-paru.¹ Pada saat terjadi trauma vaskular, sistem hemostasis akan tergiatkan dan membentuk sumbat hemostatik untuk menutup kebocoran pembuluh darah.²

Coumarin dan *heparin* yang merupakan obat antipembekuan darah (antikoagulan) dapat digunakan untuk mencegah terjadinya trombosis. Penggunaan obat antiagregasi platelet seperti *acetosal* juga digunakan untuk mencegah terjadinya agregasi platelet, sehingga dapat mencegah sumbatan terbentuk dalam pembuluh darah.¹ Pasien yang minum secara rutin obat golongan antikoagulan (*warfarin*) atau antiagregasi platelet (*acetosal* dan *clopidogrel*) untuk pencegahan tromboemboli, maka dapat memperpanjang waktu perdarahan.²

Harga obat yang mahal dan lama pengobatan secara medis menyebabkan pasien memilih menggunakan pengobatan pengganti. Penggunaan produk herbal sebagai pengobatan pengganti untuk beberapa penyakit semakin berkembang luas dan disukai. Hal ini disebabkan karena ada dugaan bahwa obat asal bahan alam memiliki efek samping yang lebih rendah dan aman guna dipakai pengobatan jangka panjang. Pandangan ini perlu diteliti, karena setiap bahan yang memiliki aktivitas khasiat obat (farmakologis) besar kemungkinan memiliki efek sampingan. Perlu diperhatikan juga adanya interaksi produk herbal dengan obat buatan apabila menggunakan produk tersebut sebagai pengobatan tambahan bersamaan. Produk herbal merupakan campuran lebih dari satu bahan aktif sehingga kemungkinan munculnya interaksi pengaruh satu dengan lainnya dapat terjadi. Secara teoretis kemungkinan interaksi produk herbal yang terkait lebih tinggi daripada obat buatan yang hanya mengandung satu bahan aktif.³

Berbagai produk bahan alam dapat mengandung senyawa coumarin, asam salisilat atau senyawa lain yang memiliki aktivitas sama sebagai antiplatelet, sehingga dapat memperpanjang lama waktu perdarahan. Secara teoretis terdapat kemungkinan aktivitas farmakologis jika produk herbal ini digunakan bersama dengan

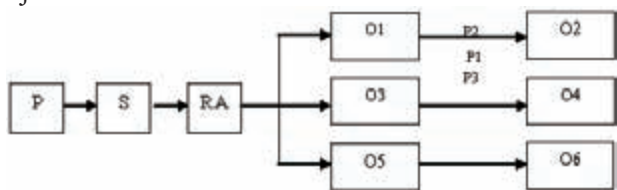
warfarin atau obat sejenisnya dalam waktu lama, akan dapat memperpanjang waktu perdarahan. Bawang putih memiliki pengaruh terhadap pembuluh darah jantung yang menguntungkan, seperti: menurunkan tekanan darah tinggi dan serum lemak serta memiliki aktivitas antitrombosis. Minyak bawang putih telah dilaporkan menghambat pembuatan tromboksan, sehingga menghambat fungsi platelet. Sari umbi bawang (*Eleutherine American Merr.*) juga telah diteliti memiliki aktivitas antiagregasi platelet.⁵ Di samping itu, telah diteliti daun tanjung (*Mimusops elengi Linn.*), daun belimbing manis (*Avverhoa carambola Linn.*), dan rimpang temulawak (*Curcuma xanthorrhiza Roxb.*) yang memiliki pengaruh antiagregasi platelet.⁶ Bawang putih (*Allium sativum*), dong quai (*Angelica sinensis*), ginkgo (*Ginkgo biloba*), dan danshen (*Salvia miltiorrhiza*) jika diberikan bersamaan dengan *warfarin* dapat menyebabkan perdarahan langsung.³

Penelitian buah mengkudu yang memiliki pengaruh antiagregasi platelet, sehingga meningkatkan lama waktu perdarahan sedang gencar dilakukan.⁷ Kandungan kimiawi buah mengkudu melalui penelitian yang diduga sebagai anti koagulan adalah *coumarin*, sedangkan vitamin yang terkandung di dalamnya adalah: vitamin C dan vitamin A.⁹⁻¹¹ Salah satu derivat buatan senyawa *coumarin* adalah *warfarin* yang digunakan sebagai antikoagulan.¹² Pasien yang menggunakan produk herbal yang mengandung *coumarin*, asam salisilat atau senyawa anti platelet lainnya bersamaan dengan obat yang memiliki pengaruh anti koagulan seperti *warfarin* atau antiplatelet seperti asam salisilat memerlukan pengawasan terhadap tanda atau gejala perdarahan.⁴

Sehubungan pertimbangan kesamaan aktivitas antiagregasi platelet antara sari buah mengkudu dan *acetosal*, kemungkinan secara teoretis ada aktivitas antiagregasi platelet yang ditandai dengan lama waktu perdarahan yang semakin panjang. Hal ini mungkin terjadi di pasien yang rutin menggunakan *acetosal* untuk mencegah trombosis dan secara bersamaan juga mengkonsumsi suplemen mengkudu untuk menurunkan tekanan darah atau kolesterol. Penelitian ini bertujuan untuk membuktikan kembali apakah di buah mengkudu terdapat *coumarin* dan mengetahui pengaruh kombinasi pemberian *acetosal* dengan sari buah mengkudu terhadap lama waktu perdarahan di mencit.

METODE

Penelitian ini merupakan penelitian percobaan murni dengan rancangan penelitian pra dan pasca-uji.¹³



Gambar 1. Bagan rancangan penelitian
Keterangan: P: Populasi; S: Sampel; RA: Randomisasi alokasi P1: Perlakuan 1 (kelompok diberi *acetosal* 40 mg/kg bb satu kali sehari); P2: Perlakuan 2 (kelompok diberi sari mengkudu 100 mg/kg bb satu kali sehari) P3: Perlakuan 3 (kelompok diberi gabungan *acetosal* 40 mg/kg bb dan sari etanol buah mengkudu 100 mg/kg bb satu kali sehari); O1, O3, O5: Pengamatan waktu perdarahan pada hari ke-0; O2, O4, O6. Pengamatan waktu perdarahan pada hari ke-7

Penelitian dilakukan di Departemen Farmakologi Universitas Udayana pada bulan Februari–Mei 2011. Didasari penelitian pendahuluan diperoleh rerata lama waktu perdarahan normal mencit adalah 61,13 detik dengan simpangan baku 4,06 detik.¹⁴ Peningkatan lama waktu perdarahan ($\mu_1 - \mu_2$) yang diharapkan adalah 20. Dengan menggunakan rumus di atas maka diperoleh hasil seperti terpapar di bawah ini.

Berdasarkan perhitungan rumus didapat $N = 5,8$ ekor, dibulatkan menjadi enam (6) ekor. Untuk mengatasi sampel yang gagal, maka sampel ditingkatkan 10% sehingga jumlahnya ditiap kelompok adalah tujuh (7). Sampel yang digunakan adalah 21 ekor mencit putih jantan galur Balb/c berumur 8–12 minggu dengan bobot badan 20–22 g yang terbagi menjadi tiga (3) kelompok. Sampel dikelompokkan dengan cara acak sederhana. Patokan penyertaan adalah: Mencit jantan dewasa galur Balb/c; sehat; umur 8–12 minggu; berat badan 20–22 g. Patokan ketidaksertaan adalah mencit yang tidak mau makan. Patokan dikeluarkan dalam penelitian ini adalah mencit yang mati dalam penelitian. Variabel bebas adalah gabungan *acetosal* dan sari buah mengkudu. Variabel tergantung adalah lama waktu perdarahan. Variabel terkontrol adalah mutu serta banyaknya makanan, umur, jenis kelamin, galur dan berat badan mencit.

Alat yang digunakan adalah tungku (*oven*) *Memmert*, timbangan digital, wadah bertutup untuk merendam (*macerasi*), labu Erlenmeyer, corong gelas, *rotary evaporator*, pisau pemotong, kertas saring, pipa-kapiler, pipet, *stopwatch*, plat HPTLC silika gel 60 F254 Merck, ruang kromatografik, *Camag TLC Scanner* dan lampu UV.

Bahan utama untuk penelitian ini adalah buah mengkudu berumur 4–5 bulan dengan tingkat kematangan yang sedang (buah berwarna kuning keputihan) yang didapatkan dari daerah kabupaten Badung. Bahan lain yang digunakan dalam penelitian ini adalah *acetosal* (*Brataco Chemical*), etanol 96%, etanol 70%, kertas saring, metanol p.a., n-heksan p.a., etil asetat p.a., dan air suling (*aquades*).

Tatalangkah dalam penelitian ini meliputi: penetapan dosis, persiapan obat tanaman (*simplisia*), penyarian, pengendalian *coumarin* dalam sari buah mengkudu, persiapan hewan uji, uji waktu perdarahan, dan pengolahan data.

Dosis yang tersedia adalah untuk manusia, sehingga perlu diubah untuk mencit. Faktor perubahan untuk dosis dalam mg/kg menjadi mg/m² dapat dilihat di bawah ini.

Dosis *acetosal* untuk antitrombosis di manusia adalah 81–325 mg per hari.¹⁵ Perhitungan dosis *acetosal* untuk mencit adalah sebagai berikut:

$$\text{Dosis mencit} = \frac{\text{Dosis manusia}}{\text{Luas permukaan Tubuh Manusia}} \times \text{faktor konversi}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis mencit} &= \left(\frac{81 \text{ mg}}{1,7 \text{ m}^2} \times \frac{1}{3} \right) \text{ sampai dengan} \\ &\left(\frac{325 \text{ mg}}{1,7 \text{ m}^2} \times \frac{1}{3} \right) \\ &= 15,88 \text{ sampai dengan } 63,72 \text{ mg/kg bb} \end{aligned}$$

Dalam penelitian ini dipilih dosis *acetosal* untuk mencit yaitu 40 mg/kg bb.

Dosis sari buah mengkudu dari sediaan yang ada di pasaran untuk manusia adalah 450–1800 mg per hari. Perhitungan dosis sari buah mengkudu untuk mencit adalah sebagai berikut:

$$\text{Dosis mencit} = \frac{\text{Dosis manusia}}{\text{Luas permukaan Tubuh Manusia}} \times \text{faktor konversi}$$

$$\begin{aligned} \text{Dosis mencit} &= \left(\frac{450 \text{ mg}}{1,7 \text{ m}^2} \times \frac{1}{3} \right) \text{ sampai dengan} \\ &\left(\frac{1800 \text{ mg}}{1,7 \text{ m}^2} \times \frac{1}{3} \right) \\ &= 88,24 \text{ sampai dengan } 352,94 \text{ mg/kg bb} \end{aligned}$$

Dalam penelitian ini dipilih dosis sari buah mengkudu yaitu 100 mg/kg bb. Penganalisaan *coumarin* dalam sari etanol adalah sebagai berikut: 1) Ruang dijenuhkan dengan eluen metanol selama 30 menit; 2) Plat kromatografik lapis tipis diusapi dengan eluen metanol di dalam ruang; 3) Plat kromatografik

lapis tipis dikeringkan selama 30 menit dalam tungku pada suhu 100°C ; 4) Sampel sari mengkudu ditimbang sebanyak 50 mg lalu diencerkan dalam etanol 96% sebanyak 5 mL; 5) Sampel diambil sebanyak 10 µL lalu diletakkan di atas plat kromatografik lapis tipis menggunakan alat nanomat; 6) Ruang dijenuhkan dengan campuran 5 mL n-heksan dan 5 mL etil asetat selama 30 menit; 7) Plat kromatografik lapis tipis yang berisi sampel dimasukkan dalam ruang seraya diusapi; 8) Plat kromatografik lapis tipis diangkat dan dibiarkan kering; 9) Plat kromatografik lapis tipis dilihat di bawah lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm seraya dicatat hasilnya; dan 10) Plat kromatografik lapis tipis dipindah menggunakan alat *Camag TLC scanner* seraya dicatat hasilnya.

Persiapan hewan uji waktu perdarahan

Populasi mencit dipilih secara acak sebanyak 30 mencit putih jantan dewasa sehat umur 8–12 minggu dengan berat badan 20–22 g: 1) Mencit diadaptasi dalam kandang dan diberi makan selama satu minggu; 2) Diamati bila ada mencit yang tidak mau makan; 3) Mencit yang tidak mau makan dikeluarkan dari kelompok; 4) Dari sisa populasi tersebut dipilih 24 ekor mencit putih jantan dewasa sehat umur 8–12 minggu dengan berat badan 20–22 g yang mau makan; 5) Mencit dibagi secara acak menjadi tiga (3) kelompok yang masing-masing terdiri dari delapan (8) ekor mencit; 6) Setiap mencit diberi makanan berupa pelet yang biasa diberikan untuk mencit dan minuman berupa air putih setiap hari (*ad libitum*); 7) Sebelum diberi perlakuan, semua mencit diuji waktu perdarahan; 8) Mencit dibaringkan di atas meja uji; 9) Untuk menentukan waktu perdarahan, mencit dimasukkan ke dalam pemegang (*holder*). Ujung ekor mencit dibersihkan dengan alkohol 70% lalu ekor mencit dilukai dengan jarak 2 cm dari ujung ekor sepanjang 2 mm, sedalam 1 mm, dengan pisau pemotong, yang diberi pembatas; 10) Darah yang menetes diserap setiap 15 detik dengan menempelkan kertas saring; 11) Waktu dari darah pertama kali terlihat sampai tidak tampak bercak darah pada kertas saring diukur dengan *stopwatch*. Selang waktu yang diperoleh disebut waktu perdarahan;¹⁶ 12) Setelah itu mencit diberi makanan dan minuman, mencit mendapat perlakuan sesuai dengan kelompoknya masing-masing, luka mencit dirawat dengan baik, betadin dioleskan dan tutup dengan kasa steril; 13) Larutan persediaan *acetosal* untuk kelompok 1 dibuat dengan cara melarutkannya sebanyak 80 mg dalam 50 mL air suling; 14) Larutan persediaan sari buah mengkudu untuk kelompok 2 dibuat dengan cara melarutkannya sebanyak 200 mg ke dalam 50 mL air suling; 15) Larutan persediaan *acetosal* untuk kelompok 3 dibuat dengan cara melarutkannya sebanyak 80 mg ke dalam 25 mL air suling, sedangkan

larutan persediaan sari buah mengkudu untuk kelompok 2 dibuat dengan cara melarutkannya sebanyak 200 mg dalam 50 mL air suling; 16) Kelompok 1 diberi *acetosal* dengan dosis 40 mg/kg bb satu kali sehari selama 7 hari. Pemberian dilakukan lewat rongga mulut sebanyak 0,5 mL larutan persediaan *acetosal*; 17) Kelompok 2 diberi sari etanol buah mengkudu dengan dosis 100 mg/kg bb satu kali sehari selama tujuh (7) hari. Pemberian dilakukan lewat rongga mulut sebanyak 0,5 mL larutan persediaan sari buah mengkudu; 18) Kelompok 3 diberi gabungan *acetosal* dengan dosis 40 mg/kg bb dan sari etanol buah mengkudu sebanyak 100 mg/kg bb satu kali sehari selama tujuh (7) hari. Pemberian dilakukan lewat rongga mulut sebanyak 0,25 mL larutan persediaan *acetosal* dan 0,25 mL larutan persediaan sari buah mengkudu; 19) Perlakuan diberikan selama tujuh (7) hari karena pada penelitian pendahuluan terjadi peningkatan waktu perdarahan di mencit pada hari ke-7;¹⁴ dan 20) Pada hari ke-7 dilakukan uji lama waktu perdarahan hewan uji seperti tatalangkah yang telah disebutkan di atas.

Data dianalisis secara statistik dengan uji normalitas data, uji homogenitas data, dan uji kesebandingan. Analisis normalitas data dengan uji *Shapiro – Wilk*. Uji normalitas menunjukkan bahwa sebaran data adalah normal dengan nilai $p > 0,05$. Analisis homogenitas data dengan uji ragam menurut *Levene*, menunjukkan homogen bila nilai $p > 0,05$. Data normal dan homogen, sehingga analisis kesebandingan data antar-kelompok dilakukan dengan uji *One Way ANOVA* dan dilanjutkan dengan uji *Least Significant Difference*.

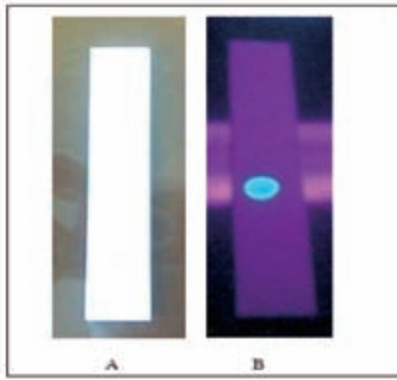
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada pembuatan simplisia digunakan 10 kg buah mengkudu segar yang kemudian dikeringkan hingga diperoleh obat buah mengkudu seberat 1,7 kg. Simplisia sebanyak 1 kg kemudian disarikan hingga diperoleh 60,2 gram sari kental yang berwarna kecoklatan. Pengenalan *coumarin* secara kromatografik lapis tipis dengan pengembang n- heksana:etil asetat (1:1) di bawah lampu uv dengan panjang gelombang 366 nm memberikan hasil sebagai berikut:

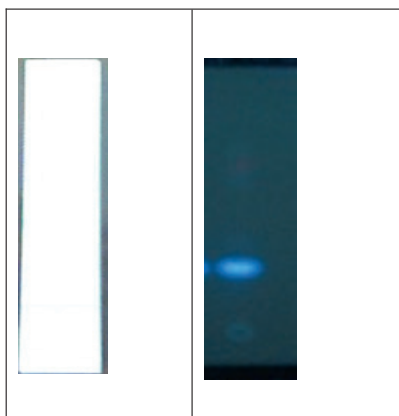
Tabel 1. Hasil pengenalan *coumarin*

| Sampel | Rf | Warna |
|----------------------|------|-----------------------------------|
| Baku <i>coumarin</i> | 0,31 | Berfluoresensi biru ¹⁷ |
| Sari mengkudu | 0,28 | Berfluoresensi biru |

Pada Gambar 3 sari buah mengkudu memberikan warna fluoresensi yang sama dengan bakuan *coumarin*, sehingga dapat disimpulkan bahwa sampel sari buah mengkudu mengandung zat tersebut.



Gambar 2. Kromatogram baku *coumarin*.¹⁷
Keterangan: A) Plat Kromatografi tanpa lampu UV 366 nm (cahaya biasa). B) Plat Kromatografi di bawah sinar lampu UV 366 nm.



Gambar 3. Kromatogram sari mengkudu
Keterangan: A) Plat Kromatografi tanpa lampu UV 366 nm (cahaya biasa). B) Plat Kromatografi di bawah sinar lampu UV 366 nm.

Penelitian untuk mengetahui keberadaan *coumarin* di dalam sari buah mengkudu dikenali menggunakan metode kromatografi lapis tipis. Kromatografik merupakan metode analisis pemisahan tertentu tempat tingkatan gerak tertentu mengusapi sampel di tingkatan diam, sehingga bahan tersebut terpisah menjadi komponennya masing-masing. Kromatografik lapis tipis merupakan pemisahan secara kromatografik tempat tingkatan diamnya menjadi tipis di atas penyangga tertentu. Kromatografik lapis tipis dipilih jika senyawa sampel tidak mudah menguap. Jika sampel rusak dianalisis menggunakan kromatografik cair atau gas, komponen senyawanya perlu ditemukan dengan beberapa metode seperti pada penyaringan obat. Di samping itu metode ini juga tepat guna dalam hal biaya dan waktu.¹⁸

Untuk mengenali *coumarin* secara kromatografik lapis tipis pada penelitian ini dilakukan menggunakan pengembang n-heksana:etil asetat (1:1) sebagai tingkatan gerak dan plat silika GF sebagai yang diam.

Hasil kromatogram menunjukkan ada fluoresensi biru di plat kromatografik lapis tipis dengan Rf 0,28 di bawah lampu UV yang panjang gelombangnya 366 nm adalah ciri khas *coumarin*. Hasil telitian yang dilakukan oleh Sukmayati dkk¹⁷ menunjukkan bahwa *coumarin* memiliki fluoresensi biru di plat kromatografik lapis tipis dengan Rf 0,31 di bawah lampu UV yang panjang gelombangnya 366 nm. Fluoresensi biru yang ada di kromatogram menandakan keberadaan *coumarin* dalam sampel sari buah mengkudu.

Uji normalitas data lama waktu perdarahan baik sebelum perlakuan maupun sesudahnya di setiap kelompok, menggunakan uji *Shapiro-Wilk*. Hasil analisis menunjukkan bahwa beberapa kelompok data tidak tersebar secara normal ($p < 0,05$). Data kemudian diubah ke dalam fungsi logaritma. Hasil ubahan data diuji kembali normalitasnya. Hasil analisis data logaritma menunjukkan bahwa data tersebut tersebar secara normal.

Data lama waktu perdarahan antar-kelompok baik sebelum perlakuan maupun sesudahnya diuji homogenitasnya menggunakan uji menurut *Leven*. Hasil data menunjukkan kehomogenan ($p > 0,05$).

Uji kesebandingan lama waktu perdarahan

Uji kesebandingan bertujuan untuk membandingkan rerata lama waktu perdarahan antar-kelompok sebelum diberikan perlakuan. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *One Way ANOVA* disajikan di Tabel 2 berikut.

Tabel 2. Rerata lama waktu perdarahan antar-kelompok sebelum diberikan perlakuan

| Kelompok Subjek | N | Rerata lama Waktu perdarahan (detik) | SB | F | P |
|---|---|--------------------------------------|------|-------|-------|
| <i>Acetosal</i> 40 mg/kg bb | 7 | 61,42 | 9,43 | | |
| Mengkudu 100 mg/kg bb | 7 | 59,14 | 7,12 | 0,904 | 0,423 |
| <i>Acetosal</i> 40 mg/kg bb + Mengkudu 100 mg/kg bb | 7 | 65,00 | 7,91 | | |

Tabel 2, menunjukkan bahwa rerata lama waktu perdarahan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb adalah $61,42 \pm 9,43$ detik, rerata kelompok mengkudu 100 mg/kg bb adalah $59,14 \pm 7,12$ detik, dan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb + mengkudu 100 mg/kg bb adalah $65,00 \pm 7,91$ detik. Analisis kemaknaan dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai $F=0,904$ dan nilai $p=0,423$. Hal ini berarti bahwa rerata lama waktu perdarahan ketiga kelompok sebelum diberikan perlakuan, tidak berbeda secara bermakna ($p > 0,05$).

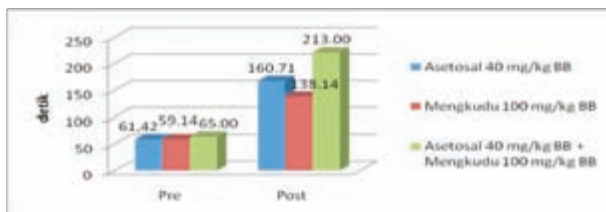
Pengaruh perlakuan terkait lama waktu perdarahan

Analisis pengaruh perlakuan diuji berdasarkan rerata lama waktu perdarahan antar kelompok sesudah diberikan perlakuan. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *One Way ANOVA* disajikan di Tabel 3 berikut.

Tabel 3. Rerata waktu perdarahan antar kelompok sesudah diberikan perlakuan

| Kelompok Subjek | N | Rerata lama Waktu perdarahan (detik) | SB | F | P |
|--|---|--------------------------------------|-------|-------|-------|
| Acetosal 40 mg/kg bb | 7 | 160,71 | 19,77 | | |
| Mengkudu 100 mg/kg bb | 7 | 138,14 | 59,91 | 7,008 | 0,006 |
| Acetosal 40 mg/kg bb + Mengkudu 100 mg/kg bb | 7 | 213,00 | 20,92 | | |

Tabel 3, menunjukkan bahwa rerata jumlah waktu perdarahan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb adalah $160,71 \pm 19,77$ detik, rerata kelompok mengkudu 100 mg/kg bb adalah $138,14 \pm 59,91$ detik, dan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb+mengkudu 100 mg/kg bb adalah $213,00 \pm 20,92$ detik. Analisis kemaknaan dengan uji *One Way ANOVA* menunjukkan bahwa nilai $F=7,008$ dan nilai $p=0,006$. Hal ini berarti bahwa rerata lama waktu perdarahan di ketiga kelompok sesudah diberikan perlakuan berbeda secara bermakna ($p < 0,05$).



Gambar 4. Grafik lama waktu perdarahan sebelum dan sesudah perlakuan

Gambar 4 menunjukkan bahwa perlakuan pemberian gabungan *acetosal* dan sari buah mengkudu dapat meningkatkan lama waktu perdarahan.

Pada penelitian yang dilakukan oleh Yulinah dkk,⁷ kelompok yang menerima *acetosal* 42,25 mg/kg bb mengalami peningkatan lama waktu perdarahan lebih tinggi dibandingkan dengan penelitian ini. Kelompok yang menerima sari buah mengkudu 100 mg/kg bb juga mengalami peningkatan lama waktu perdarahan yang lebih tinggi daripada penelitian ini. Hal ini mungkin disebabkan karena perbedaan jangka waktu pemberian *acetosal* dan sari buah mengkudu, yaitu selama

28 hari. Di samping itu terdapat perbedaan sumber buah mengkudu yang berasal dari Jawa Barat. Perbedaan tempat tumbuh mempengaruhi kadar metabolit (zat aktif) dalam buah mengkudu, sehingga memberikan pengaruh yang berbeda. Pada penelitian tersebut lama waktu perdarahan dengan pemberian gabungan *acetosal* dan sari buah mengkudu tidak dilakukan pengujian.

Untuk mengetahui kelompok yang berbeda dilakukan uji lanjut dengan *Least Significant Difference-test* (LSD). Hasil uji disajikan di bawah ini.

Tabel 4. Analisis perbandingan lama waktu perdarahan sesudah perlakuan antar-kelompok

| Kelompok | Beda Rerata | P |
|--|-------------|-------|
| Acetosal 40 mg/kg bb dengan Mengkudu 100 mg/kg bb | 22,57 | 0,286 |
| Acetosal 40 mg/kg bb dengan <i>acetosal</i> 40 mg/kg bb+Mengkudu 100 mg/kg bb | 52,28 | 0,020 |
| Mengkudu 100 mg/kg bb dengan <i>Acetosal</i> 40 mg/kg bb+Mengkudu 100 mg/kg bb | 74,85 | 0,002 |

Hasil uji lanjutan di atas menunjukkan bahwa: 1) Rerata lama waktu perdarahan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb tidak berbeda ($p=0,286$) dengan kelompok mengkudu 100 mg/kg bb; 2) Rerata lama waktu perdarahan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb berbeda secara bermakna ($p=0,020$) dengan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb + mengkudu 100 mg/kg bb; dan 3) Rerata lama waktu perdarahan kelompok mengkudu 100 mg/kg bb berbeda secara bermakna ($p=0,002$) dengan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb + mengkudu 100 mg/kg bb.

Analisis perbandingan lama waktu perdarahan sebelum dan sesudah perlakuan

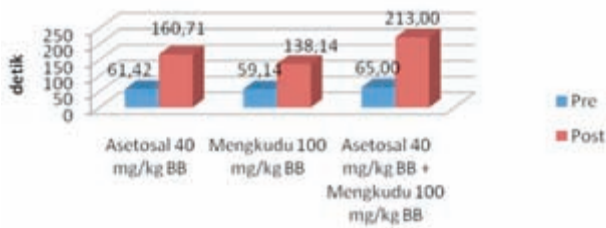
Analisis perbandingan diuji berdasarkan rerata lama waktu perdarahan antara sebelum dengan sesudah diberikan perlakuan. Hasil analisis kemaknaan dengan uji *t-paired* disajikan di Tabel 5 berikut.

Tabel 5. Analisis komparasi waktu perdarahan antara sebelum-sesudah perlakuan

| Kelompok | Beda rerata pra-pasca | P |
|------------------------------------|-----------------------|-------|
| Acetosal 40 mg/kg bb | 99,28 | 0,000 |
| Mengkudu 100 mg/kg bb | 79,00 | 0,011 |
| Gabungan <i>acetosal</i> +Mengkudu | 148,00 | 0,000 |

Berdasarkan uji *t-paired* didapatkan bahwa ada peningkatan lama waktu perdarahan yang bermakna di kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb sebesar 99,28 ($p=0,00$), sedangkan di kelompok mengkudu 100 mg/kg bb

sebesar 79,00 ($p=0,011$), dan kelompok *acetosal* 40 mg/kg bb + mengkudu 100 mg/kg bb sebesar 148,00 ($p=0,00$).



Gambar 5. Grafik peningkatan lama waktu perdarahan setelah pemberian perlakuan

Pengaruh peningkatan waktu perdarahan sari buah mengkudu lebih rendah dibandingkan dengan yang diberikan ke masing-masing dengan sari rimpang jahe merah, kunyit dan bawang putih.⁷ Hal ini disebabkan perbedaan kandungan kimiawi antara buah mengkudu, rimpang jahe merah, kunyit dan bawang putih. Perbedaan kandungan kimiawi menyebabkan perbedaan kekuatan dan mekanisme kerjanya.

Pengaruh peningkatan lama waktu perdarahan sari buah mengkudu sulit dibandingkan dengan yang dari sari daun tanjung, belimbing manis dan rimpang temulawak.⁶ Hal ini disebabkan perbedaan metode menelitinya.

Kajian farmakodinamika memberikan pengetahuan mengenai dinamika kegiatan obat dalam tubuh manusia. Interaksi farmakodinamika dapat dibatasi sebagai turun-naiknya kemampuan hidup hayati senyawa tertentu sebagai hasilnya yang bersifat saling membantu atau berlawanan obat dengan produk herbal. Interaksi farmakodinamika secara umum lebih sulit diramalkan dan dicegah dibandingkan dengan yang farmakokinetik. Interaksi farmakodinamika antara obat dan produk herbal paling baik dikenali melalui kinerja pengobatan dari obat dan produk herbal tersebut. Penggunaan obat bersama produk herbal dengan fungsi pengobatan yang serupa dapat menyebabkan penguatannya. Dalam beberapa kasus, peningkatan kekuatan pengobatan dapat mengganggu hasil yang diharapkan secara sebaik-baiknya, karena pengaruh yang diharapkan menjadi lebih sulit untuk diramalkan. Interaksi yang berkebahayaan tinggi dan berarti terjadi bagi obat dan produk herbal dengan pengaruh: simpatomimetik, diuretik, hipoglikemik, antikoagulan dan antiplatelet.¹⁹

Pada saat dua obat digunakan secara bersamaan, maka kemungkinan respons yang diperoleh adalah semakin meningkat atau justru berkurang, karena salah satu obat menghambat kinerja yang lainnya. Interaksi obat dikatakan aditif jika pengaruh yang diberikan oleh gabungan obat sama dengan penjumlahan dari masing-

masing pengaruhnya jika diberikan secara tunggal. Interaksi obat dikatakan saling membantu jika pengaruh yang diberikan oleh gabungan obat lebih besar atau berpangkat (eksponensial) daripada penjumlahan pengaruh masing-masing obat jika diberikan secara tunggal. Interaksi obat ini dapat terjadi antara obat lainnya atau dengan produk herbal.¹⁹

Didasari hasil telitian dapat dilihat bahwa lama waktu perdarahan di kelompok yang menerima gabungan *acetosal* dan sari buah mengkudu meningkat yaitu $213,00 \pm 20,92$ detik dibandingkan dengan kelompok yang menerima *acetosal* tunggal $160,71 \pm 19,77$ detik dan sari buah mengkudu $138,14 \pm 59,91$ detik.

Pemberian gabungan *acetosal* dan sari buah mengkudu dapat memperpanjang lama waktu perdarahan di mencit. Hal ini disebabkan oleh mekanisme kerja antiplatelet *acetosal* dan antikoagulan asal *coumarin* yang berada dalam sari buah mengkudu. *Acetosal* yang merupakan golongan anti peradangan nonsteroid dapat memperpanjang lama waktu perdarahan melalui mekanisme penghambat buatan tromboksan-A2 (TXA2). Tromboksan A2 adalah pengimbas kuat agregasi platelet. Apabila tromboksan A2 dihambat maka agregasi platelet akan terhambat, sehingga menyebabkan peningkatan lama waktu perdarahan.^{15,20}

Coumarin merupakan antikoagulan yang menghambat pembuatan faktor koagulasi yang bergantung vitamin K (faktor II/protrombin, faktor VII, faktor IX dan Faktor X). Karena itu pemberian sari buah mengkudu yang berlebihan akan menurunkan kadar faktor koagulasi yang bergantung vitamin K tersebut dan menyebabkan peningkatan lama waktu perdarahan. Kadar faktor VII dapat menurun dalam waktu kurang dari 24 jam, sedangkan kadar faktor II dapat menurun sekitar 50% dalam tiga hari setelah pemberian gabungan *acetosal* dan *coumarin* yang berlebihan, penurunan ini bergantung dosis dan lama pemberiannya.²¹ Bagi pasien yang berumur di atas 75 tahun berpengaruh pada perpanjangan lama waktu perdarahan, karena umur tersebut sangat peka terhadap antikoagulan sejenis *coumarin*. Demikian juga bagi penderita yang ber riwayat perdarahan lambung, lebih baik dianjurkan berhati-hati untuk memakan buah mengkudu yang berlebihan bersamaan dengan obat yang dapat memperpanjang lama waktu perdarahan seperti *acetosal*.²¹

Di samping itu, bahaya perdarahan yang diakibatkan oleh interaksi antara *acetosal* dan *coumarin* dapat terjadi melalui mekanisme pelepasan *coumarin* dari albumin, hambatan metabolisme *coumarin* dan terjadi erosi lambung. *Coumarin* yang terlepas dari albumin menyebabkan kadarnya bebas meningkat di darah, dan akan menyebabkan peningkatan aktivitasnya sebagai antikoagulan. Hambatan metabolisme *coumarin*

juga menyebabkan penumpukannya *coumarin* dalam peredaran darah dan menyebabkan peningkatan aktivitasnya. Untuk memantau pemberian sari buah mengkudu yang digabung dengan obat antikoagulan sebaiknya diperiksa secara rutin memakai tolok ukur *Internasional Normalised Ratio* (INR).²² *Internasional Normalised Ratio* adalah perbandingan antara nilai *Prothrombin time* (PT) pasien dan bakuan yang dipangkatkan dengan nilai *International Sensitivity Index* (ISI). Target INR beragam dalam rentang nilai 2–4.²² Pemeriksaan memakai tolok ukur INR secara rutin masih merupakan kendala, karena tidak semua laboratorium memiliki sarana ini dan juga dari segi harga masih relatif mahal. Erosi merupakan faktor perlindungan lambung berkebahayaan perdarahan yang terjadi di situ. Hal ini disebabkan karena *acetosal* berperan menghambat enzima siklo-oksigenase, padahal enzima tersebut berperan sebagai salah satu faktor pelindung. Bila proses asetilasi gugus serin aktif dari enzima siklo-oksigenase oleh *acetosal* secara berlebihan, maka akan mengganggu perubahan asam arakhidonat menjadi prostaglandin. Trombosit sangat rentan terhadap penghambatan enzima siklo-oksigenase karena tidak mampu memperbaharui enzima siklo-oksigenase. Hal ini bila berkelanjutan dapat menyebabkan perdarahan di lambung, oleh karena itu penderita tukak lambung harus berhati-hati menggunakan *acetosal*.²¹ Berdasarkan hasil telitian ini dapat diduga bahwa perdarahan lambung akan dipercepat bila penderita tukak lambung menyertakan minum obat *acetosal* bersama buah mengkudu yang berlebihan dalam jangka waktu tertentu.

SIMPULAN DAN SARAN

Didasari hasil telitian ini diperoleh simpulan sebagai berikut: Dapat dibuktikan bahwa buah mengkudu mengandung *coumarin* dan gabungan *acetosal* 40 mg/kg bb dan sari buah mengkudu 100 mg/kg bb dapat memperpanjang lama waktu perdarahan di mencit.

Karena penelitian ini dilakukan terhadap mencit, maka perlu diteliti lebih lanjut pengaruhnya di manusia. Juga perlu diteliti interaksi sari buah mengkudu dengan obat jenis lain seperti: *warfarin*, *clopidogrel*, antiperadangan steroid dan nonsteroid yang dapat memperpanjang lama waktu perdarahan.

DAFTAR PUSTAKA

- Lullman H, Ziegler A, Mohr K, and Bieger D. Color Atlas of Pharmacology, 2nd Ed., New York, Thieme, 2000; 142–150.
- Despououlos A and Silbernagl S. Color Atlas of Physiology. 5th Ed., New York, Thieme, 2003; 102–105.
- Ebadi Ma. Pharmacodynamic Basis of Herbal Medicine. 2nd Ed., Boca Raton, CRC Press, 2007; 45, 62, 94, 477–479.
- Ebadi M.b. Desk Refrence of Clinical Pharmacology. 2nd ed., New York, CRC Press, 2008; 71–72.
- Muttaqien SE. “Pengaruh Pemberian Ekstrak Air dan Air-Etanol Umbi Eleutherine Americana (Aubl.) Merr. Terhadap Aktivitas Antiagregasi Platelet In Vitro Serta Penentuan Kadar Vasodilator Nitrogen Oksida pada Tikus Wistar Jantan” (Skripsi). Bandung, Institut Teknologi Bandung. 2008. Available from: <http://digilib.itb.ac.id/gdl.php?mod=browse&op=rea d&id=jbptitbpps-gdl-sjaikhurri-32701>. (Accessed February 26, 2011)
- Rahminiwati M, Effendi M, dan Wijayanto B. Agregasi Platelet Mencit Jantan Galur DDY yang Memperoleh Daun Tanjung (Mimosops lilengi Linn), Daun Belimbing Manis (Averrhoa carambola Linn), dan Rimpang Temulawak (Curcuma xanthorrhiza Roxb) Tunggal dan Kombinasinya. Proseding Seminar Tumbuhan Obat Indonesia XXXVI. Bengkulu 11–12 November 2009; 179–87.
- Yulinah E, Sigit JI, dan Fitriyani, N. Efek Antiagregasi Platelet Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.), Rimpang Jahe Merah (Zingiber officinale var Sunti Val) dan Kombinasinya Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. JKM. Februari, 2008; 7(2): 130–143.
- Yulinah E, Sigit JI, dan Fitriyani, N. Efek Antiagregasi Platelet Ekstrak Air Bulbus Bawang Putih (Allium Sativum L.), Ekstrak Etanol Rimpang Kunyit (Curcuma domestica Val.) Dan Kombinasinya Pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster. Majalah Farmasi Indonesia, 2008; 9(1): 1–11.
- Saludes MJG, Franzblau SG, Aguinaldo AM. Antitubercular constituent from the Hexan Fraction of Morinda Citrifolia Linn (Rubiaceae). Phytotherapy Res 2002; 16(7): 683–85.
- Wang MY, West BJ, Jensen CJ, Nowicki D, Su C, Palu AK, and Anderson G. Morinda citrifolia (Noni): A Literature Review and Recent Advances in Noni Research. Acta Pharmacol Sin. 2002; 23(12): 1127–41.
- Gunawan D, Sudarsono, Wahyuono S, Donatus IA, dan Purnomo. Tumbuhan Obat 2: Hasil Penelitian, Sifat-sifat dan Penggunaan. Yogyakarta, PPOT UGM. 2001; 124–32.
- Pengelly, A. Constituents of Medicinal Plants. 2nd ed., Sun Flower Herbal. Australia, Storey Publishing, 2005; 11–12.
- Pocock SJ. Clinical Trials: A Practical Approach. New York, John Wiley & Sons, 2008; 128.
- Astuti, K. W. Penelitian Pendahuluan Kombinasi Asetosal dan Ekstrak Buah Mengkudu (Morinda citrifolia L.) Dapat Memperpanjang Waktu Perdarahan dan Koagulasi pada Mencit. Denpasar, Universitas Udayana (tidak dipublikasi), 2011.
- Anderson PO, Knoblen JE, and Troutman WG. Handbook of Clinical Drug Data. 11th Ed., New York, McGraw-Hill, 2001; 19–20.
- Vogel HG. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. 2nd Ed., Berlin, Springer, 2002; 307–08.
- Sukmayati A, dan Isnawati A. Identifikasi dan Penetapan senyawa kumarin dalam Ekstrak Metanol Artemesia anna L. secara Kromatografi Lapis Tipis Buletin Penelitian Kesehatan. 2010; 38(1): 17–28.
- Hahn-Deinstrop, E. Applied Thin-Layer Chromatography. Weheim, Wiley VCH, 2007; 1(2): 154.
- Chen, J. Recognition and Prevention of Herb-Drug Interactions, Part 2: Pharmacodynamic Interactions. Naturopathy Digest. 2007; Available from: <http://www.naturopathydigest.com/archives/2007/jan/chen.php>. (Accessed February 25, 2011).
- Neal, M.J. Medical Pharmacology at A Glance. 4th Ed. Blackwell Science. Great Britain. 2002; 44–45.
- Blann AD, Landray MJ, Lip GYH. An Overview of Antithrombotic Therapy. In Lip GYH and Blann AD Ed. ABC of Antithrombotic Therapy. First published. Birmingham, BMJ Books, 2003; 1–4.
- Fitzmaurice DA, Blann AD, Lip GYH. Bleeding Risk of Antithrombotic Therapy. In Lip GYH and Blann AD Ed. ABC of Antithrombotic Therapy. First published. Birmingham, BMJ Books, 2003; 5–9.