

Kajian Subkronik 28 Hari Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* terhadap Kadar Laktat Dihidrogenase Tikus Betina

*A Subchronic 28 Days Study of Metanolic Extract *Scurrula Atropurpurea* to Lactate Dihydrogenase Levels of Female Rats*

Siti Imama Khoiriyah^{1*)}, Nour Athiroh AS^{2**)}, Hasan Zayadi³

¹²³Department of Biology FMIPA UNISMA, Indonesia

ABSTRAK

Kadar enzim *Laktat Dihidrogenase* (LDH) dapat mendeteksi perubahan fisiologis dalam tubuh. LDH memiliki 5 isoenzim yakni (LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄, LDH₅) yang terdapat hampir semua sel yang bermetabolisme. LDH merupakan salah satu enzim yang terdapat pada serum darah yang berada di jantung. Pada spesifikasi jantung terdapat LDH₁ dan LDH₂. Kerusakan otot jantung dapat diketahui dengan indikator meningkatnya kadar LDH. Tujuan Penelitian ini untuk mengetahui efek toksik Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans (EMSA) pada tikus wistar betina (*Rattus norvegicus*) secara subkronik selama 28 hari. Desain penelitian ini adalah *True Experimental Design* dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). EMSA dipaparkan 5 kali dalam seminggu selama 28 hari kepada 20 ekor tikus wistar betina dan dibagi menjadi 4 perlakuan, 1 perlakuan sebagai kontrol dan 3 perlakuan sebagai perlakuan yang diberi dosis EMSA yang berbeda yaitu 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Sebelum diberi perlakuan tikus diaklimatisasi selama kurang lebih 7 hari. Setelah 28 hari, hewan coba dibedah dan diambil serum darahnya untuk dilakukan uji kadar LDH. Hasil kadar LDH perlakuan dibandingkan dengan kontrol. Hasil penelitian menunjukkan bahwa kadar LDH serum tikus mengalami peningkatan pada dosis 1000 mg/KgBB dibandingkan dengan kontrol, tetapi setelah dilakukan uji ANOVA menunjukkan bahwa tikus perlakuan tidak berbeda nyata dibandingkan dengan tikus kontrol. Hal ini berarti bahwa EMSA tidak berpengaruh terhadap kadar LDH serum tikus betina dan tidak ada efek toksik yang ditimbulkan sehingga EMSA bersifat aman.

Kata kunci : LDH, Jantung, *Scurrula atropurpurea*, Subkronik.

ABSTRACT

Lactate Dihydrogenase (LDH) enzyme levels can detect physiological changes in the body. LDH has 5 isoenzymes (LDH₁, LDH₂, LDH₃, LDH₄, LDH₅) that is almost all the cells metabolism. LDH is one of an enzyme which is found in the blood serum in the heart. On specification of the heart there are LDH₁ and LDH₂. Heart muscle damage can be detected with an indicator of increased LDH levels. The aim of this research is to know the toxic effect of Metabolic Extract *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans (MESA) on female wistar rats (*Rattus norvegicus*) subchronic for 28 days. The design of this research is *True Experimental Design* with *Completely Randomized Design* (RAL). MESA described 5 times a week for 28 days to tailed rat wistar female and divide into 4 treatment, 1 treatment as control and 3 treatment as those who are doses different MESA the 250 mg/KgBW, 500 mg/KgBW and 1000 mg/KgBW. The rat in acclimatization for approximately 7 days before given the treatment. After 28 days, the animal tried in surgery and taken blood serum to test the levels of LDH. The results of LDH levels of the treatment were compared with the control. The results showed that the serum rat LDH concentration increased at 1000 mg/KgBW dose compared to control, but after the ANOVA test showed that the treatment rats were not significantly different from the rat control, meaning that MESA had no effect on the serum rat LDH females and no toxic effects are generated so that MESA is safe.

Keywords: LDH, Heart, *Scurrulaatropurpurea*, Subchronic.

*) Siti Imama Khoiriyah, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA. Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144 Tlp. 085604733058 email: Sitiimama15@gmail.com

**) Dr. Nour Athiroh AS S.Si., M.Kes, Jurusan Biologi FMIPA UNISMA. Jl. MT. Haryono 193, Malang 65144 Tlp. 081330017206 email: nur_athiroh_mlg@yahoo.co.id

Tanggal Diterima 14 Februari 2017 – Publikasi Tanggal 1 Januari 2019

Pendahuluan

Indonesiakaya akan tanaman obat, dan banyak industri farmasi dengan skala kecil sampai besar yang mulai tertarik mengembangkan produk herbal dalam bentuk simplisia ataupun yang sudah dalam bentuk ekstrak yang siap dikonsumsi [1]. Beberapa jenis herbal dari kelompok benalu teh dari famili *Loranthaceae* berpotensi sebagai antihipertensi. Daun dan batang tanaman ini mengandung *alkaloid*, *flavonoid*, *glikosida*, *triterpen*, *saponin*, dan *tanin* yang berperan sebagai antioksidan [2].

Untuk membuktikan keamanan benalu teh yang akan dijadikan sediaan herbal, telah dilakukan beberapa tahap uji. Pada uji in vitro benalu teh terbukti dapat menurunkan kontraktilitas pembuluh darah arteri ekor tikus terpisah melalui peran endotel mekanisme reendotelisasi [3][4]. Selanjutnya dilakukan uji in vivo pada tikus hipertensi yang dipapar DOCA-garam [5][6][7]. Hasil penelitian menunjukkan bahwa benalu teh *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans (famili *Loranthaceae*) menurunkan tekanan darah melalui perbaikan stres oksidatif dan disfungsi endotel [6][7] menurunkan kadar MDA paru [8][9][10].

Selanjutnya dilakukan uji lanjut berdasarkan uji toksisitas subkronik 28 hari, benalu teh dengan tikus wistar betina tidak menunjukkan adanya perbedaan yang signifikan antara tikus kontrol dengan tikus perlakuan terhadap uji biokimia klinis Protein total dan albumin [11], kreatinin [12], SGOT [13] dan SGPT [14]. Pada uji toksisitas subkronik 90 hari benalu teh menunjukkan nilai tidak berbeda nyata antara tikus kontrol dengan tikus perlakuan pada uji biokimia klinis nilai kadar kolesterol [15] dan nilai kadar lipid trigliserida [16].

Pemeriksaan biokimia klinis meliputi: trigliserida, protein total, albumin, GOT, GPT, kreatinin dan LDH [19]. Pada penelitian ini, akan dilakukan uji biokimia klinis enzim LDH yang berada dalam serum darah pada jantung. Jantung merupakan salah satu organ yang berperan dalam sistem peredaran darah [17]. Enzim LDH merupakan salah satu enzim yang terdapat pada organ jantung. Enzim ini dapat meningkat ketika jantung terjadi kerusakan jaringan atau organ.

Berdasarkan hal tersebut perlu dilakukan penelitian mengenai “Uji Kadar Enzim *Laktat dehidrogenase* (LDH) Pada Tikus Wistar Betina yang Dipapar Ekstrak Metanolik *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans Secara Subkronik Selama 28 Hari” untuk mengetahui efek toksik EMSA pada tikus wistar betina (*Rattus norvegicus*) secara subkronik selama 28 hari dengan melihat hasil pemeriksaan biokimia klinis yaitu kadar enzim LDH.

Material dan Metode

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan sebagai berikut: Kandang tikus, penutup kandang, buras, botol minum tikus, akuades, sekam dan alat sonde, blender, oven, timbangan analitik, gelas beaker, kulkas, cawan petri, botol selai dan *rotary vacuum evaporator*, alat seccio, spuit injeksi, papan bedah, handscone, masker, termos dan mikrosentrifuge.

Bahan yang digunakan dalam penelitian sebagai berikut: benalu teh (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans), metanol 90%, tikus wistar betina (*Rattus norvegicus*), susu pap, aquades dan anastesi eter.

Metode

Pembuatan Simplisia, Daun yang dipakai merupakan daun yang bersih dan tidak busuk kemudian daun dicuci hingga bersih. Daun benalu teh dikeringkan dengan dijemur dibawah sinar matahari hingga kering untuk kemudian dioven dengan suhu 40⁰-60⁰ C hingga daun kering dan bebas

kandungan air. Setelah daun benar-benar kering kemudian dipotong-potong hingga hancur kemudian dihaluskan dengan cara diblender hingga berbentuk simplisia [18].

Ekstraksi, 100 mg simplisia daun benalu teh dilarutkan dengan 1 liter metanol 90% lalu dilakukan pengkocokan dikocok kurang lebih 30-60 menit agar larutan menjadi homogen dan larutan diendapkan atau didiamkan selama 1 malam. *Supernatan* yang kandungannya merupakan zat aktif benalu teh dalam pelarut metanol diambil lalu kemudian dilakukan ekstraksi menggunakan *Rotary evaporator*[6][7][8][18].

Desain Penelitian, Penelitian ini merupakan penelitian *true eksperimental design*. Penelitian ini dengan rancangan acak lengkap pada 20 ekor tikus dengan tiga perlakuan dan setiap perlakuan terdapat 5 kali ulangan. Subjek penelitian ini yaitu menggunakan tikus betina (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar yang diberi paparan sediaan uji EMSA selama 28 hari (Sub Kronik).

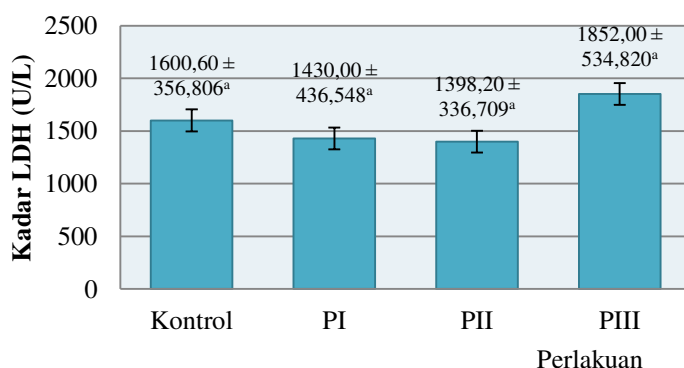
Uji Etik, Penelitian ini dilaksanakan setelah mendapatkan persetujuan dari Komisi Etika Penelitian Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang (*Ethical Clearance*) dengan nomor: 369/EC/KEPK/06/2015.

Pembedahan, Pengambilan Sampel dan Pemisahan Serum, Setelah 28 hari masa perlakuan, semua tikus diambil sesuai dengan urutan perlakuan untuk dilakukan pembedahan dan pengambilan sampel darah. Hewan coba dianestesi dengan eter sesuai dengan urutan perlakuan, selanjutnya tikus dibedah secara vertikal dari abdomen menuju arah thorax dengan menggunakan gunting sectio sampai seluruh abdomen terbuka. Darah diambil dengan perlahan pada bagian jantung (*cor*) menggunakan spuit injeksi steril 5 mL diletakkan dalam tabung ependorf. Kemudian setelah serum darah diambil dari semua perlakuan, selanjutnya akan dilakukan uji kadar LDH dalam serum [19].

Cara Kerja Pengukuran Kadar Enzim LDH, Pengukuran kadar enzim LDH dilakukan di Laboratorium Klinik Bromo Malang dengan menggunakan alat autanalyse yaitu Erba Manheim XL-600. Serum darah yang telah diambil dari hewan coba kemudian di analisis menggunakan alat Erba Manheim XL-600. Dengan alat ini secara otomatis kadar enzim LDH akan terdeteksi di layar komputer [20].

Analisis Data, Data yang telah didapatkan kemudian di uji statistika menggunakan program komputer SPSS versi 14.0. Digunakan uji *one-way analysis of variance* (ANOVA) untuk membandingkan perbedaan rerata yang lebih dari 2 perlakuan dengan tingkat kepercayaan 95%.

Hasil dan Diskusi



Keterangan :

^a) secara signifikan semua perlakuan PI, PII dan PIII tidak berbeda nyata dengan kontrol.

Gambar 1. Rerata Kadar LDH terhadap Tikus Betina (*Rattus norvegicus*) Strain Wistar Setelah Pemberian EMSA.

PI	: Dosis EMSA 250 mg/KgBB
PII	: Dosis EMSA 500 mg/KgBB
PIII	: Dosis EMSA 1000 mg/KgBB

Hasil Pengukuran Kadar Enzim Laktat Dehidrogenase Pada Tikus Wistar Betina: Setelah dilakukan pengujian kadar enzim LDH dalam serum darah tikus wistar betina, selanjutnya data di analisis dengan Uji *One Way ANOVAS* PSS 14.0. Hasil analisis secara statistik dapat dilihat dalam bentuk histogram (Gambar 1) sebagai berikut:

Pembahasan

Laktat dehidrogenase adalah enzim yang ditemukan di hampir semua sel tubuh, tetapi hanya dalam jumlah kecil yang biasanya terdeteksi dalam darah. LDH dilepaskan dari sel ke dalam aliran darah ketika sel rusak atau hancur [21]. Pada hepar peningkatan jumlah radikal bebas yang berlebihan tanpa diimbangi dengan pertahanan antioksidan yang memadai dapat mengakibatkan stress oksidatif. Sedangkan rendahnya kadar LDH dalam serum disebabkan adanya apoptosis pada sel sehingga tidak terjadi pembentukan enzim LDH dan juga disebabkan karena keadaan sel yang telah membaik sehingga tidak mengalami kebocoran membran yang menyebabkan enzim keluar dalam serum [22].

Enzim LDH merupakan enzim yang mengkatalis piruvat menjadi laktat. Pada reaksi enzim ini menghasilkan NADPH yang akan memberikan satu elektron (reduksi) pada oksigen sehingga menghasilkan anion superoksida (O_2^-) yang bersifat radikal. O_2^- akan dikatalis oleh SOD menjadi H_2O_2 . Apabila SOD didalam tubuh tidak bisa mengatasi radikal bebas maka Fe^{2+} akan mengubah H_2O_2 menghasilkan radikal bebas yang bersifat reaktif berupa $\cdot OH$ (radikal hidroksil). Senyawa H_2O_2 yang menjadi radikal hidroksil ($\cdot OH$) dengan mengalami reaksi fenton begitu pula dalam keadaan ketika nitrogen monoksida (NO) yang dibentuk oleh NO Synthase (NOS), maka O_2^- akan bereaksi dengan NO dan membentuk makromolekul berupa ONOO $\cdot$ (Nitrit Peroksida) dan sangat reaktif dalam merusak sel dan menyebabkan keracunan sel (Timo *et al.*, 2004). Apabila peningkatan radikal bebas ini semakin meningkat, sehingga akan menyebabkan jumlah radikal bebas didalam tubuh meningkat lebih banyak dibandingkan jumlah antioksidan didalam tubuh. Radikal bebas akan memicu terjadinya peroksidasi lipid membran yang menyebabkan kerusakan sel sehingga terjadi gangguan aktivitas pada Na^+ dan Ca^{2+} , terjadi kerusakan mitokondria sehingga produksi ATP menurun. Kerusakan yang terjadi pada mitokondria, membran sel dan retikulum endoplasmik menyebabkan gangguan homeostatis kalsium sehingga peningkatan Ca^{2+} di sitosol [23][24]. Peningkatan Ca^{2+} sebagai salah satu tanda adanya penyakit hipertensi [2]. Peningkatan Ca^{2+} dapat dihambat oleh EMSA sehingga tidak terjadi peningkatan Ca^{2+} intrasel dan tidak berpengaruh terhadap kadar Enzim LDH. Selain menghambat peningkatan Ca^{2+} , EMSA juga dapat bekerja menghambat NADPH oksidase sehingga tidak dapat menghasilkan O_2^- , memodulasi SOD, catalase dan peroksidase.

EMSA mengandung flavonoid yang bersifat sebagai antioksidan eksogen. Flavonoid dapat mencegah terbentuknya ROS dengan beberapa cara, yaitu menghambat kerja enzim xantin oksidase dan NADPH oksidase serta mengkelat logam (Fe^{2+} dan Cu^{2+}) sehingga dapat menghasilkan reaksi redoks yang dapat menghasilkan radikal bebas [25].

Hasil analisis yang telah dilakukan pada masing-masing perlakuan dengan pemberian dosis EMSA yang berbeda-beda yakni 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB. Pada tikus kontrol, P1, P2 dan P3 menunjukkan nilai rerata yang beragam. Pada masing-masing perlakuan menunjukkan hasil nilai yang tidak berbeda nyata ($p > 0,05$) yaitu nilai $p = 0,340$ meskipun pada perlakuan dosis EMSA 1000 mg/KgBB cenderung mengalami kenaikan namun masih bersifat aman dengan hasil nilai yang tidak berbeda nyata. Sehingga dapat diartikan bahwa dalam pemberian EMSA dengan dosis yang berbeda-beda pada hewan uji tikus wistar betina tidak mengalami toksik dan dapat dikatakan EMSA tidak berpengaruh terhadap kadar LDH serum sehingga bersifat aman.

Pada perlakuan dengan pemaparan EMSA dosis 250 mg/KgBB lebih optimum terhadap pengaruh kadar LDH serum. Hasil tersebut menunjukkan kadar LDH yang mendekati kontrol, sehingga dapat dikatakan dosis pada perlakuan ini efektif karena termasuk dosis terendah tetapi

mendapatkan hasil yang optimum. Perlakuan dengan dosis 250 mg/KgBB termasuk dosis optimum karena pemaparan obat pada manusia diharapkan dengan pemberian dosis terendah dengan jangka waktu tertentu atau keberlanjutan tidak menimbulkan penyakit

Penelitian tersebut juga didukung dengan pengamatan histopatologi organ pulmo, cor dan brain. Uji toksisitas subkronik EMSA selama 90 hari tidak berpengaruh atau tidak menimbulkan efek yang ditimbulkan terhadap kerusakan sel (nekrosis) pulmo [26], cor [27] dan brain [28] pada tikus wistar betina, sehingga EMSA aman untuk disondekan pada tikus wistar betina.

Kesimpulan

Pemberian EMSA pada tikus betina *Rattus norvegicus* strain wistar selama 28 hari (paparan subkronik) dengan dosis 250 mg/KgBB, 500 mg/KgBB dan 1000 mg/KgBB memiliki nilai tidak berbeda nyata antara tikus kontrol dengan perlakuan. Meskipun pada perlakuan dosis EMSA 1000 mg/KgBB cenderung mengalami kenaikan namun masih bersifat aman. Sehingga dapat diartikan bahwa pemberian EMSA tidak berpengaruh terhadap kadar enzim LDH dan tidak bersifat toksik (aman) terhadap tikus betina. Dengan demikian dosis optimum yang disarankan yaitu pada dosis 250 mg/KgBB.

Ucapan Terima Kasih

Terimakasih, kami sampaikan kepada Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Kementerian Riset dan Teknologi Pendidikan Tinggi, sesuai dengan Surat Perjanjian Pelaksanaan Penugasan Hibah Nomor: 022/SP2H/K2/KM/2017, tanggal 04 Mei 2017. Judul penelitian : Sediaan Herbal Benalu Teh Sebagai Kandidat Alternatif Obat Antihipertensi Alami Tradisional Indonesia yang telah membiayai penelitian ini.

Daftar Pustaka

- [1] Qomariyah, N. 2013. Recognizing and Understanding: Herbal Medicine. Farmakologi FK Universitas Muhammadiyah Yogyakarta. *Jurnal Mutiara Medika*. 3(2).
- [2] Athiroh, N and N. Permatasari. 2012. Mechanism of Tea Mistletoe Action on Blood Vessels. *Journal Brawijaya*. 27(1): 1-4.
- [3] Athiroh, N., Widodo MA, dan Widjajanto E. 2000. Efek *Scurrula oortiana* (Benalu Teh) dan *Macrosolen javanus* (Benalu Jambu Mawar) Terhadap Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Terpisah Dengan Atau Tanpa Endotel. Tesis. Malang: Universitas Brawijaya.
- [4] Athiroh, N. 2009. Kontraktilitas Pembuluh Darah Arteri Ekor Tikus Terpisah Dengan atau Tanpa Endotel Setelah Pemberian Ekstrak *Scurrula Oortiana* (Benalu Teh). *Jurnal Berkala Hayati* Edisi Khusus 3D: 31-34.
- [5] Athiroh, N dan Permatasari, N. 2011. Mekanisme Deoxycorticosterone acetate (DOCA)-garam terhadap Peningkatan Tekanan Darah pada Hewan Coba. *Jurnal Biologi el-Hayah*. 1 (4) : 1-4.
- [6] Athiroh, N., Permatasari, N., Sargowo, D., and Widodo, M.A. 2014. Antioxidative and Blood Pressure-Lowering Effects from *Scurrula atropurpurea* on DOCA-salt Hypertensive Rats. *Biomarkers and Genomic Medicine*. 6 (1) : 32-36.

- [7] Athiroh, N., Permatasari, N., Sargowo, D., and Widodo, M.A. 2014. Effect of *Scurrula atropurpurea* on Nitric Oxide, Endothelial Damage, and Endothelial Progenitor Cells of DOCA-salt Hypertensive Rats. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*. 17(8):622-625.
- [8] Athiroh, N dan Sulistyowati, E. 2013. *Scurullaatropurpurea* Increases Nitric Oxide and Decrease Malondeladehyde in Hypertensive Rats. *Jurnal Universa Medicina*. 32 (1): 44-50.
- [9] Athiroh, N., and Wahyuningsih, D. 2017. Study of Superoxide Dismutase and Malondialdehyde Concentrations in Mice After Administration of Methanolic Extract of *Scurrulaatropurpurea* (Bl.) Dans. *Jurnal Kedokteran Hewan, March 2017*. 11(1): 19-22.
- [10] Athiroh, N.A.S. 2017. Monografi Benalu Teh dan Hipertensi. Edisi 01. Intelegensia Media. Malang.
- [11] Sammad, F., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Injection of *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans Metanolic Extract in Sub-chronic to Total Protein and Albumin of Female Mice. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINSTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2(2): 49 – 54. ISSN : 2460-9455 (e) - 2338-2805(p).
- [12] Prastika, N.I., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Sub-Chronic Present Effect of *Scurrula atropurpurea* (Bl) Dans Methanolic Extract toward Creatinine Levels in Wistar rats. *E-Jurnal Ilmiah BIOSANTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2(2): 42-48. ISSN: 2460-9455(e)-2338-2805(p).
- [13] Hikmah, U., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Sub-Chronic Study of *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans Methanolic Extract toward SGOT Level in Female Wistar Rats. *e-Jurnal Ilmiah BIOSANTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 2(2): 30 – 35. ISSN: 2460-9455(e)-2338-2805(p).
- [14] Mahyan, A., Athiroh, N. dan Santoso, H. 2016. Exposure of *Scurrula atropurpurea* Methanolic Extract During 28 Days To SGPT Levels of Female Rat. *E-Jurnal Ilmiah BIOSANTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*., 2(1): 53-58., ISSN: 2460-9455(e)-2338-2805(p).
- [15] Zakia, J., Athiroh, N. 2017. Study of Sub Chronic during 90 Days: Effect of *Scurrulaatropurpurea* Extract toward Cholesterol Level in Rat (*Rattusnorvegicus*). *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINSTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3(2):37 – 43. ISSN :2460-9455 (e) - 2338-2805(p).
- [16] Fajrin, S., Athiroh, N. 2017. Study of Triglyceride Lipid Level in Rats after Sub-cronic Exposure within 90-Days of Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea*(Bl.) Dans. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINSTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3(2):24 – 29., ISSN : 2460-9455 (e) - 2338-2805(p).
- [17] Arifin, A. 2010. Gambaran Faktor Resiko Pasien Penyakit Jantung oroner Yang Menjalani Operasi *BYPASS* Di Rumah Sakit Jantung Harapan Kita Periode Januari-Desember Tahun 2009. Skripsi. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Syarif Hidayatullah Jakarta.
- [18] Athiroh, N., Sulistyowati. 2015. Evaluation of Methanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans Sub-Chronic Exposure On Wistar Rat Liver. *Advances in Environmental Biology*, 9(23): 245-250.
- [19] BPOM. 2014. *Pedoman Toksisitas Nonklinik Secara In Vivo*.
- [20] DiaSys. 2009. *Diagnostic System GmbH Alte Strasse 9 65558 Holzheim Germany*.
- [21] Bakrun, K. 2011. Suplementasi Jus Tomat Ranti (*Lycopersiccum pimpinellifolium* Mill.) Menurunkan Kadar Lactate Dehydrogenase (LDH) Serum Wistar dengan Aktivitas Fisik Maksimal. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.

- [22] Novration, I. R. 2016. Efek Minyak Atsiri Daun Sirsak (*Annona muricata* Linn) Terhadap Kadar ALP (*Alkaline Phosphatase*) Serum Tikus Wistar Jantan yang Diinduksi Rifampisin. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Islam Malang.
- [23] Kumar, Vinay., Cotran, R.S., and Robbins, S. L. 2007. *Buku Ajar Patologi Robbins*. Vol. 2 Ed. 7. EGC. Jakarta.
- [24] Chen, Jiezhong., dan Raymond, Kenneth. 2006. Roles of Rifampicin in Drug-Drug Interactions: Underlying Molecular Mechanisms Involving The Nuclear Pregnane X Receptor. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobial*, 5:3 p1-11.
- [25] Hardiningtyas, S., Purwaningsih, S., Handharyani, E. 2014. *Aktivitas Antioksidan dan efek Hepatoprotektif Daun Bakau Api-Api Putih*. JPHPI. 17(1).
- [26] Fahmiy, R., Athiroh, N. 2017. Study of 90 Days Sub Chronic: The Histopathology Profile in The Pulmo Tissue Rats Exposed *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans. *Extraction. e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3(1):39 – 45. ISSN : 2460-9455 (e) - 2338-2805(p).
- [27] Hidayati, D., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Histopathologic Profile in the Heart Tissue of 90-Days Sub-Chronic Rats Using Metanolic Extract of *Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dan S. *e-Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3(2): 30 – 36. ISSN : 2460-9455 (e) - 2338-2805(p).
- [28] Mihmidati, L., Athiroh, N., Santoso, H. 2017. Metanolic Extraction of (*Scurrula atropurpurea* (Bl.) Dans) Effect which is given 90-Days Sub-chronic on Female Rats (*Rattus norvegicus*) toward Necrosis of Brain. *Jurnal Ilmiah BIOSAINTROPIS (BIOSCIENCE-TROPIC)*. 3(2): 16-23., ISSN: 2460-9455(e)-2338-2805(p).