

Nilai Indeks Terapi Ekstrak Etanol Daun Dewa {*Gynura pseudochina* (Lour.) DC} dan Natrium Diklofenak pada Tikus Model Inflamasi

Donaliazarti,¹ Trully Sitorus,² Josep I. Sigit,³ Muchtan Sudjatno²

¹Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Abdurrab Riau, ²Departemen Farmakologi dan Terapi Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran Bandung, ³Program Pascasarjana Sekolah Farmasi Institut Teknologi Bandung

Abstrak

Indeks terapi merupakan parameter keamanan obat yaitu perbandingan dosis yang menyebabkan kematian pada 50% hewan uji (DL_{50}) dengan dosis yang menghasilkan efek terapi pada 50% hewan uji (DE_{50}). Inflamasi merupakan proses dasar berbagai penyakit dan daun dewa {*Gynura pseudochina* (Lour.) DC} merupakan salah satu tanaman obat yang terbukti sebagai antiinflamasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui indeks terapi ekstrak etanol daun dewa dan obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS) yang banyak digunakan yaitu natrium diklofenak. Penelitian dilakukan di Laboratorium Farmakologi Klinik Rumah Sakit Dr. Hasan Sadikin Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran pada bulan Agustus–Oktober 2009. Penelitian ini menggunakan rancangan eksperimental laboratorium dengan rancangan acak lengkap. Nilai DE_{50} dihitung berdasarkan kemampuan menghambat pembesaran radang sampai maksimal 75% pada jam ke-5 setelah pemberian zat. Nilai DL_{50} dihitung berdasarkan jumlah tikus yang mati selama 14 hari setelah diberikan dosis tunggal per oral. Berdasarkan statistik probit, DE_{50} ekstrak etanol daun dewa (22,78 mg/kgBB) lebih besar daripada DE_{50} natrium diklofenak (1,13 mg/kgBB) dan DL_{50} ekstrak etanol daun dewa (28,352.84 mg/kgBB) lebih besar daripada DL_{50} natrium diklofenak (49,41 mg/kgBB). Indeks terapi ekstrak etanol daun dewa (1.245:1) sebagai antiinflamasi lebih besar daripada indeks terapi natrium diklofenak (44:1). Simpulan, dari segi keamanan, ekstrak etanol daun dewa lebih baik daripada natrium diklofenak pada tikus model inflamasi. [MKB. 2012;44(2):90–5].

Kata kunci: Antiinflamasi, daun dewa, DE_{50} , DL_{50} , indeks terapi, natrium diklofenak

Therapeutic Index of Dewa Leaf {*Gynura pseudochina* (Lour.) DC} Ethanol Extract and Sodium Diclofenac in Inflammation Rat Model

Abstract

Therapeutic index, a drug safety parameter, is comparison between the dose at which 50% animals are dead (LD_{50}) and the dose at which 50% animals exhibit the specified effect (ED_{50}). Inflammation was a basic process in various diseases and Dewa leaf {*Gynura pseudochina* (Lour.) DC} was one of the herbal plants which has been proved as an anti-inflammatory. This study was conducted in order to know therapeutic index of Dewa leaf ethanol extract and sodium diclofenac, a common use non steroid anti inflammation drug (NSAID). The study was conducted in the Laboratory of Clinical Pharmacology Dr. Hasan Sadikin Hospital Faculty of Medicine Padjadjaran University in August–October 2009. This study used laboratory experimental design with a complete randomized block. Median effective dose was counted based on the ability to inhibit the inflammation process until maximal 75% in fifth hour after treatment. Median lethal dose was counted based on number animals dead until 14 days after single dose with oral administration. This research showed that ED_{50} of Dewa leaf ethanol extract (22.78 mg/kgBW) was bigger than ED_{50} of sodium diclofenac (1.13 mg/kgBW) and LD_{50} of Dewa leaf ethanol extract (28,352.84 mg/kgBW) was bigger than LD_{50} of sodium diclofenac (49.41 mg/kgBW). Therapeutic index of Dewa leaf ethanol extract (1,245:1) as anti-inflammatory was bigger than therapeutic index of sodium diclofenac (44:1). In conclusion, for a safety Dewa leaf ethanol extract is better than sodium diclofenac in inflammation rat model. [MKB. 2012;44(2):90–5].

Key words: Anti-inflammatory, dewa leaf, ED_{50} , LD_{50} , sodium diclofenac, therapeutic index

Korespondensi: Donaliazarti, dr., M.Kes, Program Studi Pendidikan Dokter Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Abdurrab Riau, jalan Riau Ujung 73 Pekanbaru 28292 Riau, telepon (0761) 38762, *mobile* 081394629985, *e-mail* ri_na@yahoo.com

Pendahuluan

Indonesia memiliki sekitar 30.000 spesies tumbuhan dan 940 spesies di antaranya termasuk tumbuhan berkhasiat yang merupakan potensi obat herbal. Obat herbal telah diterima secara luas di negara berkembang dan di negara maju. Hal ini disebabkan karena munculnya isu *back to nature* dan krisis yang berkepanjangan.¹ Pada segi keamanan, obat tradisional dapat dikatakan cukup aman mengingat pemakaian yang sudah lama, meskipun demikian efek samping obat tradisional tetap ada.²

Obat-obatan yang terbuat dari tanaman dan bahan alami dapat dikelompokkan menjadi jamu, obat herbal terstandar, dan fitofarmaka. Jamu adalah ramuan tradisional yang belum teruji secara praklinik ataupun klinik, sedangkan obat herbal terstandar adalah obat herbal yang sudah lulus uji praklinik. Uji praklinik dilakukan pada hewan untuk menguji efek dan keamanan obat. Fitofarmaka adalah obat herbal yang sudah lulus uji klinik. Jumlah terbesar di antara ketiganya yaitu jamu. Obat herbal terstandar hanya sekitar 20, sedangkan jumlah fitofarmaka sangat sedikit.³

Salah satu tanaman yang ternyata memiliki khasiat obat yaitu daun dewa. Tanaman ini seperti namanya “dewa” memiliki khasiat menyembuhkan berbagai jenis penyakit. Pemakaian daun dewa sebagai tanaman untuk pengobatan sebagian besar berupa pembuktian yang hanya berdasarkan pengalaman pengguna.⁴ Penelitian daun dewa sebagai antiinflamasi yang menguji efek ekstrak etanol daun dewa terhadap volume edema kaki tikus putih betina galur Wistar, menunjukkan bahwa dosis efektif ekstrak etanol daun dewa sebagai antiinflamasi adalah 22,5 mg/kgBB dan 37,5 mg/kgBB.⁵ Pada penelitian ini terbukti bahwa daun dewa memiliki efek antiinflamasi, akan tetapi belum diketahui perihal keamanannya.⁴

Keamanan obat perlu diketahui terutama obat dengan batas keamanan yang sempit karena interaksi obat yang merugikan dan berbagai hal yang memengaruhi respons penderita terhadap obat sehingga meningkatkan kadar obat dalam darah yang akhirnya akan memudahkan timbulnya efek toksik.⁶ Parameter keamanan obat dapat diperoleh dari hasil uji toksisitas (akut, subakut, kronik, dan khusus), indeks terapi, dan *therapeutic range*.⁷ Indeks terapi merupakan salah satu gambaran awal keamanan suatu obat yang diperoleh selama uji praklinik.²

Indeks terapi merupakan perbandingan dosis obat yang dibutuhkan untuk menyebabkan kematian atau letal pada 50% hewan uji dengan dosis yang menghasilkan efek terapi pada 50% hewan uji. Indeks terapi biasanya dirumuskan sebagai rasio DL_{50} dengan DE_{50} . Nilai indeks terapi yang besar menunjukkan bahwa terdapat batas yang luas

atau lebar di antara dosis yang efektif dan dosis yang menyebabkan kematian. Obat dengan indeks terapi besar dapat diberikan dengan lebih aman dibandingkan dengan obat dengan indeks terapi kecil.⁶

Indeks terapi suatu obat akan bervariasi bergantung pada efek yang akan diukur.⁶ Indeks terapi obat sebagai antiinflamasi penting untuk diketahui karena inflamasi merupakan proses dasar berbagai penyakit. Inflamasi merupakan reaksi yang kompleks terhadap berbagai hal yang merusak jaringan misalnya trauma fisik, mikrob, dan berbagai senyawa kimia.⁸ Salah satu zat kimia yang dapat menginduksi inflamasi yaitu karagenin-lambda (karagenin- λ) yang mampu menimbulkan edema.⁹

Pengobatan penyakit inflamasi melibatkan dua tujuan utama yaitu mengurangi rasa nyeri dan memperlambat proses kerusakan jaringan. Salah satu obat yang dipakai yaitu obat antiinflamasi nonsteroid (OAINS). Natrium diklofenak sebagai sediaan OAINS yang banyak digunakan serta potensinya lebih besar bila dibandingkan dengan indometasin, naproksen, dan obat lain. Penggunaan OAINS biasanya berlangsung lama sehingga tidak jarang dapat menimbulkan masalah, di antaranya ulkus peptikum, nefrotoksik, hepatotoksik, bahkan menyebabkan kematian.¹⁰

Oleh karena parameter keamanan obat atau bahan alam ini penting, maka tujuan penelitian ini untuk mengetahui nilai indeks terapi ekstrak etanol daun dewa dan natrium diklofenak pada tikus model inflamasi.

Metode

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu tikus putih betina galur Wistar sebagai subjek penelitian, ekstrak etanol daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour.) DC), natrium diklofenak, karagenin- λ *carboxyl methyl cellulosa* 1% (CMC 1%), NaCl 0,9%, etanol 70%, akuades, dan makanan tikus.

Jumlah sampel penelitian ditentukan dengan menggunakan formula uji hipotesis dua rata-rata dan berdasarkan *Institutional Animal Care and Use Committee* (IACUC) sehingga diperoleh jumlah hewan coba satu kelompok (n) 6 ekor. Teknik pengambilan sampel yang digunakan yaitu *simple random sampling*. Jumlah sampel yang dibutuhkan sebanyak 60 ekor untuk DE_{50} dan 60 ekor untuk DL_{50} .

Hewan coba sebanyak 120 ekor ditimbang kemudian diadaptasikan selama satu minggu di Laboratorium Farmakologi Klinik RS Dr. Hasan Sadikin Fakultas Kedokteran Universitas Padjadjaran. Setelah masa adaptasi berakhir, tikus

ditimbang lagi untuk memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Kriteria inklusi: tikus dalam kondisi sehat, bergerak aktif, bobot 160–200 mg dan umur sekitar 2 bulan. Kriteria eksklusi yaitu terjadi penurunan bobot tikus >10% selama adaptasi atau tikus terlihat sakit. Pada hari ke-8 tikus dipuaskan sekitar 18 jam sebelum dilakukan percobaan, namun tetap diberikan air minum. Masing-masing 60 ekor tikus penelitian DE₅₀ dan DL₅₀ dibagi menjadi 30 ekor untuk ekstrak etanol daun dewa dan 30 ekor lainnya untuk natrium diklofenak kemudian 30 ekor tikus tersebut dikelompokkan lagi menjadi 5 kelompok.

Masing-masing tikus dilakukan pengukuran volume kaki kanan sebagai volume awal sebelum induksi kemudian diberikan ekstrak etanol daun dewa atau natrium diklofenak masing-masing sebanyak satu kali. Kelompok A₁ diberikan *carboxyl methyl cellulosa* (CMC) 1%, A₂, A₃, A₄, dan A₅ diberikan ekstrak etanol daun dewa dengan dosis 20 mg/kgBB, 25 mg/kgBB, 35 mg/kgBB, dan 55 mg/kgBB. Kelompok B₁ diberikan CMC 1%, B₂, B₃, B₄ dan B₅ diberikan natrium diklofenak berturut-turut dengan dosis 0,56 mg/kgBB; 1,125 mg/kgBB; 2,25 mg/kgBB; dan 4,5 mg/kgBB.

Satu jam kemudian, semua tikus tiap kelompok diinduksi memergunakan larutan karagenin-λ 1% sebanyak 0,05 mL pada telapak kaki kanan secara subplantar. Pengukuran volume kaki kanan tikus untuk semua kelompok dilakukan pada jam ke-5 setelah pemberian ekstrak atau natrium diklofenak dengan alat pletismometer. Hasil pengurangan volume kaki kanan sesudah dan sebelum diinduksi merupakan volume edema.

Setiap tikus hanya diberikan ekstrak etanol daun dewa atau natrium diklofenak sebanyak satu kali, kemudian dilakukan pengamatan jumlah tikus yang mati sampai hari ke-14 setelah perlakuan. Kelompok C₁ hanya diberikan CMC 1%, C₂, C₃, C₄,

dan C₅ diberikan ekstrak etanol daun dewa berturut-turut dengan dosis 7.500 mg/kgBB, 15.000 mg/kgBB, 25.000 mg/kgBB, dan 30.000 mg/kgBB. Kelompok D₁ hanya diberikan CMC 1%, D₂, D₃, D₄ dan D₅ diberikan natrium diklofenak berturut-turut dengan dosis 19,53 mg/kgBB, 31,25 mg/kgBB, 78,125 mg/kgBB, dan 125 mg/kgBB.

Analisis yang digunakan yaitu analisis statistik probit. Penentuan indeks terapi berdasarkan rumus indeks terapi DL₅₀/DE₅₀.

Dampak etik yaitu ketidaknyamanan akibat perlakuan dan tindakan dalam penelitian. Dampak perlakuan dapat dikurangi dengan melakukan proses adaptasi selama 1 minggu dan pendekatan 3R (*refinement, reduction, dan replacement*). Penelitian ini telah mempertimbangkan aspek etika penelitian yang dapat dipertanggungjawabkan.

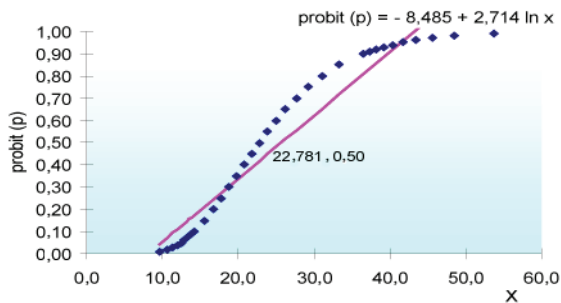
Hasil

Data subjek penelitian yang menunjukkan efek dianalisis dengan menggunakan program statistik probit diperoleh hasil sebagai berikut: probit (p) = -8,485 + 2,714 ln x (*goodness of fit test* = 0,297; p = 0,862). DE₅₀ (95% IK) = 22,78 (6,90–29,53) (Gambar 1). Jadi, nilai DE₅₀ ekstrak etanol daun dewa sebesar 22,78 mg/kgBB.

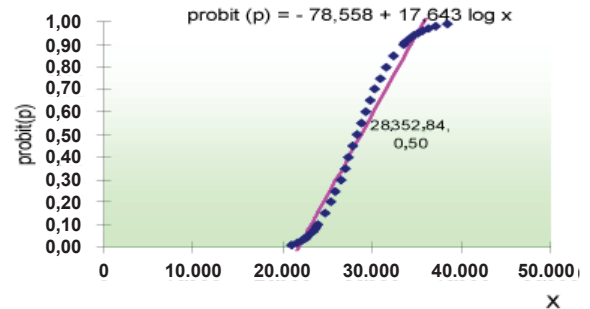
Data subjek penelitian yang menunjukkan efek dianalisis dengan menggunakan program statistik probit dan diperoleh hasil sebagai berikut: probit (p) = -1,195 + 1,057x (*goodness of fit test* = 1,164; p = 0,559). DE₅₀ (95% IK) = 1,13 (0,92–2,22) (Gambar 2). Jadi, nilai DE₅₀ natrium diklofenak sebesar 1,13 mg/kgBB. Data subjek penelitian yang mengalami kematian dianalisis menggunakan program statistik probit diperoleh hasil sebagai berikut: probit (p) = -78,558 + 17,643 log x (*goodness of fit test* = 0,001; p = 1,000). DL₅₀

Tabel 1 Jumlah Tikus yang Memberikan Efek pada Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Dewa dan Natrium Diklofenak

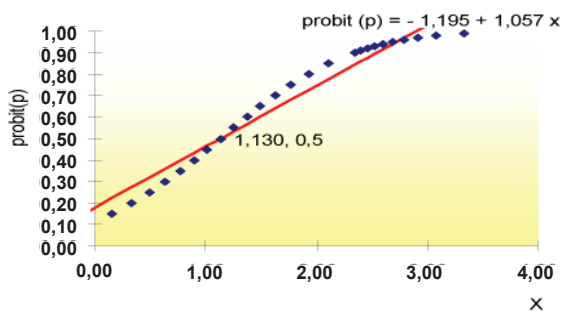
Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah Tikus per Kelompok	Berefek Jumlah
Ekstrak etanol			
I	-	6	0
II	20	6	2
III	25	6	4
IV	35	6	5
V	55	6	6
Natrium diklofenak			
I	-	6	0
II	0,560	6	1
III	1,125	6	4
IV	2,250	6	5
V	4,500	6	6



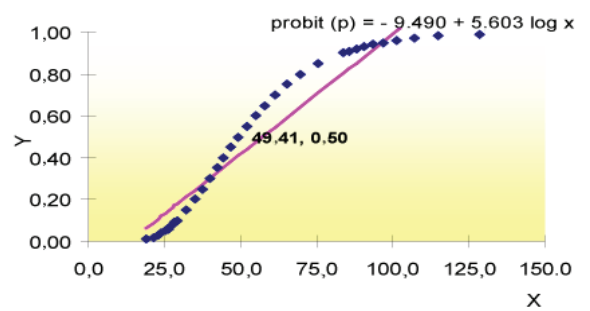
Gambar 1 Grafik Persamaan Garis Probit dan Nilai DE₅₀ Ekstrak Etanol Daun Dewa



Gambar 3 Grafik Persamaan Garis Probit dan Nilai DL₅₀ Ekstrak Etanol Daun Dewa



Gambar 2 Grafik Persamaan Garis Probit dan Nilai DE₅₀ Natrium Diklofenak



Gambar 4 Grafik Persamaan Garis Probit dan Nilai DL₅₀ Natrium Diklofenak

(95% IK)=28.352,84 (27.651,76–29.178,70) (Gambar 3). Jadi nilai DL₅₀ ekstrak etanol daun dewa sebesar 28.352,84 mg/kgBB. Data subjek penelitian yang mengalami kematian dianalisis menggunakan program statistik probit diperoleh hasil sebagai berikut: probit (p)=-9,490+5,603 log x (*goodness of fit test*=4,460; p=0,108). DL₅₀ (95%IK)=49,41 (36,41–67,04) (Gambar 4). Jadi, nilai DL₅₀ natrium diklofenak sebesar

49,41 mg/kgBB. Indeks terapi dihitung dengan membandingkan nilai DL₅₀ terhadap DE₅₀. Indeks terapi=DL₅₀/DE₅₀.
Keterangan:
DL₅₀=dosis letal 50 atau dosis letal median
DE₅₀=dosis efektif 50 atau dosis efektif median
Indeks terapi ekstrak etanol daun dewa=28.353,84/22,78=1.245/1
Indeksterapi natriumdiklofenak=49,41/1,13=44/1

Tabel 2 Jumlah Tikus yang Mati pada Perlakuan Ekstrak Etanol Daun Dewa dan Natrium Diklofenak

Kelompok	Dosis (mg/kgBB)	Jumlah Tikus per Kelompok	Mati Jumlah
Ekstrak etanol			
I	-	6	0
II	7.500	6	0
III	15.000	6	0
IV	25.000	6	1
V	30.000	6	4
Natrium diklofenak			
I	-	6	0
II	19,530	6	0
III	31,250	6	1
IV	78,125	6	5
V	125,000	6	6

Pembahasan

Keamanan obat perlu diamati terutama obat dengan batas keamanan yang sempit karena interaksi obat yang merugikan dan berbagai hal yang memengaruhi respons penderita terhadap obat sehingga meningkatkan kadar obat dalam darah yang akhirnya akan memudahkan timbulnya efek toksik.⁶ Parameter keamanan obat dapat diperoleh dari hasil uji toksisitas (akut, subakut, kronik, dan khusus), indeks terapi, dan *therapeutic range*.⁷ Indeks terapi merupakan salah satu gambaran awal keamanan suatu obat yang diperoleh selama uji praklinik.²

Penentuan indeks terapi ekstrak etanol daun dewa perlu dilakukan karena daun dewa merupakan salah satu tanaman obat yang sudah dipakai masyarakat secara luas untuk mengobati berbagai macam penyakit dan selain itu daun dewa telah diteliti serta terbukti manfaat terapinya. Indeks terapi ekstrak etanol daun dewa dilakukan untuk mengetahui efektivitas dan keamanan pemakaian daun dewa sehingga dapat dikembangkan lebih lanjut menjadi fitofarmaka. Daun dewa sebagai antiinflamasi oral penelitiannya perlu dikembangkan lebih lanjut mengenai efektivitas dan keamanannya, mengingat inflamasi merupakan proses dasar pada banyak penyakit⁸ dan gejala inflamasi tersebut membuat masyarakat cepat mencari pengobatan untuk mengurangi gejala dan menyembuhkan penyakitnya.

Nilai DE_{50} dipergunakan untuk membandingkan potensi obat-obatan yang ada.¹⁰ Subjek penelitian yang digunakan tikus betina karena respons inflamasi lokal yang diinduksi karagenin paling kuat muncul pada tikus betina.¹¹ Nilai DE_{50} ekstrak etanol daun dewa (22,78 mg/kgBB) lebih besar daripada DE_{50} natrium diklofenak (1,13 mg/kgBB) yang berarti daun dewa kurang poten dibandingkan dengan natrium diklofenak sebagai antiinflamasi oral. Hal ini disebabkan oleh karena daun dewa sebagai tanaman obat masih terdiri atas berbagai macam kandungan zat aktif yang mekanisme kerjanya tidak harus selalu komplementer dalam menghambat inflamasi atau mekanisme kerjanya saling berimbang sehingga dosis yang diperlukan menjadi lebih tinggi. Natrium diklofenak hanya memiliki satu zat aktif yang mekanisme kerjanya sudah jelas sebagai antiinflamasi.

Nilai DL_{50} merupakan bagian dari toksisitas akut yaitu dengan melihat efek dosis tunggal suatu bahan atau obat yang biasanya bermanifestasi dalam 14 hari.¹² Hasil pengujian DL_{50} ekstrak etanol daun dewa (28.352,84 mg/kgBB) lebih besar daripada DL_{50} natrium diklofenak (49,41 mg/kgBB). Berdasarkan tabel toksisitas obat atau suatu bahan berdasarkan nilai DL_{50} , maka ekstrak etanol daun dewa termasuk dalam *practically nontoxic*

(>15 g/kgBB) sedangkan natrium diklofenak termasuk dalam *extremely toxic* (5–50 mg/kgBB). Hal ini berarti daun dewa lebih aman dibandingkan dengan natrium diklofenak. Nilai DL_{50} ekstrak etanol daun dewa lebih besar daripada natrium diklofenak disebabkan karena beberapa zat aktif dalam daun dewa tersebut yang dapat menetralkan efek merugikan zat aktif yang lain sehingga akan saling menyeimbangkan efeknya.

Nilai DL_{50} natrium diklofenak pada penelitian ini lebih kecil daripada DL_{50} natrium diklofenak (53 mg/kgBB) pada penelitian sebelumnya. Hal ini disebabkan terdapatnya perbedaan subjek penelitian yang digunakan sehingga memengaruhi kerentanan terhadap natrium diklofenak. Perbandingan DL_{50} dengan DE_{50} menghasilkan indeks terapi ekstrak etanol daun dewa yaitu 1.245:1 yang lebih besar daripada indeks terapi natrium diklofenak yaitu 44:1.

Nilai DL_{50} ekstrak etanol daun dewa (28.352 mg/kgBB) lebih tinggi jika dibandingkan dengan DL_{50} ekstrak air daun gandarusa yang secara empiris digunakan sebagai antireumatik (21.000 mg/kgBB mencit jika dikonversi dengan tabel Laurence & Bacharach menjadi 14.7000 mg/kgBB tikus).¹³ Penelitian tentang indeks terapi tanaman obat sebagai antiinflamasi masih jarang dilakukan.

Nilai indeks terapi dapat memberikan gambaran keamanan antara dosis yang memberikan efek terapi dan dosis yang menyebabkan kematian atau letal; berarti ekstrak etanol daun dewa dapat diberikan dengan lebih aman sebagai antiinflamasi oral dibandingkan dengan natrium diklofenak pada tikus putih betina galur Wistar. Simpulan, indeks terapi ekstrak etanol daun dewa sebagai antiinflamasi oral lebih besar daripada natrium diklofenak yang berarti bahwa pada segi keamanan, ekstrak etanol daun dewa lebih baik daripada natrium diklofenak pada tikus model inflamasi.

Ucapan Terima Kasih

Terima kasih kami sampaikan pada Laboratorium Farmakologi Klinik RSHS dan Unit Penelitian Kesehatan (UPK) RSHS Bandung atas segala fasilitas yang diberikan selama penelitian ini serta semua pihak yang telah membantu hingga penelitian ini berjalan lancar.

Daftar Pustaka

1. Sukandar EY. Tren dan paradigma dunia farmasi: industri-klinik-teknologi kesehatan. Departemen Farmasi FMIPA. 2004 [diunduh 20 Juli 2009]. Tersedia dari: <http://www.itb.ac.id>.
2. Soemardji AA. Etnofarmakologi dalam

- pengembangan obat bahan alam. Simposium Obat Tradisional. IKAFI Bandung; 2007.
3. Nurkhasanah. Bahan obat alam sumber pendapatan pembangunan. Fakultas Farmasi Universitas Ahmad Dahlan. 2006 [diunduh 22 Juli 2009]. Tersedia dari: <http://www.pkukmweb.ukm.my>.
 4. Priadi A. Budidaya daun dewa: tanaman berkhasiat obat. Yogyakarta: Kanisius; 2004.
 5. Soehono L. Efek ekstrak etanol daun dewa (*Gynura pseudochina* (Lour) DC) terhadap volume edema dan kadar malondialdehid telapak kaki tikus putih betina galur Wistar yang diinduksi agen inflamasi karagenin-lambda dibandingkan dengan diklofenak [tesis]. Bandung: Universitas Padjadjaran; 2009.
 6. Bourne HR, Zastrow VM. Drug receptors & pharmacodynamics. Dalam: Katzung BG, penyunting. Basic and clinical pharmacology. Edisi ke-10. Amerika Serikat: The McGraw-Hill; 2007. hlm. 11–33.
 7. Dzulkarnain B. Obat tradisional tidak tanpa bahaya. Pusat Penelitian dan Pengembangan Farmasi, Badan Litbang Kesehatan. Jakarta: Depkes RI; 1990 [diunduh 25 Juli 2009]. Tersedia dari: <http://www.kalbe.co.id/files.cdk>.
 8. Robbins SL, Cotran RS. Acute and chronic inflammation. Dalam: Kumar V, Abbas AK, Fausto N, penyunting. Pathologic basis of disease. Edisi ke-7. Amerika Serikat: Elsevier Saunders; 2005. hlm. 47–85.
 9. Harborne JB. Metode fitokimia: penuntun cara modern menganalisis tumbuhan. Bandung: Penerbit ITB; 1987.
 10. Wagner W, Khanna P, Furst DE. Nonsteroidal anti-inflammatory drugs, disease modifying antirheumatic drugs, nonopioid analgesics & drug used in gout. Dalam: Katzung BG, penyunting. Basic & clinical pharmacology. Edisi ke-10. Amerika Serikat: Mc Graw Hill; 2007. hlm. 576–99.
 11. Whiteley PE, Dalrymple SA. Models of inflammation: carrageenan-induced paw edema in the rat. Current Protocols in Pharmacology. 1998 [diunduh 25 Juli 2009]. Tersedia dari: <http://www.currentprotocols.com>.
 12. Langley G. Acute toxicity testing without animals. European Coalition to End Animal Experiments. March 2005 [diunduh 23 Juli 2009]. Tersedia dari: <http://www.buav.org>.
 13. Soemardji AA, Kumolosasi E, Aisyah C. Toksisitas akut dan penentuan DL50 oral ekstrak air daun gendarusa (*Justicia gendarussa* Burm. F.) pada mencit swiss Webster. Jurnal Matematika dan Sains. 2002 [diunduh 13 Maret 2012]. Tersedia dari: <http://journal.fmipa.itb.ac.id>.