

## BIJI MELINJO (*Gnetum gnemon* L.) : AKTIVITAS SEBAGAI ANTIDIARE

Widya Kardela<sup>1\*</sup>, Shonya Mayesri<sup>1</sup>, Fitra Fauziah<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang  
E-mail: [widyakardela@stifarm-padang.ac.id](mailto:widyakardela@stifarm-padang.ac.id)

### Abstrak

Salah satu tumbuhan obat Indonesia yang masih dibutuhkan pengujian efek farmakologinya adalah Melinjo (*Gnetum gnemon* L.). Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap diare pada mencit putih jantan yang diinduksi dengan minyak jarak (*Oleum ricini*). Metode yang digunakan untuk pengujian antidiare adalah pola defekasi dan metode transit intestinal. Parameter yang diamati meliputi frekuensi defekasi, konsistensi feses, berat feses setiap 30 menit selama 4 jam, dan panjang marker norit pada usus mencit. Ekstrak diberikan secara oral dengan dosis 150 mg/kgBB, 300 mg/kg BB dan 600 mg/kg BB, sebagai pembanding digunakan loperamid HCl dosis 2 mg/kgBB. Dari hasil penelitian didapat bahwa ekstrak etanol biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) pada dosis 600 mg/kgBB memberikan pengaruh antidiare lebih baik dibandingkan dengan dosis 300 mg/kgBB dan dosis 150 mg/kg BB. Peningkatan aktivitas antidiare terlihat seiring dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak etanol biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) ( $P < 0,05$ ).

**Kata Kunci :** Antidiare; Biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.); *Oleum ricini*

### Abstract

Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) is one of medical plant at Indonesia which required to know pharmacology activity. The aim of this research is to know the ethanol extract of melinjo seed (*Gnetum gnemon* L.) effect on diarrhea in male white mouse induced by castor oil (*Oleum ricini*). This assay used pattern of defecation and intestinal transit method. The parameters was observed frequency of defecation, stool consistency, stool weight every 30 minutes for 4 hours, and the length of the marker norit in the intestine of mice. The extract was administered orally at a dose of 150 mg / kg BW, 300 mg / kgBW and 600 mg / kgBW, as compared loperamide HCl used a dose of 2 mg / kg BW. The result showed that ethanol extract of seed Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) at dose of 600 mg / kg BW has antidiarrheal effect which is better than a dose of 300 mg / kg BW and 150 mg / kg BW. Antidiarrheal seen increased activity along with increased doses of ethanol extract of leaves seed Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) ( $P < 0.05$ ).

**Key words :** Antidiarrheal; extract of melinjo seed (*Gnetum gnemon* L.); *oleum ricini*

### PENDAHULUAN

Diare merupakan masalah yang banyak terdapat di negara-negara berkembang dengan standar hidup yang rendah, dimana dehidrasi akibat diare merupakan salah satu penyebab kematian penting pada anak-anak (Tjay & Rahardja, 2007). Diare adalah peningkatan frekuensi dan penurunan konsistensi dari feses bila dibandingkan dengan individu yang normal, dengan kata lain diare adalah buang air besar lembek atau cair yang terjadi sebanyak tiga kali atau lebih dalam waktu 24 jam (Dipiro, *et al.*, 2005).

Diare disebabkan oleh meningkatnya peristaltik usus tersebut,

sehingga pelintasan kimus sangat dipercepat dan masih mengandung banyak air pada saat meninggalkan tubuh sebagai tinja (Tjay & Rahardja, 2007). Salah satu tanaman di Indonesia yang sering digunakan sebagai bahan pengobatan alami yaitu melinjo. Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) merupakan tanaman yang memiliki banyak manfaat. Dari penelitian yang telah dilakukan sebelumnya ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terbukti memiliki aktivitas antibakteri, khususnya terhadap *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Staphylococcus aureus* ATCC 25953, *Enterobacter aerogenes* ATCC 13048

(Parhusip & sitanggung, 2011). Pada penelitian Ira & Ikhdha, (2015) biji melinjo berkhasiat sebagai antihiperlikemia. Selain itu pada penelitian Kato, *et al.*, (2009) biji melinjo juga terbukti berkhasiat sebagai antimikroba terhadap mikroorganisme makanan dan enterobakteri.

Biji melinjo mengandung 9-11% protein, 16,4% lemak, 58% pati, fenol dan resveratrol (Kato, *et al.*, 2009). Pada penelitian antihiperlikemia biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) juga dilakukan uji skrining fitokimia dan diperoleh hasil positif mengandung beberapa senyawa diantaranya adalah alkaloid, flavonoid, saponin dan tanin (Ira & Ikhdha, 2015).

Tanin adalah salah satu senyawa utama yang terdapat pada daun jambu biji yang dapat digunakan sebagai obat diare, hasil penelitian Sukardi (2007) membuktikan bahwa kadar tanin pada daun jambu biji sebesar 7,82 % dan dosis pemakaian kadar tanin untuk sekali minum setara dengan 3 kapsul ekstrak daun jambu biji. Dari hasil penelitian Mukhriani (2014) kadar tanin yang didapat pada biji jantan adalah 4,13 %. Pada penelitian lanjutan penetapan kadar tanin dalam infusa daun salam yang berkhasiat sebagai antidiare didapatkan kadar tanin berturut-turut sebesar 1,513% dan 0,288% menggunakan spektrofotometri sinar tampak (Kharismawati, 2009).

Berdasarkan uraian di atas, maka peneliti tertarik untuk menelusuri pengaruh ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap diare pada mencit putih jantan yang diinduksi minyak jarak (*Oleum ricini*).

## **Pelaksanaan Penelitian**

### **Alat Penelitian:**

Pisau, gelas ukur, jarum oral, mortar dan stamper, timbangan hewan Triple Beam Balance (Ohaus<sup>®</sup>), timbangan analitik (Precisa<sup>®</sup>), blender, seperangkat alat bedah hewan, meja bedah hewan, botol maserasi, *rotary evaporator* (Ika<sup>®</sup>), corong pisah, kertas saring, krus, botol timbang,

kandang mencit, TLC Silica gel F<sub>254</sub> (Merck<sup>®</sup>), Lampu UV 366 nm (Merck<sup>®</sup>) dan *stopwatch*.

### **Bahan Penelitian:**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Biji Melinjo, etanol 70 % (Bratachem), Norit (PT Kimia Farma), Natrium Carboxymethyl Cellulose (Bratachem), Oleum ricini (Bratachem), Loperamid (Lodia<sup>®</sup> Sanbe Farma), metanol (Bratachem), asam asetat (Bratachem), etil asetat (Bratachem).

### **Pembuatan Ekstrak Biji Melinjo**

Simplisia ditimbang 500 g dibagi menjadi 5 bagian yang masing-masingnya sebanyak 100 g. Kemudian dimasukan masing-masing bagian serbuk simplisia kering ke dalam botol maserator yang gelap, tambahkan 1000 ml pelarut (etanol 70 %). Rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-kali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Dipisahkan maserat dengan cara filtrasi menggunakan kain flanel, diulangi proses penyarian sebanyak tiga kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Dikumpulkan semua maserat kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2008).

### **Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Biji Melinjo**

#### **1. Alkaloid**

Pengukuran kandungan alkaloid dilakukan dengan melarutkan ekstrak sampel dalam asam hidroklorida encer lalu disaring kemudian filtrat diuji dengan pereaksi alkaloid, yaitu Dragendorff. Filtrat ditambahkan reagen Dragendorff (larutan kalium bismuth iodida) terbentuk endapan merah menunjukkan adanya alkaloid.

#### **2. Glikosida**

Ekstrak di hidrolisis dengan HCl, kemudian filtrat diperlakukan dengan FeCl<sub>3</sub> dan direndam di dalam air mendidih selama 5 menit, kemudian dinginkan dan pisahkan lapisan benzena lalu diolah dengan larutan

amonias. Pembentukan warna merah muda mawar dilapisan amonia menunjukkan adanya glikosida.

3. Saponin

Ekstrak sebanyak 0,5 g dilarutkan dalam 2 mL air kemudian dikocok, jika busa yang dihasilkan bertahan selama 10 menit, ini menunjukkan adanya saponin.

4. Fitosterol

Ekstrak diperlakukan dengan kloroform dan disaring. Filtrat diberi beberapa tetes asam sulfat pekat, lalu dikocok. Penampilan warna kuning keemasan menunjukkan adanya triterpen.

5. Fenol

Uji besi klorida: sejumlah ekstrak sampel ditambahkan dengan 3 tetes larutan besi klorida. Terbentuk warna hitam kebiruan menunjukkan adanya fenol.

6. Tanin

Ekstrak ditambahkan 1 % gelatin yang dilarutkan dengan natrium klorida. Pembentukan endapan putih menunjukkan adanya tanin.

7. Flavonoid

Uji timbal asetat: sejumlah ekstrak dideteksi dengan beberapa tetes larutan timbal asetat. Terbentuk endapan warna kuning menunjukkan adanya flavonoid.

8. Protein

Ekstrak ditambahkan beberapa tetes asam nitrat. Pembentukan warna

**Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Biji Melinjo Metode Pola Defekasi**

Mencit putih jantan sebanyak 25 ekor dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok, sebelum diperlakukan mencit dipuasakan selama 1 jam sebelum percobaan dimulai. Tiap hewan pada kelompok kontrol positif (+) diberikan Oleum ricini secara oral, kelompok ke 2 diberikan ekstrak biji melinjo dosis 150 mg/Kg BB, kelompok 3 dosis 300 mg/Kg BB, kelompok 4 dosis 600 mg/Kg BB, dan pembanding diberikan suspensi loperamid secara oral. Pada satu jam setelah perlakuan, kelompok uji dosis 150 mg/Kg BB, dosis 300 mg/Kg BB, dosis 600 mg/Kg BB dan pembanding diberikan Oleum

ricini. Respon tiap mencit diamati selang 30 menit sampai pada 4 jam setelah pemberian Oleum ricini. Respon tersebut meliputi frekuensi BAB, konsistensi dan berat feses (Suherman, *et al.*, 2015).

**Uji Aktivitas Antidiare Ekstrak Biji Melinjo Metode Transit Intestinal**

Mencit putih jantan sebanyak 25 ekor dikelompokkan secara random menjadi 5 kelompok, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Sebelum diperlakukan mencit dipuasakan 18 jam sebelum percobaan dengan tetap diberi minum (Rajput, *et al.*, 2011). Masing-masing hewan pada kontrol positif (+) diberikan Oleum ricini secara oral, kelompok ke 2 diberikan ekstrak biji melinjo dosis 150 mg/Kg BB, kelompok 3 dosis 300 mg/Kg BB, kelompok 4 dosis 600 mg/Kg BB, dan pembanding diberikan suspensi loperamid HCl secara oral. Satu jam setelah perlakuan, tiap kelompok mencit kecuali kelompok kontrol positif diberikan Oleum ricini 0,5 mL. Empat puluh lima menit kemudian, hewan uji diberikan suspensi norit 0,2 ml. Pada menit ke dua puluh, mencit dikorbankan secara dislokasi tulang leher, kemudian ususnya dikeluarkan dengan hati-hati. Usus direntangkan tanpa diregangkan, gunakan gunting untuk memutus jaringan ikat pada usus, dan rentangkan usus diatas kertas. Ukur panjang usus yang ditempuh oleh norit dan panjang usus keseluruhan menggunakan mistar. Pengukuran Panjang Lintasan Norit, panjang usus yang dilalui norit diukur mulai dari pilorus sampai ujung akhir warna hitam, demikian juga dengan panjang usus keseluruhan mulai dari pilorus sampai ke kolon (Suherman, *et al.*, 2015).

Rasio lintasan norit diukur dengan menggunakan rumus:

$$\text{Rasio Lintasan Norit} = \frac{\text{Panjang usus yang dilalui norit}}{\text{Panjang usus seluruhnya}} \times 100 \%$$

## HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini sampel yang digunakan adalah biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) yang didapatkan di daerah Sungai Lareh RT 1 RW 3, Kelurahan Lubuk Minturun, Kecamatan Koto Tangah Kota Padang, Sumatera Barat. Bagian yang diambil adalah buah yang segar dan sudah masak.

Ekstraksi Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dilakukan dengan metode maserasi, hal ini dilakukan karena metoda ini lebih sederhana, tidak memerlukan peralatan khusus dan tidak memerlukan pemanasan sehingga dapat mengatasi kemungkinan adanya senyawa yang terurai atau menguap akibat pemanasan, biji melinjo yang segar disortasi basah setelah itu dilakukan pencucian, kemudian perajangan untuk mempermudah proses pengeringan lalu ditimbang. Semakin tipis bahan yang akan dikeringkan, semakin cepat penguapan air, sehingga mempercepat waktu pengeringan (Badan Pengawasan Obat dan Makanan Republik Indonesia, 2012). Kemudian pengeringan dengan cara diangin-anginkan dibawah sinar matahari selama 7 hari sampai kering dan penghalusan, sehingga diperoleh serbuk kering sebanyak 1.500 g dan diambil sebanyak 500 g untuk dimaserasi. Pelarut yang digunakan adalah etanol 70 %.

Maserasi dilakukan dengan 3 kali pengulangan, proses maserasi ini dilakukan dengan menggunakan botol kaca berwarna gelap dan ditempat yang terlindung cahaya. Hal ini bertujuan untuk menghindari terjadinya penguraian struktur zat aktif terutama untuk senyawa yang kurang stabil terhadap cahaya. Satu bagian serbuk kering simplisia dimaserasi dalam botol gelap tertutup dengan 10 bagian pelarut, rendam selama 6 jam pertama sambil sekali-sekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Pisahkan maserat dengan cara penyaringan.

Kumpulkan semua maserat, maserat yang diperoleh dilanjutkan dengan *rotary evaporator* lalu dipekatkan dengan *waterbath* sampai didapat ekstrak kental. Sehingga hasil yang diperoleh dari ekstrak

kental dari proses maserasi pada penelitian ini sebanyak 37,35 g ekstrak kental dengan nilai persen rendemen yang diperoleh adalah 7,470 %. Setelah didapatkan ekstrak kental, selanjutnya, ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) dievaluasi melalui parameter spesifik dan parameter nonspesifik (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 2000).

Penentuan kadar total golongan kandungan tanin bertujuan untuk memberikan informasi kadar golongan kandungan kimia sebagai parameter mutu ekstrak dalam kaitannya dengan efek farmakologis. Hasil pegujian kadar kandungan tanin diperoleh kadar tanin sebanyak 9,08 %.

Pemberian Oleum ricini pada hewan percobaan sebagai penginduksi diare karena terdiri dari trigliserida, dan asam risinoleat. Trigliserida dihidrolisis di usus halus oleh enzim lipase menjadi gliserol. Metabolit aktif, asam risinoleat, yang terutama bekerja di usus halus dengan menstimulasi sekresi cairan dan elektrolit serta mempercepat transit di usus. (Goodman & Gilman's, 2008) Digunakan norit sebagai indikator berwarna hitam secara visual dan merupakan kimus yang utuh sampai ke kolon karena tidak diabsorpsi.

Ekstrak biji melinjo diharapkan dapat mengobati diare pada hewan percobaan yang diinduksi dengan Oleum ricini. Untuk melihat kekuatan pengaruh ekstrak biji melinjo, maka digunakan Loperamid HCl sebagai pembanding. Loperamid HCl bekerja pada reseptor opiat dan akan mengurangi gerakan peristaltik usus dan menghambat sekresi air dan elektrolit di usus (Goodman & Gilman's, 2008).

### Efek Antidiare Ekstrak Biji Melinjo Metode Pola Defekasi Terhadap Frekuensi Buang Air Besar

Pada uji statistik terhadap frekuensi buang air besar mencit putih jantan dengan pemberian ekstrak biji melinjo menunjukkan rata-rata frekuensi buang air besar untuk

kontrol positif, ekstrak biji melinjo dosis 150 mg/KgBB, dosis 300 mg/KgBB, dosis 600 mg/KgBB dan pembanding berturut-turut adalah 7 kali; 6,4 kali; 6 kali; 5,4 kali dan 3,6 kali. Hasil uji statistik anova frekuensi buang air besar menceit adalah 0,000 ( $P < 0,05$ ) sehingga membuktikan bahwa frekuensi BAB memiliki perbedaan secara nyata dan signifikan. Pada hasil uji lanjut duncan ekstrak biji melinjo dapat dilihat bahwa pemberian peningkatan dosis tidak mempengaruhi efek frekuensi diare maksudnya dosis 150 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB, dosis 600 mg/kg BB memperlihatkan efek yang sama.

#### **Efek Antidiare Ekstrak Biji Melinjo Metode Defekasi Terhadap Konsistensi Feses**

Pada uji statistik terhadap konsistensi feses menceit putih jantan dengan pemberian ekstrak biji melinjo menunjukkan bahwa konsistensi padat memiliki rata-rata yaitu 0,08 cm, konsistensi lembek memiliki rata-rata yaitu 0,14 cm sedangkan konsistensi cair yaitu 0,2 cm. Hasil uji statistik anova konsistensi feses padat, lembek dan cair menunjukkan sig. 0,000, 0,000 dan 0,000 ( $P < 0,05$ ) sehingga membuktikan bahwa konsistensi padat, lembek dan cair memiliki perbedaan secara nyata dan signifikan. Hasil uji statistik anova konsistensi feses padat, lembek dan cair menunjukkan sig. 0,000, 0,000, dan 0,000 ( $P < 0,05$ ) sehingga membuktikan bahwa konsistensi padat, lembek dan cair memiliki perbedaan secara nyata dan signifikan. Pada hasil uji lanjut duncan ekstrak biji melinjo dapat dilihat bahwa peningkatan dosis ekstrak menyebabkan konsistensi feses menceit menjadi padat (Suherman, *et al.*, 2015).

#### **Efek Antidiare Ekstrak Biji Melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Metode Defekasi Terhadap Berat Feses**

Hasil rata-rata berat feses menceit putih untuk kontrol positif, dosis ekstrak biji melinjo 150 mg/kg BB, dosis ekstrak biji melinjo 300 mg/kg BB, dosis ekstrak

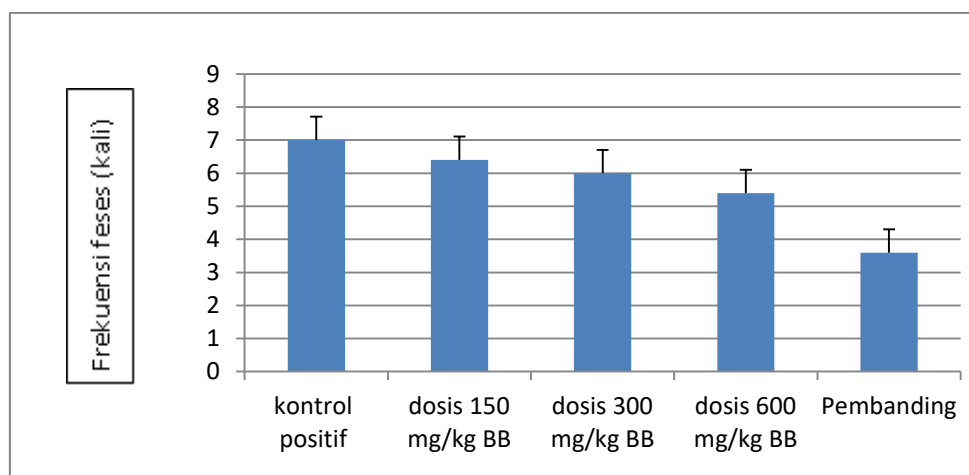
biji melinjo 600 mg/Kg BB, dan pembanding berturut-turut adalah 0,7544 g; 0,71262 g; 0,6118 g; 0,4976 g; 0,2338 g. Hasil uji statistik berat feses, *homogeneity of variances* uji menunjukkan signifikansi 0,266 ( $P > 0,05$ ), artinya berat feses pada tiap kelompok pengujian homogen maka dilanjutkan dengan uji anova. Pada uji anova, pemberian ekstrak biji melinjo mempunyai nilai signifikan 0,000 ( $P < 0,05$ ) yang artinya masing-masing kelompok perlakuan mempunyai berat feses yang berbeda nyata. Pada uji Duncan ekstrak biji melinjo dapat dilihat bahwa pemberian peningkatan dosis tidak mempengaruhi berat feses menceit maksudnya dosis 150 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB, Dosis 600 mg/kg BB memperlihatkan efek yang sama.

#### **Efek Antidiare Ekstrak Biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) Metode Transit Intestinal**

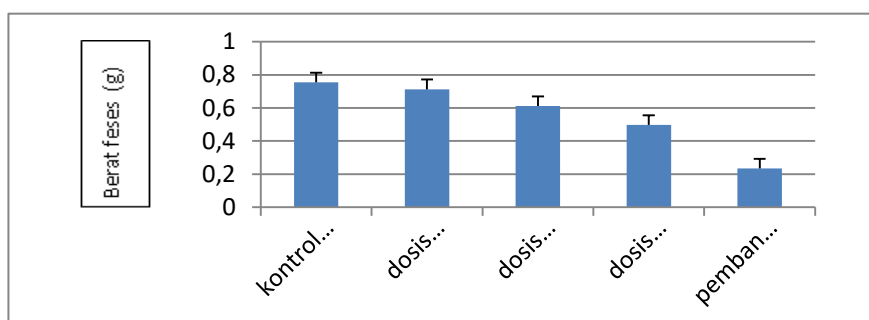
Pemberian ekstrak biji melinjo untuk panjang lintasan norit dengan dosis 600 mg/kg BB memberikan persentase lintas norit 59,1203 % lebih pendek dari kontrol positif yaitu 84,6094 % dan persentase lintas norit pembanding (Loperamid HCl) yaitu 22,8747 %, sedangkan nilai persentase pada dosis 300 mg/kg BB dan 150 mg/kg BB berturut-turut yaitu 67,2172 % dan 74,7105 %. Hasil uji statistik pada persentase lintas norit pada *test homogeneity of variances* 0,176 ( $P > 0,05$ ), maka dilanjutkan dengan uji anova. Pada uji anova, pemberian ekstrak biji melinjo terhadap persentase lintas norit signifikansi 0,000 ( $P < 0,05$ ) artinya masing-masing kelompok mempunyai persentase lintas norit yang berbeda secara nyata. Hasil lanjut uji duncan ekstrak biji melinjo dapat dilihat bahwa pemberian peningkatan dosis tidak mempengaruhi efek pemendekan lintasan norit maksudnya dosis 150 mg/kg BB, dosis 300 mg/kg BB, dosis 600 mg/kg BB memperlihatkan efek yang sama.

Tabel 1. Hasil uji skrining fitokimia ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.)

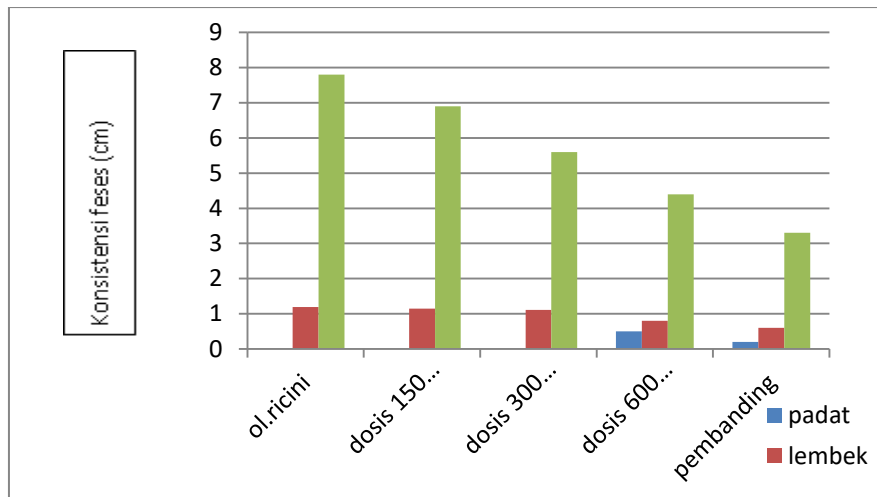
Pengujian	Pereaksi	Hasil
Alkaloid	Asam Hidroklorida+ Dragendorff	+ (Terbentuk endapan merah)
Glikosida	Asam Hidroklorida + FeCl <sub>3</sub> + Amonia	+ (Terbentuk warna merah muda mawar)
Saponin	Ekstrak dilarutkan dalam 2 mL air kemudian dikocok	+ (Terbentuk busa)
Fitosterol	Kloroform + Asam Sulfat Pekat	+(Terbentuk warna kuning keemasan)
Fenol	Ekstrak + FeCl <sub>3</sub>	+ (Terbentuk warna hitam kebiruan)
Tanin	1 % Gelatin	+ (Tidak terbentuk endapan putih)
Flavonoid	Ekstrak + Larutan timbal asetat	+ (Terbentuk warna kuning)
Protein	Asam Nitrat	+ (Terbentuk warna kuning)



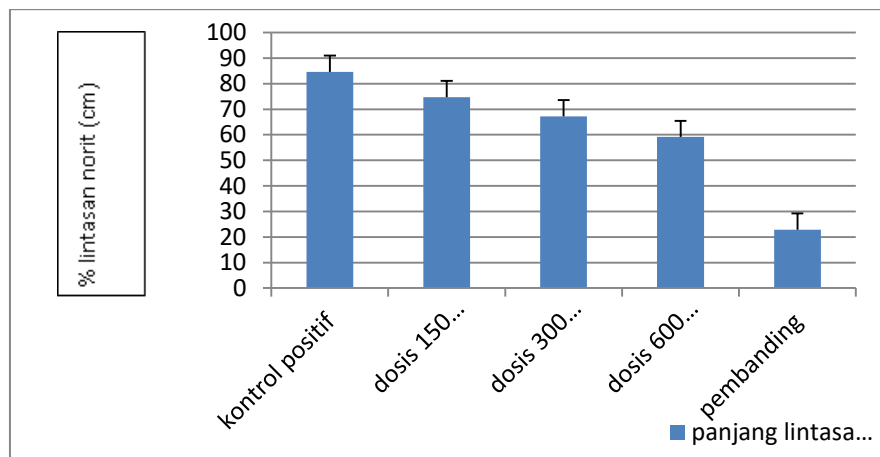
Gambar 1. Diagram batang berdasarkan pengaruh dosis ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap frekuensi BAB mencit putih jantan.



Gambar 2. Diagram batang berdasarkan pengaruh dosis ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap berat feces mencit putih jantan.



Gambar 3. Diagram batang berdasarkan pengaruh dosis ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap konsistensi feces mencit putih jantan.



Gambar 4. Diagram batang berdasarkan pengaruh dosis ekstrak biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) terhadap persentase lintasan norit mencit putih jantan

## KESIMPULAN

Dari hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) memberikan pengaruh antidiare pada mencit putih jantan yang di induksi oleh oleum ricini . Peningkatan aktivitas antidiare terlihat seiring dengan peningkatan dosis pemberian ekstrak etanol biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.).

## UCAPAN TERIMAKASIH

Terimakasih kepada ketua STIFARM padang dan Ketua YPTIK Padang yang telah membantu pendanaa penelitian ini. Terimakasih kepada tim peneliti lainnya

yang telah berkerjasama dalam menyelesaikan penelitian ini.

## DAFTAR PUSTAKA

- CC, B., Haloi, P., & Barua, I. C. *Gnetum gnemon* Linn.: A Comprehensive Review on its Biological, Pharmacological and Pharmacognostical Potentials. *International journal of pharmacognosy and phytochemical research*, 7, (3), 531-539.
- Chitme, H. R. (2004). Studies on anti-diarrheal of activity of *Calotropis gigantea*. *R. BR. in experimental animals. J Pharm Pharmaceutical Sc.* 7, (1), 70-75.

- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2000). *Parameter standar umum ekstrak tumbuhan obat*. (Edisi I). Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (2008). *Farmakope Herbal Indonesia*. (Edisi I). Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Wells, B. G., & Posay. L. M. (2005). *Pharmacotherapy handbook; A Pathophysiologic approach*. (6<sup>th</sup> edition). New York: McGraw-Hill.
- Goodman, L. S., & Gilman's, A. G. (2008). *Pharmacological Basic Of Theurapeutics*. (10 th). New York: McGraw-Hill.
- Ira, C. D. F. W., & Ikhdha, C. N. (2015). Efek farmakologi infusa biji melinjo (*Gnetum gnemon* L.) sebagai antihyperglikemia pada mencit (*Mus musculus*) yang diinduksi dextrosa monohidrat 40%. *Jurnal farmasi sains dan terapan*, 2, (1), 27-31.
- Kharismawati, M., Utami, P. I., & Wahyuningrum, R. (2009). Penetapan kadar tanin dalam infusa daun salam (*Syzygium polyanthum* (Wight.) Walp)) secara spektrofotometri sinar tampak. *Pharmacy*, 1, (6), 22-27.
- Kato, E., Tokunaga, Y., & Sakarn, F. (2009). Stilbenoids isolated from the seed of melinjo (*Gnetum gnemon* L.) and their biological activity. *J Food Chem*, 57, (6), 2544-2549.
- Mukhrani., Nonci, F. Y., & Mumang. (2014). Penetapan kadar tanin total ekstrak biji jintan (*Nigella sativa*) secara spektrofotometri uv-vis. *Jurnal farmasi FIK UINAM*, 4 (2), 154-158.
- Parhusip, A. J. N., & Sitanggang, A. B. (2011). Antimicrobial activity of melinjo seed and peel extract (*Gnetum gnemon* L.) against selected pathogenic bacteria. *Microbiologi Indonesia*, 5, (3), 103-112.
- Suherman, L. P., Hermanto, F., & Pramukti, M. L. (2013). Efek antidiare ekstrak etanol Daun Mindi (*Melia azedarach* Linn) pada mencit swiss webster jantan. *Kartika jurnal ilmiah farmasi*, 1 (1), 38-44.
- Sukardi., Mulyarto, A. R., & Safera, W. (2007). Optimasi waktu ekstraksi terhadap kandungan tanin pada bubuk ekstrak daun jambu biji (*Psidium folium*) serta biaya produksinya. *Jurnal teknologi pertanian*, 2 (8). 88-94.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-obat penting: khasiat penggunaan dan efek-efek sampingnya* (Edisi VI). Jakarta: PT Elex Media Komputindo, Kelompok Kompas- Gramedia.
- Wahyuni, T., Hidayat, S., & Narko, T. (2012). Uji aktifitas antidiare ekstrak etanol biji teratai putih (*Nymphaea pubescens Willd*) terhadap mencit dengan metode transit intestinal. *Indonesia journal of Pharmaceutical science and technology*, 1, (2), 38-45