

**UJI TOKSISITAS SUB AKUT EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP KADAR KREATININ DAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**

Skripsi

**Untuk melengkapi syarat-syarat guna memperoleh gelar Sarjana Farmasi
pada Program Studi Farmasi**

**Oleh:
Putri Hajjah
1404015278**


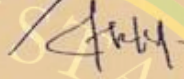
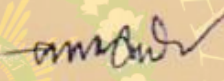





**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
JAKARTA
2021**

Skripsi dengan judul

**UJI TOKSISITAS SUB AKUT EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BELIMBING
WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP KADAR KREATININ DAN
HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR**

Telah disusun dan dipertahankan di hadapan penguji oleh:
Putri Hajijah, NIM 1404015278

	Tanda Tangan	Tanggal
<u>Ketua</u> Wakil Dekan I Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si.		<u>25/4/21</u>
		23 April 2021
<u>Penguji I</u> apt. Numlil Khaira Rusdi, M.Farm.	_____	_____
		20 April 2021
<u>Penguji II</u> Ema Dewanti, M.Si.	_____	_____
		06 April 2021
<u>Pembimbing I</u> apt. Kriana Efendi, M.Farm.	_____	_____
		14 April 2021
<u>Pembimbing II</u> Maharadingga, M.Si.	_____	_____
Mengetahui :		30 April 2021
Ketua Program Studi Farmasi apt. Kori Yati, M.Farm.	_____	_____

Dinyatakan lulus pada tanggal: 25 Februari 2021

ABSTRAK

UJI TOKSISITAS SUB AKUT EKSTRAK ETANOL 70% DAUN BELIMBING WULUH (*Averrhoa bilimbi* L.) TERHADAP KADAR KREATININ DAN HISTOPATOLOGI GINJAL PADA TIKUS PUTIH GALUR WISTAR

**Putri Hajjah
1404015278**

Daun belimbing wuluh memiliki khasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi. Keamanan penggunaan daun belimbing wuluh sebagai bahan obat alami harus didukung dengan uji toksisitas salah satu caranya dengan uji toksisitas sub akut. Sebelumnya telah dilakukan pengujian toksisitas akut dan memperoleh hasil LD₅₀ sebesar 64,454 mg/kg BB. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rentang dosis toksik ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh serta pengaruhnya terhadap kadar kreatinin dan histopatologi ginjal pada tikus putih jantan dan betina galur wistar. Penelitian ini menggunakan tikus yang dibagi menjadi 4 kelompok yaitu 1 kelompok kontrol normal dan 3 kelompok uji dengan dosis 125, 250 dan 500 mg/kg BB yang diberikan selama 30 hari dan pada hari ke-31 dilakukan pengambilan darah melalui *sinus orbitalis* untuk diperiksa kadar kreatininya. Berdasarkan hasil uji statistik ANOVA menunjukkan bahwa ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh tidak ada pengaruh terhadap kadar kreatinin ($p > 0,05$). Hasil histopatologi ginjal tidak menunjukkan adanya perubahan yang bermakna, namun pada dosis 500 mg/kg BB terlihat adanya pendarahan intertubular.

Kata kunci: *Averrhoa bilimbi* L., toksisitas sub akut, kadar kreatinin, Histopatologi.

KATA PENGHANTAR

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, penulis memanjatkan puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT karena berkat rahmat dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan penulisan skripsi, dengan judul **“Uji Toksisitas Sub Akut Ekstrak Etanol 70% Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Terhadap Kadar Kreatinin Dan Histopatologi Ginjal Pada Tikus Putih Galur Wistar”**.

Penulisan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi tugas akhir sebagai salah satu syarat untuk mencapai gelar Farmasi (S.Farm) pada program studi Farmasi FFS UHAMKA, Jakarta.

Dalam menyelesaikan skripsi ini penulis mendapat banyak bantuan, bimbingan, dukungan dan nasehat yang sangat berharga dari semua pihak, baik secara langsung maupun tidak langsung. Oleh karena itu, dengan penuh kesungguhan dan kerendahan hati ingin mengucapkan terimakasih kepada :

1. Bapak Dr. apt. Hadi Sunaryo, M.Si., selaku Dekan Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
2. Bapak Drs. apt. Inding Gusmayadi, M.Si., selaku Wakil Dekan I Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
3. Ibu Dra. Sri Nevi Gantini, M. selaku Wakil Dekan II Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
4. Ibu apt. Ari Widayanti, M.Farm., selaku Wakil Dekan III Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
5. Bapak Anang Rohwiyono, M.Ag. selaku Wakil Dekan IV Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
6. Ibu apt. Kori Yati, M.Farm., selaku ketua program studi Fakultas Farmasi dan Sains Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, Jakarta.
7. Bapak apt. Kriana Efendi, M.Farm., selaku pembimbing I yang telah membimbing, memberikan arahan, motivasi dan nasehat yang berarti selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
8. Ibu Maharadingga, M.Si. selaku pembimbing II yang telah membimbing, memberikan perhatian, arahan, motivasi dan nasehat yang berarti selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.
9. Ayahanda apt. Zainul Islam, S.Si.,M.Farm. selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing dan memberikan masukan kepada penulis selama menempuh pendidikan di FFS UHAMKA.
10. Kedua orang tua tercinta Bapak Tito Sutoyo dan ibu Rasiani, kakak-kakakku tersayang serta keluarga besar. Terimakasih untuk kasih sayang, nasehat, motivasi dan dukungan yang tiada henti kepada penulis.
11. Seluruh pihak pendukung lainnya yang tidak bisa penulis sebutkan satu-persatu. Terimakasih atas bantuan, dukungan dan motivasinya hingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari dalam penelitian ini masih banyak kekurangan karena keterbatasan ilmu dan kemampuan penulis. Untuk itu saran dan kritik dari pembaca sangat penulis harapkan dan penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi banyak pihak.

Jakarta, Februari 2021

Penulis



DAFTAR ISI

	Hlm.
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
ABSTRAK	iii
KATA PENGANTAR	iv
DAFTAR ISI	vi
DAFTAR TABEL	viii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Permasalahan Penelitian	2
C. Tujuan Penelitian	2
D. Manfaat Penelitian	2
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	4
A. Landasan Teori	4
1. Klasifikasi Daun Belimbing Wuluh	4
2. Pembuatan Simplisia	5
3. Ekstrak Dan Ekstraksi	5
4. Hewan Uji	7
5. Uji Toksisitas	9
6. Histopatologi Ginjal	10
7. Gangguan dan kelainan pada ginjal	12
B. Kerangka Berfikir	13
C. Hipotesis	13
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	14
A. Tempat dan Jadwal Penelitian	14
1. Tempat Penelitian	14
2. Jadwal Penelitian	14
B. Alat dan Bahan Penelitian	14
1. Alat	14
2. Bahan Uji	14
C. Pola Penelitian	14
D. Prosedur Penelitian	15
1. Pengumpulan bahan	15
2. Determinasi Tanaman	15
3. Pembuatan Serbuk Simplisia	15
4. Pembuatan Ekstrak dengan Maserasi	16
5. Pemeriksaan Karakteristik Ekstrak	16
6. Penapisan fitokimia Ekstrak	16
7. Persiapan Hewan Uji	18
8. Pembuatan Na CMC 0,5%	19
9. Penentuan Dosis dan Pengelompokan Hewan Uji	19
10. Uji Toksisitas Sub akut	20
11. Analisis Data	23

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	24
A. Hasil	24
1. Determinasi Tanaman	24
2. Ekstraksi	24
3. Karakteristik Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	25
4. Hasil skrining fitokimia	25
5. Uji Toksisitas Sub akut	26
6. Hasil Pemeriksaan fungsi Ginjal	27
BAB V SIMPULAN DAN SARAN	35
A. Simpulan	35
B. Saran	35
DAFTAR PUSTAKA	36
LAMPIRAN	39



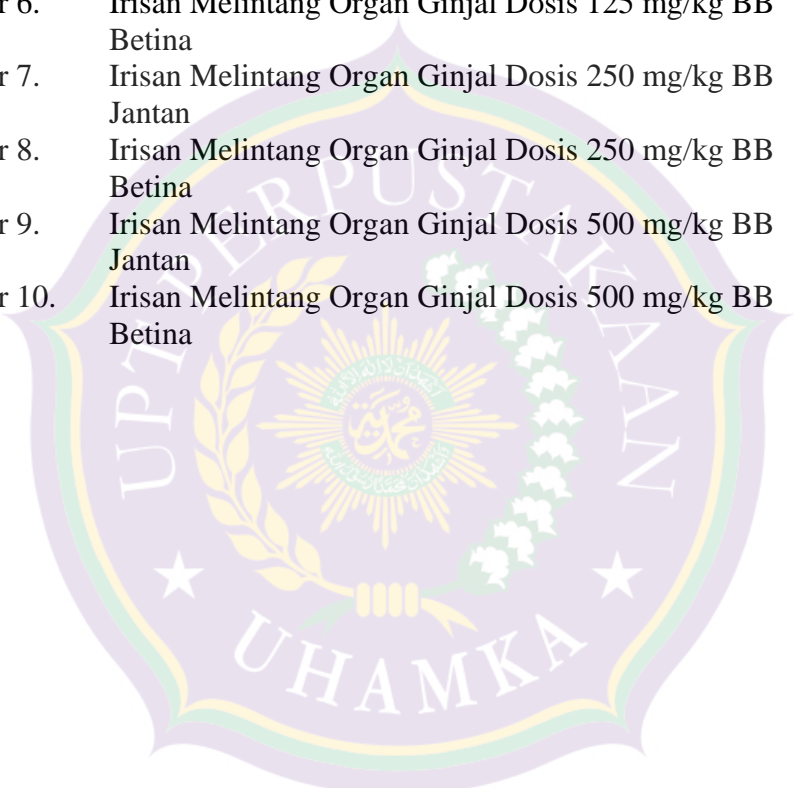
DAFTAR TABEL

	Hlm.
Tabel 1. Skrining fitokimia Dengan Pereaksi Warna (Depkes RI, 1995)	18
Tabel 2. Perlakuan yang diberikan kesetiap kelompok hewan uji	20
Tabel 3. Hasil ekstrak daun belimbing wuluh	24
Tabel 4. Karakteristik Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	25
Tabel 5. Hasil Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	26
Tabel 6. Hasil Pemeriksaan Kadar Kreatinin (mg/dl)	28
Tabel 7. Hasil Bobot Organ Ginjal (gram)	29
Tabel 8. Hasil pengamatan Makroskopis Organ Ginjal	30



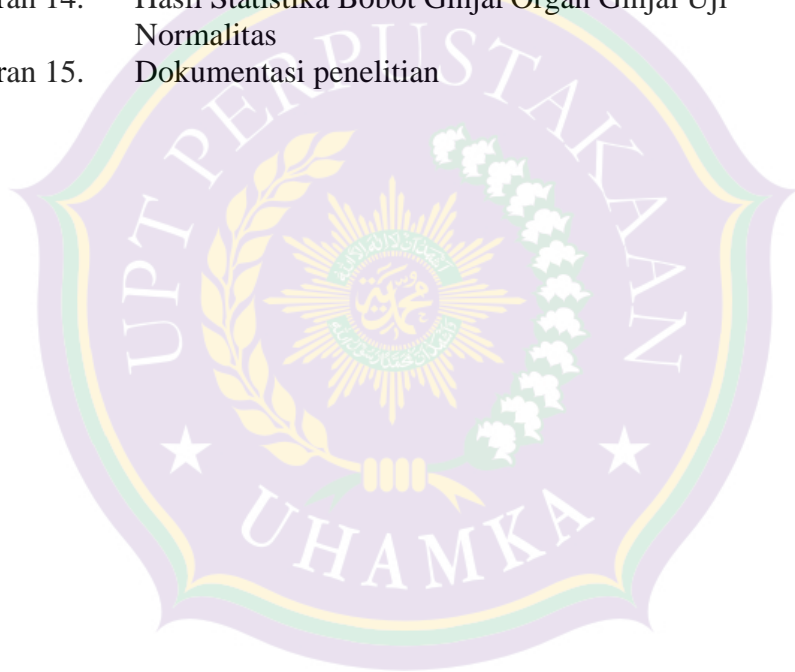
DAFTAR GAMBAR

	Hlm.
Gambar 1. Tanaman Daun Belimbing Wuluh (<i>Averrhoa bilimbing</i> L.).	4
Gambar 2. Struktur Ginjal dan bagian – bagian dari ginjal (Mescher 2013)	11
Gambar 3. Irisan Melintang Organ Ginjal Kelompok Normal Jantan	30
Gambar 4. Irisan Melintang Organ Ginjal Kelompok Normal Betina	31
Gambar 5. Irisan Melintang Organ Ginjal Dosis 125 mg/kg BB Jantan	31
Gambar 6. Irisan Melintang Organ Ginjal Dosis 125 mg/kg BB Betina	31
Gambar 7. Irisan Melintang Organ Ginjal Dosis 250 mg/kg BB Jantan	32
Gambar 8. Irisan Melintang Organ Ginjal Dosis 250 mg/kg BB Betina	32
Gambar 9. Irisan Melintang Organ Ginjal Dosis 500 mg/kg BB Jantan	32
Gambar 10. Irisan Melintang Organ Ginjal Dosis 500 mg/kg BB Betina	33



DAFTAR LAMPIRAN

	Hlm.	
Lampiran 1.	Hasil Determinasi Tanaman Belimbing Wuluh	39
Lampiran 2.	Sertifikat Hewan	40
Lampiran 3.	Surat Kode Etik	41
Lampiran 4.	Skema Prosedur Penelitian	42
Lampiran 5.	Skema Pembuatan Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	43
Lampiran 6.	Skema Perlakuan Hewan	44
Lampiran 7.	Skema Pengukuran Kadar Kreatinin	45
Lampiran 8.	Hasil Uji Skrining Fitokimia Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	46
Lampiran 9.	Skema Bobot Pengeringan	47
Lampiran 10.	Hasil Perhitungan Rendemen Susut Pengeringan	48
Lampiran 11.	Perhitungan Dosis Ekstrak Daun Belimbing Wuluh	50
Lampiran 12.	Data Monitoring Berat Badan Tikus Selama 30 Hari	52
Lampiran 13.	Hasil Statistika Kadar Kreatinin Uji Normalitas	53
Lampiran 14.	Hasil Statistika Bobot Ginjal Organ Ginjal Uji Normalitas	55
Lampiran 15.	Dokumentasi penelitian	58



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Obat herbal telah banyak digunakan oleh seluruh masyarakat tidak hanya di Indonesia namun juga diseluruh dunia. *World Health Organization* (WHO) merekomendasikan penggunaan obat tradisional termasuk herbal dalam pemeliharaan kesehatan masyarakat, pencegahan dan pengobatan penyakit. Tanaman belimbing wuluh termasuk dalam famili *oxalidaceae* dan sudah sering dimanfaatkan masyarakat diketemukan oleh Kumar, *et al.*, (2013) salah satunya untuk mengobati penyakit diabetes yang terdapat diseluruh bagian yaitu daun, bunga, buah dan kulit batang. pada bagian daun belimbing wuluh juga memiliki khasiat sebagai antioksidan dan antiinflamasi (Hasim dkk., 2019).

Penggunaan daun belimbing wuluh sebagai tanaman berkhasiat obat hingga saat ini masih berdasarkan pengalaman empiris secara turun temurun. Keamanan penggunaan daun belimbing wuluh sebagai bahan obat alami harus didukung oleh penelitian ilmiah. Salah satu penelitian yang harus dilakukan adalah uji toksisitas. Uji toksisitas adalah uji untuk mendeteksi efek toksik suatu zat pada sistem biologi dan untuk memperoleh data dosis respon dari sediaan uji. Uji toksisitas terdiri atas dua jenis yaitu toksisitas umum (akut, sub akut/sub kronis, kronis) dan uji toksisitas khusus (teratogenik, mutagenik dan karsinogenik (Depkes RI, 2000).

Uji toksisitas sub akut merupakan uji toksisitas suatu senyawa yang diberikan dengan dosis berulang pada hewan uji tertentu, selama kurang lebih 1 bulan diketemukan oleh Donatus (2001) Uji ditunjukkan dengan mengungkapkan spektrum efek toksik yang berkaitan dengan takaran dosis dan memperlihatkan apakah spektrum efek itu berkaitan dengan takaran dosis. Tujuan lain dari uji toksisitas subakut yaitu untuk memperoleh adanya efek toksik zat yang tidak terdeteksi pada uji toksisitas akut, efek toksik setelah pemaparan sediaan uji yang diberikan berulang dalam jangka waktu tertentu (BPOM, 2014).

Berdasarkan penelitian uji aktivitas ekstrak daun belimbing wuluh Aditya Maulana dkk., (2017) menunjukkan bahwa ekstrak daun belimbing wuluh dapat menurunkan kadar glukosa darah pada dosis 250 mg/kgBB. Apabila ekstrak dari

belimbing wuluh mempunyai manfaat sebagai antidiabetes sehingga dapat memberikan perkembangan terhadap obat tradisional sehingga bahan alam dapat dimanfaatkan sebagai obat diabetes. Pada uji toksisitas akut yang telah dilakukan oleh Puspitarani (2011) Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa fraksi etil asetat mempunyai potensi toksisitas akut terhadap *Artemia salina* L. dengan rata-rata nilai LD₅₀ sebesar 67,454 mg/kg BB. Namun untuk memastikan keamanan dari daun belimbing wuluh, perlu adanya uji toksisitas sub akut dengan histopatologi ginjal. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui adanya efek toksik yang ditimbulkan dari uji toksisitas sub akut ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) terhadap pemeriksaan kadar kreatinin dan histopatologi organ ginjal serta efek toksik dan bobot organ pada tikus putih galur wistar. Organ ginjal yang akan diteliti pada penelitian ini karena organ ginjal berfungsi sebagai organ ekskretori, pengatur tekanan darah, pengatur keseimbangan asam-basa, aktivasi vitamin D, dan pembentukan eritropoetin. Ginjal menerima 25% aliran darah, hal ini menyebabkan tingginya konsentrasi senyawa-senyawa yang akan diekskresi termasuk senyawa toksik. Alasan inilah mengapa ginjal menjadi sasaran utama efek toksik (Lu, 1995).

B. Permasalahan Penelitian

Pada ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) memiliki efek toksik pada organ ginjal tikus dan kadar kreatinin dari ekstrak daun belimbing wuluh serta perubahan organ ginjal yang terjadi pada pengamatan histopatologi.

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui rentang dosis toksik ekstrak etanol 70% daun belimbing wuluh yang diberikan secara oral dalam jangka waktu tertentu, serta pengaruhnya terhadap kadar kreatinin dan histopatologi organ ginjal pada tikus putih jantan dan betina galur wistar.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai toksisitas subakut ekstrak etanol daun belimbing wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) yang dapat bermanfaat dalam penentuan dosis sediaan daun belimbing wuluh yang

memungkinkan penggunaan fitofarmaka sehingga nantinya diharapkan dapat bermanfaat bagi dunia kesehatan.



DAFTAR PUSTAKA

- Aditya, Maulana Perdana, Aulia, Desi & Wahyuni, Amaliah 2017, *Uji Aktivitas Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) Terhadap Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan yang Diinduksi Aloksan. Jurnal Ilmiah Ibnu Sina*, 2 (2) : 263-269.
- Alhassan, Muhammad, Ahmed, Qamar Uddin. 2016. *Averrhoa bilimbi linn: a review of its ethnomedicinal uses, phytochemistry, and pharmacology. Journal of Pharmacy and BioAllied Science*. 8(4):265-71.
- BPOM RI. 2013. *Pedoman Uji Toksisitas Nonklinik secara In Vivo*. Badan Pengawasan Makanan Republik Indonesia. Jakarta: Hlm. 39 – 43
- Badan POM RI. 2014. *Pedoman Teknologi Formulasi Sediaan Berbasis Ekstrak*. Direktorat Obat asli Indonesia. Jakarta. Hlm. 10
- Balcombe JP, Barnard ND, Sandusky C. *Laboratory routines cause animal stress*. *Contemp Top Lab Anim Sci*. 2004;43:42-51.
- Budhi, Akbar. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif yang Berpotensi Sebagai Bahan Antifestilas*. Adabias press. Jakarta: Hlm. 59
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinis Obat Tradisional*. Jakarta: Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan; Hlm. 3-5
- Departemen Kesehatan RI. 2002. *Pedoman Pelaksanaan Uji Klinis Obat Tradisional*. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan: Hlm. 3 – 5
- Departemen Kesehatan RI. 2008. *Farmakope Indonesia Edisi V*. Jakarta : Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan RI. Hlm. 169, 171, 174
- Dea, A. 2018. Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi L.*) Terhadap Tikus Putih Jantan Galur Wistar Menggunakan *Fixed Dose Method*. Skripsi. Fakultas MIPA, Universitas Sriwijaya, Palembang. Hlm. 45-46.
- Donatus, I. A. 2001. *Toksikologi Dasar*. Universitas Gajah Mada Press. Yogyakarta. Hlm. 141-142
- Fadila Amalina and Witjahjo, Bambang. 2017. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Meniran (Phyllanthus niruri L.) Dosis Bertingkat Terhadap Gambaran Mikroskopik Ginjal : Studi pada Mencit Balb/C yang Diinduksi Metanil Yellow*. Undergraduate thesis, Faculty of Medicine.

- Ganong W. F. 1983. *Fisiologi Kedokteran*. Edisi 10. Diterjemahkan oleh Adji Dharma. EGC : 626 - 628
- Hanani E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Jakarta : EGC. Hlm. 10 – 11
- Hanani E. 2015. *Analisis Fitokimia*. Penerbit Buku Kedokteran EGC. Jakarta. Hlm. 10-13,86,112-114,149-159,202
- Harmita. 2009. *Analisis Hayati Uji Toksisitas*. Depok: Departemen Biologi, FMIPA Universitas Indonesia.
- Harmita dan Radji, Maksu. 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati* Edisi 3. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC: 26.
- Harahap NA. 2017. *Uji Toksisitas Akut Ekstrak Etanol 70% Biji Petai (Parkia speciosa Hassk) dan Gambaran Histopatologi Hati dan Ginjal Pada Tikus Putih*. Skripsi. Universitas Muhammadiyah Prof. Dr. Hamka
- H. Hasim, Y.Y. Arifin, D. Andrianto, and D. N. Faridah, “*Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi L.) sebagai Antioksidan dan Antiinflamasi*”, *Jurnal Aplikasi Teknologi Pangan*, vol. 8, no. 3, pp. 86-93, Aug. 2019.
- Krinke, G.J. 2000, *The Laboratory Rat. The Handbook of Experimental Animals*, Academic Press, p. 3-56.
- Kumar, K., Gousia., Anupama, M., & Naveena, L., 2013, A Review On Phytochemical Constituents And Biological Assays of *Averrhoa bilimbi L.*, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Science Research*. 3 (4), 136-139.
- Lu, F.C. 1995, *Toksikologi dasar: Asas, organ sasaran dan penilaian risiko*, edisi ke-2, diterjemahkan oleh Nugroho, Universitas Indonesia Press, Jakarta, Indonesia..
- Michael. 2013. *Pengaruh Ekstrak Metanol Daun Kesum (Polygonum minus Huds.) Terhadap Peningkatan Kadar Kreatinin Dan Ureum Serum Tikus Putih Galur Wistar Terinduksi Sisplatin*. Skripsi. Universitas Tanjungpura Pontianak.
- Parker. S. 2009. *Ensiklopedia Tubuh Manusia*. Terjemah : Dr. Winadini. Erlangga. Jakarta
- Priyanto. 2009. *Toksikologi, Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*. Leskonfi. Depok. Hlm. 59, 151-160
- Priyanto. 2015. *Toksikologi, Mekanisme, Terapi Antidotum, dan Penilaian Resiko*. Lenskofi. Jakarta. Hlm 1, 177, 180, 182.

- Puspitarani, Ria Bekti. 2011. Uji Toksisitas Akut Fraksi Etil Asetat Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.) Dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSL). Skripsi. Universitas Sebelas Maret Surakarta.
- Sirois M. 2005. *medicine: Principles and procedures*. United States of America: Mosby, Inc.
- Sudarsono, Didik G, Gunawan, S. Wahyuono, IA. Donatus (2002). *Dalam Tumbuhan obat II*. Yogyakarta: Universitas Gajah Mada Sekip Utara (hlm.41).
- Suryowinoto, M. 2005. *Pemuliaan Tanaman secara in Vitro* . Kanisius. Yogyakarta.
- Smith, J.B. dan S. Mangkoewidjojo. 1988. *Pemeliharaan, Pembiakan Dan Penggunaan Hewan Percobaan Di Daerah Tropis*. UI Press. Jakarta. hlm. 37- 57.
- Sriwahyuni I. 2010. *Uji fitokimia ekstrak tanaman anting-anting (Acalypha indica Linn) dengan variasi pelarut dan uji toksisitas menggunakan brine shrimp (artemia salina leach)*. Skripsi. Fakultas sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim. Malang.
- Timbrell, J., 2002. *Introduction to Toxicology*, Third Edition, 57-71, 163-182, Taylor & Francis Inc., New York.
- Wahyuni, Fatma Sri, Putri, Intan Nedia, Arisanti, Dessy. 2017. *Uji Toksisitas Subkronis Fraksi Etil Asetat Kulit Buah Asam Kandis (Garcinia cowa Roxb.) terhadap Fungsi Hati dan Ginjal Mencit Putih Betina*. Jurnal Sains Farmasi & Klinis Vol. 03 No. 02. Universitas Andalas. Sumatera Barat
- Westendarp, H. 2006. *Effects of tannins of animal nutrition*. Dtsch. Tierarztl. Wochenschr. 113 : 264 – 268
- Valsan, A., Raphael, R.K. 2016. *Pharmacognostic profile of Averrhoa bilimbi Linn. Leaves*. South Indian Journal of Biological Science 2(1):75-80.