

UJI INVIVO AKTIVITAS DIURETIKA EKSTRAK ETANOL 70% DAUN UNGU (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) PADA MENCIT PUTIH JANTAN GALUR WISTAR

Recta Olivia Umboro^{1*}, Dedent Eka Bimmaharyanto², Fitri Apriliany³, Iva Rinia Dewi⁴

Universitas Qamarul Huda Badaruddin^{1,2}

Universitas Bumigora³

Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Ibnu Sina Ajibarang⁴

Email¹: umboroolivia@gmail.com

ABSTRAK

Secara tradisional tanaman daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) diketahui memiliki efek farmakologi untuk mengatasi berbagai masalah kesehatan. Kandungan senyawa flavanoid pada tanaman ini dipercaya memiliki aktivitas sebagai diuretika. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui kemampuan aktivitas diuretika dan dosis optimal dari ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) yang diberikan peroral pada mencit putih jantan. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan rancangan acak lengkap (RAL) yang terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif (Na.CMC 0.5%), 1 kelompok kontrol positif (furosemid 40 mg) dan 3 kelompok uji ekstrak etanol 70 % daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L) griff) dosis 10 mg/kg BB, 25 mg/kg BB dan 40 mg/kg BB dengan parameter uji berupa volume urine. Analisis data menggunakan uji statistik *one-way anova*, *kruskal-wallis*. Hasil analisis data menggunakan *one-way anova* menunjukkan $P < 0.05$ (0.012), dilanjutkan dengan uji *kruskal-wallis* diperoleh hasil $P \leq 0.05$ (0.051). Sehingga dapat disimpulkan bahwa ketiga dosis ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) memiliki efektivitas sebagai diuretika dengan dosis optimal 40 mg/Kg BB yang memberikan efek dua kali lebih besar dari kontrol positif (furosemid 40mg).

Kata Kunci: Invivo, Ekstrak, *Graptophyllum pictum* (L) Griff, Diuretika

ABSTRACT

Traditionally, daun ungu plant (*Graptophyllum pictum* (L) Griff) has been known to have pharmacological effects that can help with a variety of health issues. This plant's flavonoid compounds content is thought to have diuretic activity in this plant is believed to have activity. The purpose of this study is to determine the diuretic activity and optimal dose of ethanol extract of 70% daun ungu administered orally to male white mice. This is an experimental study with a completely randomized design (CRD) that includes 1 negative control group (Na.CMC 0.5%), 1 positive control group (furosemide 40 mg) and 3 test groups of 70% daun ungu ethanol extract doses of 10 mg/kg BW, 25 mg/kg BW and 40 mg/kg BW with urine volume test parameters. One-way ANOVA and Kruskal-Wallis statistical test were used to analyze the data. The results showed that one-way ANOVA revealed a $P < 0.05$ (0.012), and $P \leq 0.05$ (0.051) for the Kruskal-Wallis test. It can be concluded that 70% daun ungu etahanol exctract has effective diuretics, with an optimal dose

of 40mg/Kg BW providing an effect twice as large as the positive control (furosemide 40 mg).

Keywords: *Invivo, Extract, Graptophyllum pictum (L) Griff, Diuretic*

LATAR BELAKANG

Lebih dari 40.000 spesies tanaman obat yang digunakan di dunia, 30.000nya terdapat di Indonesia (1). Penggunaan obat yang berasal dari tumbuhan merupakan salah satu warisan budaya yang sampai sekarang masih banyak digunakan oleh masyarakat Indonesia dan dikenal sebagai obat tradisional (2). Anggapan bahwa obat berbahan baku bahan alam lebih aman dan ekonomis mengakibatkan pemanfaatan dan permintaannya semakin meningkat (3).

Daun ungu (*Graptophyllum pictum (L) Griff*) famili *Acanthaceae* atau yang lebih dikenal sebagai tanaman karikatur secara luas diketahui memiliki efek farmakologi antara lain sebagai penyembuh luka, diuretika, analgetika, antipiretik, obat wasir dan permasalahan menstruasi (4). Secara tradisional bunga daun ungu dipercaya mampu untuk mengatasi permasalahan haid yang tidak lancar. Daunnya digunakan sebagai anti inflamasi, melembutkan

kulit, sembelit, ambeien, reumatik, bisul, dan pencahar ringan. Batang dan daunnya juga dapat digunakan sebagai peluruh kencing (5).

Graptophyllum pictum (L) Griff memiliki kandungan senyawa kimia seperti flavonoid, saponin, fenolik, antrakuinon, steroid, tanin, gula dan kumarin. Konstituen utama daun ungu yaitu: heksahidrofarnesil aseton (2,6 %), n-nonacosane (6,5%) dan fitol (75,7%) (6). Flavonoid termasuk dalam golongan senyawa fenolik yang diketahui memiliki bioaktivitas sebagai obat (7). Senyawa ini selain sebagai antioksidan juga diyakini memiliki efek sebagai diuretika dengan mekanisme aksi melalui penghambatan reabsorpsi Na^+ , K^+ , dan Cl^- sehingga dapat meningkatkan elektrolit di tubulus dan terjadilah diuresis (8).

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas diuretika dan kadar optimal dari ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum*

pictum (L) Griff.). Sehingga dapat memberikan informasi terkait tanaman obat yang berkhasiat sebagai diuretika di Indonesia.

METODE

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental menggunakan Rancangan Acak Lengkap (RAL) yang terdiri dari 1 kelompok kontrol negatif (Na CMC 0.5%), kelompok kontrol positif (furosemid 40 mg) dan 3 kelompok uji ekstrak etanol 70 % daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L) griff) dengan perlakuan dosis 10 mg/kg BB, 25 mg/kg BB dan 40 mg/kg BB.

Alat dan Bahan

Peralatan yang digunakan: wadah maserasi, kertas saring *whatman*, belender *Philips HR2057*, timbangan analitik *FS-AR210*, kandang metabolik mencit, *rotary evaporator Re-100 Pro DLab*, *beaker glass*, *erlenmeyer*, spuit injeksi *terumo* (3 cc dan 1 cc), sonde, masker, *handscoon*, mortir, stamper, batang pengaduk, cawan petri, aluminium foil, gelas ukur, corong, tabung reaksi, botol kaca.

Bahan-bahan yang digunakan: daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff), *aquadest*, etanol 70%, FeCl₃, HCL 2N, Na CMC, serbuk Mg, HCl (p), CH₃COOH, H₂SO₄(p), reagen *mayer*, reagen *dragendroff*, furosemid 40 mg, mencit jantan putih (*musmuculus*) galur wistar (9).

Preparasi Sampel:

Determinasi tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan untuk mengidentifikasi kebenaran sampel daun ungu (*Graptophyllum pictum* (L.) Griff) yang diambil di daerah Tanjung, Kab. Lombok Utara, NTB (10).

Pembuatan ekstrak

Simplisia serbuk daun ungu ditimbang sebanyak 300g, dimaserasi menggunakan etanol 70% dengan perbandingan 3:1 selama 3 hari dalam wadah gelap sambil sesekali diaduk. Saring dengan menggunakan kertas saring (filtrat 1), sisanya diekstrak kembali selama 2 hari (filtrat 2). Selanjutnya filtrat dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* suhu 40⁰C kecepatan 5rpm. Hitung rendemen dan susut pengeringan menggunakan rumus pada gambar 1 dan 2 (11).

Uji Bebas Etanol

1 ml CH_3COOH dan 1 ml H_2SO_4 (p) ditambahkan pada ekstrak, dihomogenkan. Tabung disumbat dengan kapas lalu dipanaskan. Bebas etanol jika tidak tercium bau ester (12).

Skrining Fitokimia:

Uji alkaloid

1 ml ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) ditambahkan 2 ml HCL 2 N dan dikocok. Pada 2 tabung yang berbeda masukkan ekstrak kemudian tetesi dengan 1 tetes reagen *mayer* dan reagen *dragendorff* pada masing-masing tabung (13).

Uji flavanoid

1 ml ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dalam tabung reaksi ditambahkan 0,2 g serbuk Mg dan 2 ml HCl (p). Perubahan warna menjadi merah, orange atau hijau menandakan adanya senyawa flavonoid (13).

Uji saponin

1 ml ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dalam tabung reaksi ditambahkan *aquadest* hangat, dikocok selama 30 detik. Terbentuknya buih

mengindikasikan ekstrak mengandung saponin (13).

Uji tanin

1 ml ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) pada tabung reaksi ditambahkan FeCl_3 . Adanya perubahan warna larutan menjadi hitam kebiruan atau hijau menandakan kandungan senyawa tanin (13).

Uji triterpenoid dan steroid

1 ml ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dilarutkan dengan kloroform, ditambahkan 0,5 ml asam asetat anhidrat. Selanjutnya ditetesi dengan 2 ml H_2SO_4 (p) melau dinding tabung. Perubahan warna menjadi hijau kebiruan menunjukkan adanya senyawa steroid, jika terdapat cincin kecoklatan atau violet menunjukkan adanya kandungan senyawa triterpenoid (13).

Pembuatan suspensi CMC 0.5%

Timbang Na CMC 0.5%, sebanyak 0.5 g kemudian larutkan dengan *aquadest* panas secukupnya hingga diperoleh massa yang transparan gerus hingga homogen, lalu tambahkan *aquadest* sedikit demi sedikit sampai volume 100 ml (14).

Pembuatan suspensi furosemid

Tablet furosemid 40 mg digerus, tambahkan larutan Na CMC 0,5 sedikit demi sedikit sambil digerus kemudian encerkan dengan sedikit air. Masukkan kedalam labu ukur 10 mL, tambahkan *aquadest* hingga 10 mL (15).

Uji aktivitas diuretika

Sebanyak 25 ekor mencit putih jantan galur wistar dengan bobot 25-30 gram dipuasakan selama 8 jam. Hewan uji dibagi ke dalam 5 kelompok perlakuan, masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit. Kelompok A (kontrol -) diberi Na CMC 0,5%. Kelompok B (kontrol +) diberi furosemid 40mg/kg BB. Kelompok C, D, E merupakan kelompok perlakuan ekstrak etanol 70% daun ungu dengan dosis 10mg/kg BB; 25mg/kg BB; 40mg/kg BB. Parameter yang diamati pada yaitu volume urine yang keluar setiap 60 menit selama 6 jam setelah pemberian perlakuan (16).

Analisis Data

Data hasil penelitian dianalisis menggunakan *one-way Analisis of Variance* (ANOVA), *Kruskal-Wallis*.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini menggunakan sampel tanaman daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) yang diambil dari Kab. Lombok Utara, NTB. Hasil determinasi tanaman menyatakan bahwa spesimen berupa ranting, batang dan daun adalah benar merupakan tanaman daun ungu dengan nama latin *Graptophyllum pictum L. Griff* (Surat Keterangan Identifikasi No.20/UN18.7/LBL/2020 Lab. Biologi FMIPA Universitas Mataram).

Pemanenan tanaman dilakukan dipagi hari dengan memilih 3 pucuk teratas daun yang masih muda. Total flavonoid dan aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dihasilkan dari ekstrak daun yang segar dan masih muda (17). Proses pembuatan simplisia dilakukan melalui tahapan sortasi basah, pencucian, pengeringan, sortasi kering dan perubahan ukuran partikel. Tahap pengeringan dilakukan dengan cara diangin-anginkan. Metode ini dipilih berdasarkan sifat senyawa metabolit sekunder yang terkandung pada tanaman. Pengeringan yang tepat akan menghasilkan mutu simplisia yang baik (18). Hasil perhitungan kadar air

simplisia daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) diperoleh sebesar 0.93%. Penetapan kadar air dilakukan untuk menentukan jumlah air yang terkandung pada simplisia. Semakin tinggi kadar air maka mutu simplisia semakin rendah, kadar air yang tinggi akan menjadi media yang baik untuk pertumbuhan mikroba dan jamur (10). Standart nilai kadar air maksimal yang diperbolehkan terkandung dalam simplisia adalah sebesar 10% (19).

Pembuatan ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dilakukan dengan menggunakan metode maserasi. Maserasi merupakan metode pemisahan senyawa dengan cara perendaman menggunakan pelarut organik yang biasa digunakan pada senyawa-senyawa termolabil (20). Hasil pemekatan maserat (800 ml) menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 40°C kecepatan 5rpm diperoleh ekstrak kental seberat 129.75g dengan nilai rendemen sebesar 4.3%. Nilai rendemen yang tinggi menunjukkan tingginya kadar senyawa bioaktif (8). Pemilihan etanol dengan konsentrasi 70% sebagai penyari untuk senyawa flavanoid juga menentukan jumlah

kadar senyawa bioaktif yang akan disari (21).

Hasil skrining fitokimia senyawa alkaloid, flavanoid, saponin, tanin, terpenoid ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dilakukan dengan identifikasi pembentukan warna yang dapat dilihat pada tabel 1.

Tabel 1. Skrining fitokimia ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L.*)

Senyawa	Pereaksi	Hasil	Keterangan
Alkaloid	Mayer	-	Tidak terbentuk endapan putih
	Dragendorff	-	Tidak terbentuk endapan coklat kemerahan
Flavanoid	Mg dan HCl pekat	+	Terbentuk warna kuning jingga kemerahan
Saponin	Aquades hangat	+	Terbentuk buih
Tanin	FeCl ₃	+	Terbentuk warna hijau kebiruan
Steroid, Triterpenoid	Lieberman Buchard	+	Terbentuk warna biru sd ungu violet

(6)

Pengujian efek diuretika dari ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dilakukan dengan memberikan perlakuan terhadap 5 kelompok hewan uji secara peroral. Tiap kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur wistar dengan

berat 25-30 mg. Pembagian kelompok perlakuan dapat dilihat pada gambar 3.

UJI AKTIVITAS DIURETIKA				
A	B	C	D	E
Kontrol - Na.CM C 0.5% (0.1ml)	Kontrol + Furose mid 40mg (0.2ml)	Ekstra k daun ungu 10 mg/BB (0.039 ml)	Ekstra k daun ungu 25 mg/BB (0.097 ml)	Ekstra k daun ungu 40 mg/BB (0.157 ml)

Gambar 3. Perlakuan kelompok hewan uji

Sebelum mendapat perlakuan dosis obat, ke 5 kelompok hewan uji dilakukan aklimatisasi selama 7 hari. Selama proses aklimatisasi hewan uji diberikan pakan berupa pelet sebanyak 3-4 g/hewan/hari dan *aquadest*. Selain itu kondisi lingkungan dan kandangnya dijaga agar tetap bersih dengan suhu ruangan 18-26⁰C, pencahayaan serta sirkulasi udara yang baik. Tujuan dari proses aklimatisasi adalah agar hewan uji dapat menyesuaikan diri dengan kondisi lingkungan uji. Perlakuan terhadap hewan uji sangat memengaruhi kualitas hewan uji sehingga dapat menentukan validitas pada hasil akhir penelitian (22)(23).

Efek diuretika diujikan kepada hewan uji yang telah dipuaskan selama 8 jam (hanya diberi minum).

Selanjutnya hewan uji diinduksi dengan air hangat sebanyak 2 ml dan didiamkan selama 15 menit. Pemberian air hangat bertujuan sebagai induktor untuk memperjelas efek diuretika yang terjadi (24). Sebagai kontrol pembanding digunakan furosemid 40 mg, (obat diuretik loop) dengan mekanisme aksi menghambat simpporter Na⁺, K⁻ dan 2Cl⁻ pada ansa henle ascendens (25). Parameter uji yang diukur berupa volume urine. Pengukuran volume urine dilakukan setiap 60 menit selama 6 jam. Hasil pengukuran volume urine dapat dilihat pada tabel 2.

Tabel 2. Rata-rata volume urine tampung tiap 60 menit

Perlakuan	Waktu(menit)/ Volume urin (ml)						Total volume urine (ml)	Rata-rata Total Vol urine (ml) ± SD
	60	120	180	240	300	360		
Na CMC 0.5%	0.20	0.22	0.22	0.23	0.22	0.22	1.31	0.22 ± 0.01
Furosemid 40 mg	0.24	0.30	0.32	0.30	0.27	0.26	1.69	0.28 ± 0.03
Ekstrak daun ungu dosis 10 mg/kg BB	0.00	0.22	0.22	0.14	0.14	0.14	0.86	0.14 ± 0.08
Ekstrak daun ungu dosis 25 mg/kg BB	0.00	0.60	0.75	0.20	0.00	0.00	1.55	0.26 ± 0.34
Ekstrak Daun Ungu dosis 40 mg/kg BB	0.35	0.90	0.70	0.50	0.20	0.00	2.65	0.44 ± 0.33

Pada tabel 2, menunjukkan bahwa rata-rata volume urine tampung

tiap perlakuan dari menit ke-60 sampai ke-360 mengalami penurunan jumlah. Pengukuran volume urine dilakukan untuk melihat apakah terdapat perbedaan antara jumlah volume urine perlakuan ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) dengan kelompok kontrol. Pada kelompok perlakuan Na CMC 0.5% (kontrol-) menunjukkan volume urine total yang diperoleh sebesar 1.31 ml dengan rata-rata 0.22 ml setiap jamnya, sedangkan pada kelompok perlakuan furosemide 40 mg (kontrol+) diperoleh volume urine total sebesar 1.69 ml dengan rata-rata 0.28 ml perjam. Total volume urine pada kelompok perlakuan ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) diperoleh sebesar 0.86 ml dengan rata-rata volume perjamnya sebesar 0.14 ml pada dosis 10 mg/Kg BB. Pada dosis 25 mg/Kg BB diperoleh total volume urine sebesar 1.56 ml dengan volume rata-rata urine perjamnya 0.26 ml. Total volume urine pada dosis 40mg/kg BB diperoleh sebesar 2.65 ml dengan volume rata-rata 0.44 ml perjam. Hal ini sejalan dengan penelitian (8) dan (26) yang

menyatakan bahwa dosis ekstrak berbanding lurus dengan efektivitas farmakologi. Pada penelitian ini dosis ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum L. Griff*) 40mg/kg BB menghasilkan volume urine tampung terbanyak dibandingkan 2 perlakuan dosis ekstrak lainnya.

Hasil analisis statistik *one way ANOVA* menunjukkan nilai normalitas sebesar $p < 0.05$ yaitu 0.012, yang artinya data tidak terdistribusi normal sehingga dilanjutkan dengan menggunakan uji statistik non parametrik *Kruskall-Wallis* (Tabel 3.)

Tabel 3. Uji Kruskal-Wallis

Test Statistics ^{a,b}	
	Aktivitas Diuretik
Kruskal-Wallis H	2,453
Df	4
Asymp. Sig.	,051

Hasil uji *Kruskal-Wallis* menunjukkan nilai $P \leq 0.05$ yaitu sebesar 0.051, yang artinya ekstrak etanol 70% daun ungu memiliki aktifitas sebagai diuretika. Dosis ekstrak etanol 70% daun ungu 40mg/Kg BB menunjukkan kemampuan yang lebih baik dibandingkan kontrol +. Kemampuan

diuretika dari daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) disebabkan oleh kandungan senyawa flavanoid yang mampu meningkatkan ekskresi air (27).

KESIMPULAN

1. Ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) memiliki efektivitas diuretika terhadap mencit putih jantan (*Mus musculus*) galur wistar.
2. Pada dosis 40mg/Kg BB ekstrak daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff) memiliki efek diuretika terbaik dengan volume total urin sebesar 2.65 ml, volume rata-rata urine perjam sebanyak 0.44 ml dan nilai SD 0.33.
3. Semakin tinggi dosis ekstrak etanol 70% daun ungu (*Graptophyllum pictum* L. Griff), maka semakin besar efek diuretika yang dihasilkan.

DAFTAR PUSTAKA

1. Makkiyah F, Rahmi Ep, Revina R, Susantiningsih T, Setyaningsih Y. *Graptophyllum Pictum* (L .) Griff . (Syn : *Justicia Picta* Linn .) And Its Effectiveness : A Well-Known Indonesian Plant. 2021;13(3):835–8.
2. Salim Z, Munadi E. Info Komoditi Tanaman Obat. Jakarta

Badan Pengkaj Dan Pengemb
Perdagang Kementeri Perdagang
Republik Indones. 2017;1–2.

3. Arliani Lr, Bodhi W, Wullur Ac. Uji Efek Diuretik Infusa Daun Sambung Nyawa (*Gynura Procumbens* (Blume) Miq .) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*). 2015;4(4):270–5.
4. Jiangseubchatveera N. The Chemical Constituents And The Cytotoxicity , Antioxidant And Antibacterial Activities Of The Essential Oil Of *Graptophyllum Pictum* (L .) Griff. Chem Const Cytotoxicity, Antio , Antioxid Xidant Antibact Act Essent Oil *Graptophyllum Pictum* Grif. 2015;8(1).
5. Aminah A, Muflihunna Abidin Z. Uji Aktivitas Antioksidan Fraksi Etil Asetat Daun Wungu (*Graptophyllum Pictum* (Linn) Griff) Dengan Metode Frap (Ferric Reducing Antioxidant Power). As-Syfaa J Farm. 2016;08(01).
6. Manjula M, Sankar Ds. Review On Biological Activities In Medicinal Plants Of Acanthaceae Family. Int Res Pharm Sci. 2021;12(1):315–33.
7. Widyasari R, Sari Dy. Penetapan Kadar Flavonoid Total Ekstrak Etanol Kulit Batang Sawo (*Manilkara Zapota* (L.)) Secara Spektrofotometri Uv-Visibelo Title. J Insa Farm Indones. 2021;4(2):237–44.
8. Fauziah R, Irmawati A, Isrul M. (*Graptophyllum Pictum* L . Griff) Terhadap Mencit Evaluation Of Diuretic Activity Of Ethanol Extract Wungu Leaves (*Graptophyllum Pictum* L . Griff) On Mice (*Mus Musculus*) Indonesia Merupakan Negara Yang Memiliki Kekayaan Alam Luas Serta Beranekaragam. J

- Pharm Mandala Waluya. 2022;1(1):37–45.
9. Indawati I, Bachtiar A, Firmansyah D. Efek Diuretik Infus Buah Buncis (*Phaseolus Vulgaris L.*) Pada Mencit Putih (*Mus Musculus*) Jantan. *Jamc Idea's*. 2017;4(2).
 10. Mahmudah B, Umboro Ro, Apriliany F. The Effectiveness Test Of Ciplukan (*Physalis Angulate L.*) Leaf Extract On Wound Healing In Male Rabbit (*Oryctolagus Cuniculus*) Wistar Strain. *Cendekia J Pharm*. 2021;5(2):196–205.
 11. Sa'adah H, Nurhasnawati H. Perbandingan Pelarut Etanol Dan Air Pada Pembuatan Ekstrak Umbi Bawang Tiwai (*Eleutherine Americana Merr*). *J Ilm Manantung Sain Ilm Farm*. 2015;1(2):149–53.
 12. Mauti Im, Rini Di, Rante Sdt. Uji In Vitro Aktivitas Anti Bakteri Ekstrak Etanol 70% Biji Pepaya (*Carica Papaya L*) Terhadap Pertumbuhan *Escherichia Coli*. *Cendana Med J*. 2018;6(3):317–26.
 13. Kartikasari D, Rahman Ir, Ridha A. Uji Fitokimia Pada Daun Kesum (*Polygonum Minus Huds.*) Dari Kalimantan Barat Dian. *J Insa Farm Indones*. 2022;5(1).
 14. Dhuha S, Bodhi W, Kojong N. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Lamun (*Syringodium Isoetifolium*) Terhadap Bakteri *Pseudomonas Aeruginosa*. *Pharmacon J Ilm Farm*. 2016;5(1).
 15. Isnania F, Wehantouw F. Aktivitas Diuretik Dan Skrining Fitokimia Ekstrak Etanol Biji Pepaya (*Carica Papaya L* .) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*). *Pharmacon J Ilm Farm*. 2014;3(3):188–95.
 16. Deswati Da, Rohdiana D, Agustin S. Uji Efek Diuretik Seduhan Teh Putih (*Camellia Senensis L* .) Pada Mencit Putih Jantan Galur Swiss Webster. *Sabdariffarma*. 2020;9(1):25–32.
 17. Nasution Mr, Ardhayati B. Total Fenolik Dan Flavonoid Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Daun Tenggek Burung (*Eudia Redlevi*). In Riau: Universitas Muhammadiyah Riau; 2019. P. 58–65.
 18. Rivai H, Wahyuni R, Guswandi. Pengaruh Cara Pengeringan Dengan Oven, Kering Angin Dan Cahaya Matahari Langsung Terhadap Mutu Simplisia Herba Sambiloto. *Jurna Farm Higea*. 2014;6(2).
 19. Nurazizah Ni, Darusman F, Aryani R. Standarisasi Simplisia Daun Bidara Arab (*Ziziphus Spina-Christi L* .). In: Prosiding Penelitian Spesia Unisba. Bandung: Universitas Islam Bandung; 2020.
 20. Ferdinan A, Rizki Fs. Isolasi Dan Identifikasi Senyawa Flavonoid Ekstrak Etanol Pandan Hutan Jenis Baru *Freycinetia Sessiliflora* Rizki Ade. *J Insa Farm Indones*. 2021;4(1):1–6.
 21. Luginda Ega A, Sari Bl, Indriani L. Pengaruh Variasi Konsentrasi Pelarut Etanol Terhadap Kadar Flavonoid Total Daun Beluntas (*Pluchea Indica (L.)Less*) Dengan Metode Microwave – Assisted Extraction (Mae). *J Online Mhs Bid Farm*. 2018;1(1).
 22. Prescott Mj, Lidster K. Perspective Focus On Reproducibility Improving Quality Of Science Through Better Animal Welfare : The Nc3rs Strategy Focus On Reproducibility Perspective. *Nat Publ Gr*. 2017;46(4):152–6.
 23. Mutiarahmi Cn, Hartady T, Lesmana R. Kajian Pustaka :

Penggunaan Mencit Sebagai Hewan Coba Di Laboratorium Yang Mengacu Pada Prinsip Kesejahteraan Hewan. *Indones Med Veterinus*. 2021;10(1):134–45.

24. Labibah F. Ji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% Rimpang Temu Mangga (*Curcuma Mangga Val.*) Sebagai Diuretik Pada Tikus Putih Jantan Galur Sprague-Dawley Model Hipertensi. Uin Syarif Hidayatullah Jakarta-Fikes; 2020.

25. Muthia R, Maulana A, Puteri Mr. Uji Aktivitas In Vivo Ekstrak Etanol Kulit Buah Semangka (*Citrulus Lanatus L.*) Sebagai Diuretik Dengan Pembanding Furosemid In Vivo Activity Test Of Ethanolic Extract Of Watermelon Rind (*Citrullus Lanatus L.*) As Diuretic. *J Borneo J Pharmascientech*. 2017;01(01):67–75.

26. Zainudin A, Hasanah U, Pemana Yr. Uji Aktivitas Diuretik Ekstrak Akar Aren (*Arenga Pinnata* (Wurmb.) Merr.) Terhadap Tikus Putih Galur Wistar (*Rattus Norvegicus*) Dengan Pembanding Furosemid Ahmad Zainudin, Uswatun Hasanah, Yan Reiza Pemana. 2015;I(1):1403–11.

27. El-Guendouz S, Al-Waili N, Aazza S, Elamine Y, Zizi S, Al-Waili T, Et Al. Antioxidant And Diuretic Activity Of Co-Administration Of *Capparis Spinosa* Honey And Propolis In Comparison To Furosemide. *Asian Pac J Trop Med*. 2017;10(10):974–80.