

Pelepasan Flavonoid *Gendarusa vulgaris* Nees dari Matriks Sediaan Param Fraksi Etanol 60% dan Param Fasa Air

Engrid Juni Astuti

Program Studi Farmasi Fakultas Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Malang

Alamat Korespondensi : geeed_99@yahoo.com

ABSTRACT

The aim of the research is to know the different release gendarusin A from the external tradisional dosage form named param 60% ethanol and param water phase. The release gendarusin A was detected using Transdermal Delivery System equipment and cellophane membrane. Other conditions: Phosphate buffer pH 6,0 as a diffusion Liquid, temperature $37^{\circ} \text{C} \pm 0,5^{\circ} \text{C}$, sampling time 10, 20, 30, 40, 50, 60 minutes and sample were analysis by HPLC to get concentration of gendarusin A. The result shows that the release flux param at 60% ethanol fraction = $0,6065 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{minute}^{1/2}$ and flux param water phase = $0,3895 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{minute}^{1/2}$. It means that the release gendarusin A from param ethanol 60% fraction more rapid than param water phase. Release gendarusin A percentage from param 60% ethanol fraction is bigger than param water phase.

Key word: gendarusin A, param, ethanol phase, water phase

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan pelepasan gendarusin A dari sediaan tradisional eksternal yang disebut dengan param 60% ethanol dan param dalam fase air. Pelepasan gendarusin A dideteksi menggunakan perangkat Transdermal Delivery System dan membran selofan. Kondisi-kondisi yang ditetapkan antara lain larutan Buffer dengan pH 6,0 sebagai cairan difusi, temperatur $37^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$. Waktu sampling ditentukan 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit dan sampel dianalisis menggunakan HPLC untuk mendapatkan konsentrasi gendarusin A. Disimpulkan bahwa pelepasan fluks param fraksi etanol 60% = $0,6065 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{minute}^{1/2}$ dan fluks param fase air $0,3895 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{minute}^{1/2}$. Hal ini menunjukkan bahwa pelepasan gendarusin A dalam param fase ethanol 60% lebih cepat dibandingkan dengan param fase air. Persentase pelepasan gendarusin A dalam param fase etanol 60% lebi besar dibandingkan dengan param fase air.

Kata kunci: gendarusin A, param, fase etanol, fase air

PENDAHULUAN

Tanaman *Gendarussa vulgaris* Nees dari hasil penelitian berguna sebagai analgesik antiinflamasi. Dan salah satu kandungan dari gendarusa adalah flavonoid.

Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tanaman hijau. Dalam tumbuhan, aglikon flavonoid terdapat dalam berbagai struktur. Semuanya mengandung 15 atom karbon dalam inti dasarnya, yang tersusun dalam konfigurasi C6-C3-C6, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga karbon yang dapat atau tak dapat membentuk cincin ketiga. (Markham, 1988). Isolasi flavonoid gendarusa mengandung flavonol-3-glikosida (Prajogo & suwijoyo, 1988). Dalam fraksi n-butanol pada LC-MS diketahui ada 12 komponen dengan berat molekul sama serta hanya dapat diisolasi 2 komponen flavonoid major dan minor. Komponen major adalah gendarusin A dan komponen minor adalah gendarusin B (Prajogo, 2002). Kedua komponen itu termasuk dalam golongan flavonoid apigenin dimana apigenin memiliki efek sebagai antiinflamasi (Harbone, dkk,1999).

Sediaan topikal dikatakan efektif apabila zat aktif dapat mencapai tempat kerja (side of action) dalam jumlah yang sesuai dan dalam waktu yang diharapkan (Leons, 1988). Untuk mewujudkan adanya sediaan topikal bentuk param dengan zat aktif yang efektif, perlu dilakukan penelitian uji pelepasan dari pembawanya. Param gendarusa ini terdiri dari fraksi etanol 60% dan fasa air yang masing-masing berfungsi sebagai bahan baku, *Amylum orizae* sebagai pembawa, dan bahan aktif yang diharapkan keluar dari pembawanya adalah flavonoid major pada gendarusa yaitu Gendarusin A. Uji pelepasan dari matriksnya dapat dilakukan secara in vitro dengan dibatasi

membran atau tidak (Barry, 1983). Pada penelitian ini akan menggunakan membran selulosa asetat (selofan) yang merupakan membran porus. Jumlah Gendarusin A yang dapat melewati membran menggambarkan besarnya Gendarusin A yang dapat dilepaskan dari matriksnya.

METODOLOGI PENELITIAN

Penyiapan Bahan Tanaman Untuk Ekstrak

Daun *Gendarussa vulgaris* Nees dalam keadaan segar dikeringkan di udara terbuka dengan sinar matahari tidak langsung. Setelah kering digiling, diayak sampai derajat halus 30 mikron.

Pembuatan Fraksi Etanol dan Fasa Air

Serbuk ditimbang sebanyak 4,67 kg, kemudian dimaserasi dengan n-Heksan sebanyak 10 liter dan diaduk selama 12 jam, kemudian ekstrak ditampung. Setiap kali penampungan pelarut n-Heksan ditambahkan dengan jumlah yang sama seperti maserasi pertama. Maserasi dilakukan selama 3 hari berturut-turut sehingga total n-Heksan yang dipakai 30 liter. Ekstraksi dengan n-Heksan untuk memisahkan kandungan lemak dan klorofil dari daun gendarusa.

Pada hari terakhir penampungan residu hasil maserasi dikeringkan dalam lemari asam sampai pelarut heksan yang tersisa menguap. Residu yang telah kering dimaserasi kembali dengan cara yang sama dengan menggunakan pelarut etanol 60% sebanyak 10 liter sehingga total etanol 60% yang dipakai 30 liter. Fraksi etanol 60% yang didapat diuapkan dengan rotavapour sampai terbentuk massa kental.

Ekstrak kental tersebut kemudian diencerkan dengan aquadest sampai larut dengan perbandingan 1 : 3 dan diasamkan

dengan HCl 2 N sampai diperoleh pH 3-4, kemudian ekstrak cair tersebut dipartisi dengan kloroform sama banyak didalam corong pisah. Partisi dilakukan sebanyak 3 kali dan diambil fasa airnya. Fasa air yang didapat dibasakan dengan NH_4OH 25% sampai diperoleh pH 9-10, kemudian dipartisi dengan kloroform sama banyak dan dilakukan 3 kali. Dari proses partisi diambil fasa airnya.

Penentuan Kondisi Kromatografi

Pada penelitian ini digunakan seperangkat HPLC yang terdiri dari :

1. Liquid chromatograph (LC-10AT)
2. Communication Bus module (CMB-10AV)
3. Column oven (CTO-10AC)
4. UV VIS Detector (SPD-10AV)
5. Kolom Nova-Pak ® C18 dengan ukuran 3,9x150 mm, adalah kolom fase balik (reverse phase), karena kolom ini sangat baik digunakan untuk komponen yang bersifat polar.

Kondisi yang digunakan pada HPLC adalah :

1. Aliran (flow) fase mobile 1 ml / menit
2. Stop time 25 menit
3. Tekanan maksimum 300 bar
4. Panjang gelombang (λ) 254 nm

Fase Mobil

Fase mobil digunakan metanol : air (30 : 70) karena flavonoid larut dalam air maupun metanol

Pembuatan Larutan Dapar Fosfat 0,01 M pH 6,0

Dapar fosfat 0,01 M pH 6,0 dibuat dengan cara sebanyak 0,7342 gram $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ dimasukkan dalam labu ukur 500,0 ml, kemudian ditambah dengan

0,1039 gram $\text{NaHPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$. Campuran dilarutkan dengan air bebas CO_2 sampai garis batas. Larutan yang diperoleh diukur pHnya dengan pH meter. Bila pH yang diperoleh lebih kecil dari 6,0 maka larutan tersebut ditambah larutan $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$, jika pH yang diperoleh lebih besar dari 6,0 maka larutan ditambah dengan larutan $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ sampai larutan mencapai pH 6,0.

Pembuatan Kurva Baku Gendarusin A

Larutan standar Gendarusin A dibuat dengan mengencerkan standar Gendarusin A 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ dalam larutan dapar fosfat pH 6,0 sehingga diperoleh larutan standar gendarusin A kadar 2,5 ; 5 ; 10 ; 20 ; 40 $\mu\text{g}/\text{ml}$, saring dengan membran milipore 0,2 μl kemudian disuntikkan ke HPLC sebanyak 20 μl . Selanjutnya dibuat hubungan antara kadar dengan luas area. Dan dibuat persamaan regresinya.

Penetapan kadar Gendarusin A Dalam Fraksi Etanol Dan Fasa Air

5 mg fraksi etanol 60% dan 50 mg fasa air masing-masing di larutkan dengan larutan dapar pH 6,0 dalam labu ukur 5 ml, kemudian saring dengan membran milipore 0,2 μl dan suntikkan 20 μl ke dalam HPLC. Luas area yang didapat dimasukkan ke persamaan regresi kurva baku dan diperoleh kadar.

Preparasi Sediaan Param

Dari hasil penelitian pendahuluan Reza (2004) didapatkan batas kuantitasi (limit of quantitation / LOQ) sebesar 0,4636 $\mu\text{g}/\text{ml}$. Untuk itu dibuat sediaan param dimana hasil pelepasan gendarusin A dari param Fraksi etanol 60% dan param fasa air lebih besar dari LOQ.

Komposisi param sebagai berikut :

R/ Fraksi etanol 60% / Fasa Air

2,85 g

Amylum orizae 0,15 g

Cara pembuatan :

Amylum orizae dicampur dengan fraksi etanol / fasa air gerus sampai homogen

Pemeriksaan pH Sediaan

Ditimbang sebanyak 1 gram sediaan param kemudian diencerkan dengan aqua bebas CO₂ ad 10 ml, kemudian diukur pHnya dengan pH meter.

Cara : Elektrode dicuci dengan aqua, bilas dan keringkan kalibrasi dengan larutan dapar pH 7,0 bilas dengan aqua dan keringkan. Kemudian masukkan elektroda dalam sediaan. Catat angka yang ditunjukkan oleh pH meter.

Tahapan Uji Pelepasan

2-3 gram sediaan ditimbang pada gelas arloji yang telah ditara kemudian masukkan dalam disk yang sudah dilengkapi dengan membran selofan yang telah direndam semalam dengan aquadest. Timbang sisa sediaan pada gelas arloji tersebut. Selisih berat merupakan sediaan uji. Bejana disolusi diisi dengan larutan dapar fosfat pH 6,0 sebanyak 350 ml. Disk dimasukkan tabung disolusi dengan suhu diatur 37°C ± 0,5°C kemudian larutan diaduk dengan kecepatan 100 rpm. Larutan cuplikan dipipet 5 ml pada waktu 10, 20, 30, 40, 50 dan 60 menit. Setiap pengamilan cuplikan diganti media sebanyak 5 ml. Cuplikan dilakukan metode penetapan kadar Gendarusin A dengan HPLC.

Analisis Data

1. Kadar Gendarusin A yang dilepaskan setiap waktu ditentukan dari sampel (cuplikan) dengan HPLC. Kadar sampel didapat dari luas area sampel dimasukkan

ke persamaan regresi kurva baku standar. Penentuan jumlah kumulatif flavonoid yang dilepas dari basis persatuan luas membran setiap waktu (µg/ml) dihitung dari kadar yang diperoleh setiap waktu (µg/ml) dikalikan dengan jumlah media (350 ml) dan dibagi luas permukaan membran. Kemudian dibuat kurva hubungan antara jumlah kumulatif flavonoid yang dilepas (µg/cm²) terhadap (waktu)^{1/2}.

2. Dari kurva yang dihasilkan dapat dihitung satu persamaan regresi. Berdasarkan persamaan Higuchi, slope dari persamaan regresi merupakan kecepatan pelepasan (fluks) flavonoid dari basis.

3. Prosentase pelepasan Gendarusin A dihitung dari kadar yang didapat dari tiap sampel dibagi dengan kadar mula-mula dan dikalikan seratus persen. Prosentase pelepasan Gendarusin a dihitung untuk mengetahui manakah yang memberikan pelepasan Gendarusin A terbesar antara param fraksi etanol 60% dengan param fasa air.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air

Proses pembuatan fraksi etanol dan fasa air tertera pada Tabel 1.

Pembuatan Kurva Baku

Kurva baku dibuat dari standar Gendarusin A 200 µg/ml dengan kadar 2,5; 5; 10; 20; 40 µg/ml kemudian diamati pada panjang gelombang 254 nm dengan HPLC. (Tabel 2).

Penetapan Kadar Gendarusin A Dalam Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air

Penetapan kadar dilakukan dengan melarutkan sejumlah bahan dengan larutan dapar fosfat pH 6,0 sampai 5 ml dan di dapat

Tabel 1. Berat Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air

Berat Serbuk Daun	Berat fraksi Etanol 60%	Berat Fraksi Etanol 605 untuk Fasa Air	Berat Fasa Air
4,67 kg	1007 g	370 g	141 g

Tabel 2. Area Standar Gendarusin A Dalam Larutan Dapar Fosfat pH 6,0

Kadar ($\mu\text{g/ml}$) (X)	Area (Y)
2,5	83093
5	131155
10	244412
20	433694
40	1292277

Tabel 3. Penetapan Kadar Gendarusin A Dalam Fraksi Etanol 60%

Replikasi	Penimbangan Bahan (g)	Rerata (g)	Area	Kadar Gendarusin A (ppm)	Rerata (ppm)	KV (%)
1	0,0050	0,0051 \pm	223721	8,8487	8,9933 \pm	2,27
2	0,0052	0,0001	232994	9,1379	0,2045	

Jadi dalam 1 mg fraksi etanol 60% mengandung gendarusin A sebanyak 8,8169 μg .

Tabel 4. Penetapan Kadar Gendarusin A dalam Fasa Air

Replikasi	Penimbangan Bahan (g)	Rerata (g)	Area	Kadar Gendarusin A (ppm)	Rerata (ppm)	KV (%)
1	0,0500	0,0502 \pm	2617234	83,5185	89,1332 \pm	5,46
2	0,0504		2888885	91,9931		
3	0,0501	0,0002	2885513	91,8879	4,8627	

Jadi dalam 1 mg fasa air mengandung gendarusin A sebanyak 8,8837 $\frac{1}{4}\text{g}$.

Tabel 5. pH Sediaan Param

Param	Replikasi	pH	Rerata
Fraksi Etanol 60%	1	7,36	7,39 \pm 0,04
	2	7,42	
Fasa Air	1	6,55	6,53 \pm 0,03
	2	6,51	

Tabel 6. Hasil Penimbangan Param Fraksi Etanol 60%

Replikasi	Berat Param (g)	Berat Fraksi Etanol 60% (g)	Kadar awal gendarusin A (μg)
1	3,0016	2,7003	23808,2751
2	3,0006	2,6882	23701,5906

Tabel 7. Kadar Hasil Pelepasan Gendarusin A Fraksi Etanol 60% Replikasi 1

Waktu (menit)	t $\frac{1}{2}$ (menit)	Area	Kadar Gendarusin A (ppm)	Q ($\mu\text{g/cm}^2$)	Pelepasan Gendarusin A (%)
10	5	2926	1,9606	103,9421	2,88
20	10	4562	2,0116	106,6459	2,96
30	15	6173	2,0619	109,3125	3,03
40	20	7902	2,1158	112,1701	3,11
50	25	9538	2,1669	114,8792	3,19
60	30	9413	2,1629	114,6671	3,18

Tabel 8. Kadar Hasil Pelepasan Gendarusin A Fraksi Etanol 60% Replikasi 2

Waktu (menit)	t $\frac{1}{2}$ (menit)	Area	Kadar Gendarusin A (ppm)	Q ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Pelepasan Gendarusin A (%)
10	5	6309	2,0661	109,5352	3,05
20	10	10034	2,1824	115,7009	3,22
30	15	10800	2,2063	116,9679	3,26
40	20	12291	2,2528	119,4332	3,33
50	25	15231	2,3445	124,2947	3,46
60	30	16067	2,3706	125,6784	3,50

Tabel 9. Hasil Penimbangan Param Fraksi Air

Replikasi	Berat Param (g)	Berat Fraksi Air (g)	Kadar awal gendarusin A (μg)
1	3,0020	2,7111	24084,5991
2	3,0019	2,7236	24195,6453

Tabel 10. Kadar Hasil Pelepasan Gendarusin A Fraksi Air Replikasi 1

Waktu (menit)	t $\frac{1}{2}$ (menit)	Area	Kadar Gendarusin A (ppm)	Q ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Pelepasan Gendarusin A (%)
10	5	5572	2,0430	108,3105	2,97
20	10	5806	2,0505	108,7082	2,98
30	15	6362	2,0678	109,6253	3,00
40	20	7127	2,0917	110,8924	3,04
50	25	7578	2,1057	111,6346	3,06
60	30	8446	2,1328	113,0713	3,09

Tabel 11. Kadar Hasil Pelepasan Gendarusin A Fraksi Air Replikasi 2

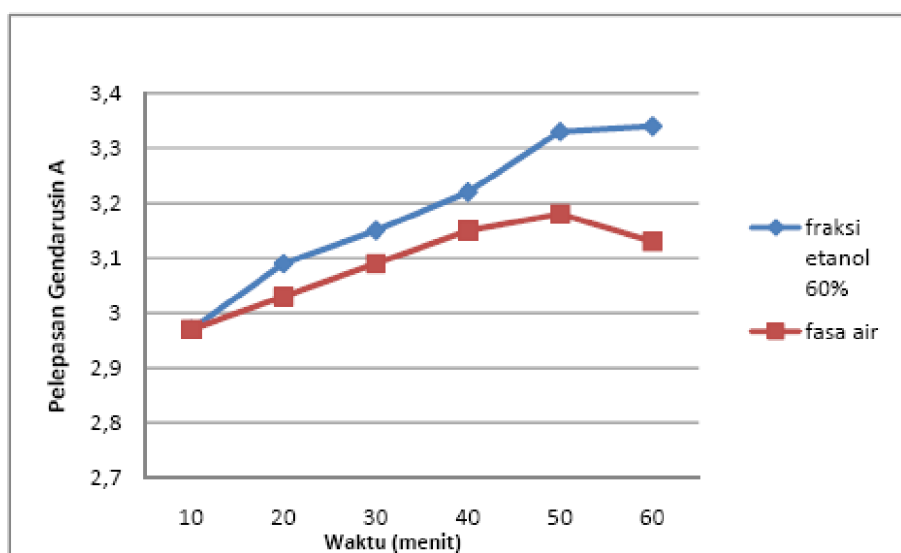
Waktu (menit)	t $\frac{1}{2}$ (menit)	Area	Kadar Gendarusin A (ppm)	Q ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Pelepasan Gendarusin A (%)
10	5	5989	2,0562	109,0104	2,97
20	10	8402	2,1314	112,9971	3,08
30	15	10252	2,1892	116,0614	3,17
40	20	12034	2,2447	119,0038	3,25
50	25	13278	2,2836	121,0661	3,30
60	30	10102	2,1815	115,6532	3,16

Tabel 12. Fluks Pelepasan Gendarusin A Dalam Param Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air

Jenis Param	Replikasi	Fluks Pelepasan ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{menit}^{\frac{1}{2}}$)	Rata-Rata Fluks ($\mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{menit}^{\frac{1}{2}}$)
Fraksi Etanol 60%	1	0,5479	0,6065
	2	0,6650	
Fasa Air	1	0,1766	0,3895
	2	0,6024	

Tabel 13. Prosentase Pelepasan Gendarusin A Dari Param fraksi Etanol 60% dan Param Fasa Air

Menit	Replikasi	Pelepasan Gendarusin A (%)		Rata-Rata Pelepasan (%)	
		Param Fraksi Etanol 60%	Param Fasa Air	Param Fraksi Etanol 60%	Param Fasa Air
10	1	2,88	2,97	$2,97 \pm 0,12$	$2,97 \pm 0,00$
	2	3,05	2,97		
20	1	2,96	2,98	$3,09 \pm 0,18$	$3,03 \pm 0,07$
	2	3,22	3,08		
30	1	3,03	3,00	$3,15 \pm 0,16$	$3,09 \pm 0,12$
	2	3,26	3,17		
40	1	3,11	3,04	$3,22 \pm 0,16$	$3,15 \pm 0,15$
	2	3,33	3,25		
50	1	3,19	3,06	$3,33 \pm 0,19$	$3,18 \pm 0,17$
	2	3,46	3,30		
60	1	3,18	3,09	$3,34 \pm 0,23$	$3,13 \pm 0,05$
	2	3,50	3,16		



Gambar 1. Kurva Pelepasan Gendarusin A (%)

kadar fraksi etanol 60% dan kadar fasa air. Hasil penetapan kadar tertera pada Tabel 3 dan Tabel 4.

Penentuan pH Sediaan Param

Penentuan pH sediaan param tertera pada Tabel 5

Uji Pelepasan

Penetapan kadar Gendarusin A dari matriks param dilakukan dengan memasukkan area pada kurva baku standar dan didapatkan kadar, kemudian dihitung

jumlah kumulatif Gendarusin A yang terlepas. Profil pelepasan Gendarusin A diperoleh dengan menggambarkan gendarusin A yang terlepas (Q) dalam cuplikan yang diambil pada tiap interval akar waktu tertentu.

Kecepatan pelepasan Gendarusin A (Fluks) diperoleh dari slope persamaan regresi masing-masing param dari 5menit sampai 25 menit antara $t \frac{1}{2}$ dengan jumlah kumulatif gendarusin A yang terlepas. Hasil dari percobaan ini :

Persamaan regresi dari param fraksi etanol 60% :

Replikasi 1 :

$$y = 0,5479 x + 101,1704, r \text{ hitung} = 0,9999$$

$$r \text{ tabel} = 0,811 (\alpha = 0,05, df = n-1)$$

Replikasi 2 :

$$y = 0,6650 x + 107,2109, r \text{ hitung} = 0,9747$$

$$r \text{ tabel} = 0,811 (\alpha = 0,05, df = n-1)$$

Persamaan regresi dari param fasa air :

Replikasi 1 :

$$y = 0,1766 x + 107,8448, r \text{ hitung} = 0,9878$$

$$r \text{ tabel} = 0,811 (\alpha = 0,05, df = n-1)$$

Replikasi 2 :

$$y = 0,6024 x + 106,5923, r \text{ hitung} = 0,9937$$

$$r \text{ tabel} = 0,811 (\alpha = 0,05, df = n-1)$$

Untuk dapat melihat profil prosentase pelepasan gendarusin A dari param fraksi etanol 60% dan param fasa air dapat dilihat pada tabel serta gambar.

Dari hasil prosentase pelepasan gendarusin A rata-rata dari param fraksi etanol 60% dan param fasa air serta gambar 1 maka dapat dilihat yang memberikan pelepasan gendarusin A terbesar adalah param fraksi etanol 60%. Sehingga untuk pemilihan bahan baku pembuatan param sebaiknya menggunakan fraksi etanol 60% karena proses ekstraksinya lebih pendek dari pada fasa air dan memberikan efek lebih cepat dibandingkan fasa air.

KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kecepatan pelepasan gendarusin A dari sediaan param fraksi etanol 60% adalah $0,6065 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{menit}^{1/2}$ dan param fasa air adalah $0,3895 \mu\text{g}/\text{cm}^2/\text{menit}^{1/2}$
2. Pelepasan gendarusin A dari param fraksi etanol 60% lebih besar dibandingkan param fasa air.
3. Dilakukan penelitian yang sama dengan waktu pengambilan sampel yang berbeda atau diperpanjang

4. Dilakukan penelitian dengan menggunakan bentuk sediaan farmasi yang lain

5. Dilakukan studi in vivo untuk melihat pelepasannya secara langsung dalam tubuh

DAFTAR PUSTAKA

- Anonim, 1983, **Toga (Tanaman Obat Keluarga)**, Direktorat Pengawasan Obat Tradisional, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan, Dep Kes RI, Jakarta, hal 4-5
- Anonim, 1992, **Semiloka Etik Penelitian Obat Tradisional**, Jakarta: Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, hal 14
- Anonim, 2002, **The United State Pharmacopoeia**, 25Rd, Rockville : United State Pharmacopoeial Convention Inc, hal 2018
- Anonim, 1999, **Peraturan Perundang-Undangan Di Bidang Obat Tradisional**, Direktorat Jendral Pengawasan Obat dan Makanan departemen Kesehatan Republik Indonesia, Jakarta, hal 4
- Ansel, HC, 1989, **Pengantar Bentuk Sediaan Farmasi (terjemahan)**, ed IV, UI press, Jakarta, hal 489-494
- Backer, CA, RCB. Van Den Brink Jr, 1963, **Flora of Java**, Vol II, The Auspices Of The Rujkshet Barium, Leyden, hal 589
- Barry W, Brian, 1983, **Dermatological Formulation, Percutaneous Absorption**, Marcel Dekker Inc, New York and Basel
- Djoko H, 1995, **Materia Medika Indonesia**, Jilid IV, Depkes RI, Jakarta, hal 109-113
- Elliott Middleton Jr, 1984. **The Flavonoid**, TIPS, hal 335-338

- Harborne, Jeffrey B at all, 1999, **Phytochemical Dictionary**, 2nd, Taylor and Francis ltd, London, hal 431
- Heming, WK., AS Wirian, T Yaputra, S. Dalimartha dan B Wibowo, 1997, **Tanaman Berkhasiat Obat Indonesia**, Jilid I, ITB, Bandung, hal 44-45
- Heyne K, 1987, **Tumbuhan Berguna Indonesia III**, Badan Litbang Kehutanan, Yayasan Sarana Wana Jaya, Hal 1759
- Markham KR, 1988, **Cara Mengidentifikasi Flavonoid**, ITB, Bandung, hal 1-7
- Martin, Alfred at all, 1983, **Physical Pharmacy (terjemahan)**, Lea and febiger, philadelphia, hal 827-897
- Moeso, S dan Agus P, 1985, **Laporan Perjalanan ke Jaya Pura Sentiani (Irian Jaya)**, Fakultas Biologi UGM, Yogyakarta, Hal 9
- Mulja M dan Suharman, 1995, **Analisis Instrumental**, Airlangga University Press, Surabaya, hal 236-267
- Oetari, S, 1986, **Pengaruh Tipe Membran Dan PH Cairan Penerima Terhadap Difusi Asam Salisilat Secara In Vitro**, BPPS, Univ Gajah Mada, yogyakarta, hal 11
- Prajogo B E W, 2002, **Aktivitas Antifertilitas Flavonoid Daun *Justicia gendarussa* Burm.f : Penelitian Eksperimental Pencegahan Penetrasi Spermatozoa Mencit Dalam Proses Fertilisasi In Vitro**, disertasi, Program Pascasarjana Universitas Airlangga, Surabaya
- Prajogo B E W dan Suwijoyo Pramono, 1988, **Isolasi glikosida Flavonoid dari daun Gendarusa (*Justicia gendarussa* Burm.f)**, simposium, Penelitian Tumbuhan Obat VI, Jakarta
- Prasmawari, Santi, 2001, **Uji Aktivitas Antiinflamasi Ekstrak Metanol Daun *Gendarussa vulgaris* Ness Pada Tikus Putih**, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga Surabaya
- Reza, Shinta SA, 2004, **Penetapan Kadar Gendarusin Dalam Fraksi Etanol 60% dan Fasa Air Daun *Gendarussa vulgaris* Nees Dengan Metode HPLC**, Skripsi, Fakultas Farmasi Universitas Airlangga, Surabaya
- Robinson, Trevor, 1983, **The Organik Constituen of Higher Plants**, 5th, Cordus Press, North Amrerst, hal 191
- Sadono, 1999, **Mekanisme Pelepasan Etil p-Metoksi Sinamat Pada Matriks Formula Param Beras Kencur**, Laporan Penelitian Lemlit Unair, hal 1-15
- Santoso, Singgih, 2003, **Mengatasi Berbagai Masalah Statistik Dengan SPSS Versi 11,5**, PT Elex Media Komputindo, Jakarta, Hal 269-280
- Setiawan, Dalimartha, 1999, **Atlas Tumbuhan Obat Indonesia**, Jilid I, Trubus Asriwidya, Jakarta, hal 61-64
- Shargel, Leon dan Andrew BC, Yu, 1988, **Biofarmasetika dan Farmakokinetika Terapan (Terjemahan)**, Ed II, Airlangga University Press, Surabaya, hal 85-199
- Van Stenis, C.G.G.J, 1987, **Flora Untuk Sekolah di Indonesia**, Pradya Paramita, Jakarta Pusat, Hal 393-414