

**UJI EFEKTIVITAS EKSTRAK ETANOL DAUN TAPAK DAR
(*Catharantus roseus* (L.) G.Don) TERHADAP PENURUNAN KADAR
GULA DARAH TIKUS PUTIH JANTAN GALUR WISTAR
(*Rattus norvegicus* L.) YANG DIINDUKSI SUKROSA**

Hersindy Soriton¹⁾, Paulina V.Y. Yamlean¹⁾, dan Widya Astuti Lolo¹⁾

¹⁾Program Studi Farmasi FMIPA UNSRAT Manado, 95115

ABSTRACT

Periwinkle is one of herbal plantation which is used as a traditional medicine. This research aims to test the effectiveness of ethanol extract of Periwinkle leaf in lowering blood glucose level of Strain Wistar White Male Mice. This test is a Laboratory Experimental Research using 15 Strain Wistar White Male Mice (*Rattus norvegicus* L.) as the experimental animal are divided into five treatment groups namely negative control group, positive control group and treatment groups with dose 0,04 g/kg body weight, 0,08 g/kg body weight, and 0,16 g/kg body weight of ethanol extract Periwinkle leaf. The data obtained from Fasting Blood glucose level check, 30 minutes post sucrose induction and on 15, 30, 60 and 120 minutes post gave treatment. The data are analyze by using one way ANOVA (*Analysis of Variance*) test and to be continued with LSD test (*Least Significantly Difference*) aim to discover the obvious difference between the treatments. The result of this research show that ethanol extract Periwinkle leaf with dose of 0,04 g/kg body weight, 0,08 g/kg body weight, and 0,16 g/kg body weight are effective in lowering blood glucose level of Strain Wistar White Male Mice.

Key words : Periwinkle Leaf, Blood Glucose Level, Sucrose, *Rattus norvegicus* L.

ABSTRAK

Tanaman Tapak Dara merupakan salah satu tanaman obat yang digunakan sebagai obat tradisional. Penelitian ini bertujuan untuk menguji efektivitas ekstrak etanol daun Tapak Dara terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratorium dengan menggunakan tikus putih jantan galur wistar sebagai hewan uji (*Rattus norvegicus* L.) berjumlah 15 ekor yang terbagi dalam 5 kelompok yaitu kelompok kontrol negatif, kelompok kontrol positif dan kelompok perlakuan dengan dosis ekstrak etanol daun Tapak Dara masing-masing 0,04 g/kgBB, 0,08 g/kgBB, dan 0,16 g/kgBB. Data diperoleh dari pemeriksaan kadar gula darah puasa, 30 menit setelah diinduksi dengan sukrosa, dan pada menit ke 15, 30, 60, dan 120 setelah pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara. Data dianalisis secara statistika dengan ANAVA satu jalur dan dilanjutkan dengan uji LSD untuk melihat beda nyata antar perlakuan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,04 g/kgBB, 0,08 g/kgBB, dan 0,16 g/kgBB memiliki efek menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar.

Kata kunci : Daun Tapak Dara, Kadar gula darah, Sukrosa, *Rattus norvegicus* L.

PENDAHULUAN

Kesehatan merupakan keadaan sejahtera dari badan, jiwa, raga dan sosial yang memungkinkan setiap orang hidup produktif secara sosial dan ekonomi. Saat ini tingkat kesehatan menghadapi tantangan yang sangat berat, hal ini disebabkan oleh tingkat biaya kesehatan yang cenderung meningkat, seperti harga obat-obatan dan biaya rumah sakit yang semakin memperburuk kualitas hidup dan kesehatan masyarakat (Nurwidodo, 2006). Salah satu penyakit yang tergolong sangat sulit untuk disembuhkan dan perlu dilakukan penanganan secara serius melalui pengobatan yaitu penyakit diabetes mellitus (Sahputra, 2008).

Diabetes Mellitus (DM) merupakan gangguan yang terjadi pada tubuh berupa kenaikan kadar glukosa di dalam darah (hiperglikemia). Keadaan ini seringkali disertai dengan gejala-gejala kehausan, banyak berkemih, penurunan berat badan (Corwin, 2009). Upaya untuk mencapai tingkat kesehatan yang maksimal manusia mewarisi kebiasaan nenek moyangnya dengan melakukan pengobatan sendiri jika mengalami sakit (Sartono, 1996). Selain penggunaan obat sintesis kimia, tanaman obat juga banyak digunakan untuk menurunkan kadar gula darah. Komponen bahan aktif dari beberapa tanaman obat memiliki aktivitas biologis yang berguna untuk pengobatan penyakit DM secara empiris.

Efek hipoglikemik komponen bioaktif pada tanaman tersebut berkontribusi dalam mengembalikan fungsi sel beta pankreas sehingga menyebabkan peningkatan sekresi insulin (Klein *et al.*, 2007). Dilaporkan pula, kebanyakan tumbuhan yang mengandung alkaloid mempunyai efek sebagai antidiabetes (Kim *et al.*, 2006).

Indonesia memiliki berbagai macam tanaman obat yang dapat digunakan secara empiris untuk menurunkan kadar gula darah diantaranya Mengkudu, Brotowali, Ciplukan, Lidah Buaya, Mahkota Dewa,

Sambiloto, dan salah satunya ialah Tapak Dara. Tapak Dara dikenal dalam pengobatan tradisional untuk menurunkan kadar gula darah. Zat kimia yang terkandung dalam Tapak dara yaitu alkaloid merupakan zat yang berkhasiat menurunkan kadar gula dalam darah.

Penelitian ini dibatasi pada pengujian efektivitas dari ekstrak etanol daun Tapak Dara (*Catharantus roseus*) dalam menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar yang diinduksi sukrosa. Tujuan penelitian ini untuk menguji efektivitas ekstrak etanol daun Tapak Dara terhadap penurunan kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar.

METODOLOGI PENELITIAN

Bahan dan Alat

Bahan yang digunakan yaitu daun Tapak dara segar, etanol 70%, aquades, tablet Glibenklamid, sukrosa, pakan ternak dan *Carboxy methyl cellulose* (CMC) 0,5%.

Alat yang digunakan yaitu Kandang hewan, sarung tangan, tempat air minum dan tempat makan hewan, alat-alat gelas (*pyrex*), timbangan hewan uji, oven, timbangan analitik, *rotary evaporator*, *waterbath*, ayakan mesh 200, *Nasogastric tube* (NGT) no. 3,5 dan 5, *disposable syringe* 1ml dan 3 ml, gunting, kertas saring, stik gula darah dan alat ukur gula darah *Nesco Multicheck*.

Pembuatan Simplisia

Daun Tapak Dara segar dicuci bersih dengan air mengalir, ditiriskan kemudian dirajang kecil-kecil dengan menggunakan pisau, selanjutnya dikering-anginkan selama 3 hari pada suhu kamar kemudian dilanjutkan pengeringan dengan menggunakan oven dengan suhu 40° selama 3 hari. Setelah kering daun Tapak Dara kemudian dihaluskan dengan menggunakan blender dan diayak dengan ayakan 200 mesh.

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara

Pembuatan ekstrak etanol daun Tapak dara dilakukan dengan metode maserasi. Proses maserasi dilakukan dengan perbandingan 1 : 7, yaitu serbuk daun Tapak dara kering yang telah diayak, ditimbang sebanyak 300 g kemudian dimasukkan kedalam wadah tertutup rapat lalu diekstraksi dengan menggunakan 1200 ml etanol 70% dengan cara maserasi selama 5 hari (setiap hari digojok). Ekstrak kemudian disaring dengan kertas saring (filtrat 1) dan sisanya diremaserasi dengan etanol 70% sebanyak 900 ml lalu disaring (filtrat 2). Filtrat 1 dan filtrat 2 dikumpulkan kemudian diuapkan dengan menggunakan *rotary evaporator* pada tekanan rendah dan suhu 33° C sampai volume menjadi $\frac{1}{4}$ dari volume awal dan dilanjutkan dengan pengentalan menggunakan waterbath pada suhu 40° C hingga didapatkan ekstrak kental sebanyak 49,15 g.

Pembagian Kelompok Hewan Uji

Hewan uji yaitu tikus putih jantan galur wistar dikelompokkan dalam 5 kelompok. Sebelum diberi perlakuan, semua tikus dipuasakan selama 8 jam (tetap diberikan minum). Semua tikus yang telah dipuasakan ditimbang berat badannya kemudian diperiksa kadar gula darah puasa (t0), setelah itu semua tikus diinduksi larutan sukrosa 5,625 g/KgBB. Setelah 30 menit, semua tikus diperiksa kadar gula darah sesudah diinduksi dengan sukrosa (t1). Selanjutnya semua tikus akan diberikan CMC 0,5% untuk kontrol negatif (K), untuk kelompok perlakuan dosis yang terbagi atas 3 kelompok diberikan suspensi ekstrak etanol daun Tapak dara dengan dosis masing-masing 0,04 g/KgBB, 0,08 g/KgBB, dan 0,16 g/KgBB, dan untuk kontrol positif (K+) diberikan suspensi glibenklamid dengan dosis 0,63 mg/KgBB, kemudian kadar gula darah diperiksa pada menit ke 15(t2), 30(t3),

60(t4), dan 120(t5) setelah perlakuan. Semua sampel darah diambil dari vena ekor tikus dan kadar gula darah diukur dengan menggunakan Glukometer *Nesco Multicheck*.

Pembuatan Suspensi CMC 0,5%

Sebanyak 0,5 g CMC ditaburkan kedalam lumpang yang berisi 30 ml aquades panas dan didiamkan selama 15 menit hingga memperoleh massa yang transparan lalu digerus sampai homogen. Selanjutnya diencerkan dengan menggunakan aquades dan dimasukkan kedalam labu ukur 100 ml. Volume dicukupkan sampai batas tanda tera.

Pemberian Suspensi Sukrosa

Dosis sukrosa dihitung berdasarkan dosis sukrosa pada kelinci (1,5 kg) yaitu 3 g/KgBB per oral (Widyastuti dan Suarsana, 2011) dengan faktor konversi dosis kelinci ketikus 0,25 (Harmita, 2006) maka perhitungan dosis sukrosa pada tikus yaitu $1,5 \times 3 \times 0,25 = 5,625$ g /KgBB.

Dosis sukrosa yang digunakan untuk hewan uji dilarutkan dalam suspensi CMC 0,5% sebanyak 20 ml, kemudian volume pemberian dihitung berdasarkan berat badan dan diminumkan pada masing-masing tikus.

Pemberian Suspensi Ekstrak Etanol Daun Tapak Dara

Dosis pemakaian daun Tapak dara pada manusia dewasa (50 kg) ialah 15 g (Dalimartha, 2009). Faktor konversi dosis pada manusia (70 kg) ke tikus (200 g) ialah 0,018 (0,018 merupakan faktor konversi dosis manusia ke tikus menurut Harmita (2006)).

Dosis yang akan diberikan pada tikus ialah $70/50 \times 0,32 \times 0,018 = 0,04$ g/kgBB Maka dalam penelitian akan menggunakan dosis ekstrak etanol daun Tapak dara yang bertingkat : Dosis I : 0,04 g/KgBB, Dosis II : 0,08 g/KgBB, Dosis III : 0,16 g/KgBB.

Setiap dosis ekstrak etanol daun Tapak dara yang digunakan dilarutkan dalam suspensi CMC 0,5% sebanyak 10 ml kemudian volume pemberian dihitung berdasarkan berat badan dan diminumkan pada masing-masing tikus.

Pemberian Suspensi Glibenklamid 0,63 mg/kgBB

Dosis Glibenklamid pada manusia dewasa ialah 5 mg, maka dosis Glibenklamid untuk tikus yaitu $70/50 \times 5 \times 0,018 = 0,63 \text{ mg/ KgBB}$.

Tablet Glibenklamid tidak dapat larut dalam air, untuk itu diberikan dalam bentuk suspensi yang dilarutkan dalam CMC 0,5%. Dosis Glibenklamid kemudian dilarutkan dalam suspensi CMC 0,5 % sebanyak 100 ml dan volume pemberian dihitung berdasarkan berat badan kemudian diminumkan pada masing-masing tikus.

Analisis Data

Data yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan program statistika spss ver. 20. Beda nyata antar perlakuan diuji dengan one way ANOVA, jika terdapat beda nyata maka dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significantly Difference*)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan dengan menggunakan metode ekstraksi maserasi dengan menggunakan pelarut etanol 70% dilihat dari tingkat kepolaran zat aktif senyawa turunan alkaloid seperti leurosine, katarantin, lochnerine, tetrahydroalstonine, vindolin dan vindolinin ialah sama dengan etanol 70% yaitu bersifat polar sehingga dapat larut dengan baik pada etanol 70% (Gamse T, 2002).

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian ini ialah tikus putih jantan galur wistar yang memenuhi syarat untuk digunakan dalam penelitian. Sebelum dilakukan pengujian, semua tikus dipuasakan selama 8 jam dengan tidak

diberikan makanan agar tidak mempengaruhi absorpsi obat dalam tubuh. Setelah dipuasakan, semua tikus diperiksa kadar gula darah (t_0) dan diperoleh data kadar gula darah puasa tikus berada pada keadaan normal dengan rata-rata 90-96 mg/dL. Menurut Wulandari (2010), kadar gula darah puasa normal pada tikus dalam rentang antara 50-109 mg/dL.

Kondisi hiperglikemia pada hewan uji dicapai dengan cara semua tikus diinduksi larutan sukrosa dengan dosis 5,625 g/kgBB. Setelah 30 menit diinduksi dengan sukrosa, pada tabel 3 rata-rata kadar gula darah pada tikus mengalami kenaikan kadar gula darah dalam rentang 137-181 mg/dL (t_1). Hal ini menunjukkan telah terjadi penyerapan glukosa oleh tubuh tikus dikarenakan pengaruh fisiologis tubuh tikus itu sendiri, sehingga telah tercapai kondisi hiperglikemia dimana tikus mengalami hiperglikemia apabila kadar gula darah $>127 \text{ mg/dL}$ (Gulfraz *et al*, 2007).

Penelitian ini terdiri atas 5 kelompok yang terbagi atas kelompok kontrol negatif dengan pemberian suspensi CMC 0,5%, kelompok kontrol positif dengan pemberian suspensi glibenklamid 0,63 mg/kgBB, kelompok perlakuan satu (KP1) dengan dosis ekstrak etanol daun Tapak Dara 0,04 g/kgBB, kelompok perlakuan dua (KP2) dengan dosis ekstrak etanol daun Tapak Dara 0,08 g/kgBB, dan kelompok perlakuan tiga (KP3) dengan dosis ekstrak etanol daun Tapak Dara 0,16 g/kgBB.

Kelompok kontrol negatif yang diberikan suspensi CMC 0,5%, dapat dilihat pada tabel 4 Hasil pengukuran kadar gula darah dibandingkan dengan kelompok perlakuan lainnya, kadar gula darah kelompok negatif mengalami kenaikan yang tinggi sampai pada waktu t_5 dan belum mencapai tingkat normal. Penggunaan suspensi CMC 0,5% pada kelompok kontrol negatif hanya sebagai pembanding sehingga tidak memberikan

efek terhadap laju penurunan kadar gula darah pada tikus.

Kelompok kontrol positif yang diberikan suspensi glibenklamid dengan dosis 0,63 mg/kgBB menunjukkan hasil pengukuran kadar gula darah sampai waktu t₄ masih dalam keadaan hiperglikemia. karena belum mengalami penurunan sampai pada keadaan normal. Pengukuran pada waktu t₅ menunjukkan telah terjadi penurunan kadar gula darah sampai pada keadaan normal. Hal ini disebabkan waktu paruh dari glibenklamid yaitu 2 sampai 4 jam oleh karena itu, penurunan kadar gula darah pada keadaan normal terjadi pada waktu t₅.

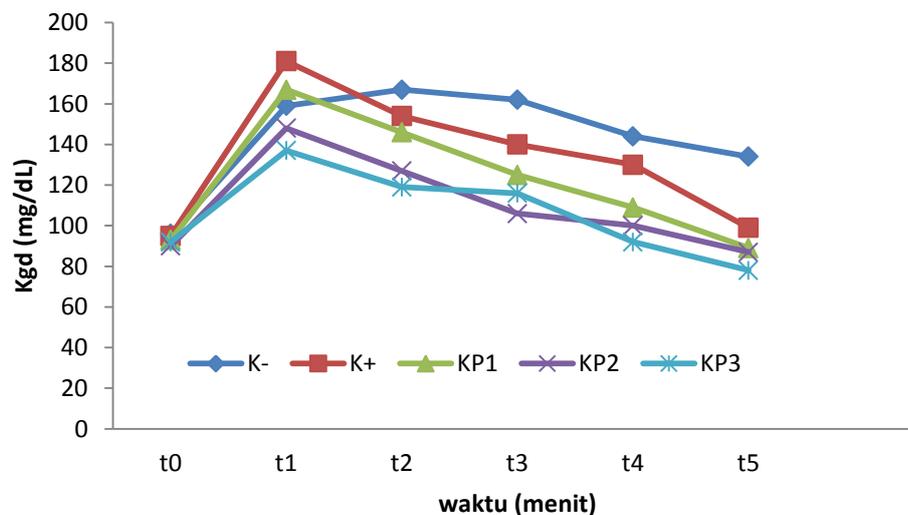
Hasil pengukuran kadar gula darah pada kelompok perlakuan satu (KP1) yang diberikan ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,04 g/kgBB, menunjukkan penurunan sampai keadaan normal pada waktu t₄ dan t₅. Dengan demikian ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,04 g/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus. Pada kelompok perlakuan dua (KP2) yang diberikan ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,08 g/kgBB, menunjukkan hasil terjadi penurunan kadar gula darah sampai keadaan normal pada waktu t₃ sampai t₅. Dengan demikian, ekstrak etanol daun Tapak dara dengan dosis 0,08 g/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus.

Kelompok perlakuan tiga (KP3) yang diberikan ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,16 g/kgBB, menunjukkan hasil terjadi penurunan kadar gula darah pada keadaan normal pada waktu t₄ dan t₅, maka ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,16 g/kgBB dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus. Penurunan kadar gula darah pada pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara disebabkan oleh kandungan zat aktif alkaloid pada ekstrak etanol daun Tapak Dara yang dapat menghambat absorpsi glukosa

sehingga dapat mencegah terjadinya hiperglikemia.

Menurut Dalimarta (2009), senyawa alkaloid seperti leurosin, katarantin, lochnerine, tetrahydroalstonin, vindolin dan vindolinin yang terdapat pada daun Tapak Dara dapat memberikan efek hipoglikemik. Cara kerja zat bioaktif ini yaitu dengan menstimulasi pelepasan hormon insulin pada pankreas atau menghambat kerja enzim α -glukosidase pemecahan karbohidrat yang dapat diserap oleh usus.

Dengan demikian, keadaan hiperglikemia tidak akan terjadi setelah pemberian beban glukosa (Dominiczak, 2005). Untuk membandingkan penurunan kada gula darah pada setiap kelompok perlakuan dapat dilihat pada rerata hasil pengukuran kadar gula darah pada masing-masing kelompok hewan uji yang dibuat dalam bentuk grafik seperti pada gambar 1 untuk mempermudah pengamatan penurunan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar.



Gambar 1. Grafik rata-rata kadar gula darah tikus putih jantan galur wistar pada masing-masing kelompok perlakuan

Keterangan :

- t⁰ : Pemeriksaan kadar gula darah puasa
- t¹ : Pemeriksaan kadar gula darah setelah 30 menit diinduksi sukrosa
- t² : Pemeriksaan kadar gula darah setelah pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara pada menit ke-15
- t³ : Pemeriksaan kadar gula darah setelah pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara pada menit ke-30
- t⁴ : Pemeriksaan kadar gula darah setelah pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara pada menit ke-60
- t⁵ : Pemeriksaan kadar gula darah setelah pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara pada menit ke-120
- K- : Kelompok kontrol negatif dengan pemberian suspensi CMC 0,5%
- K+ : Kelompok kontrol positif dengan pemberian suspensi glibenklamid 0,63 mg/kgBB
- KP1 : Kelompok perlakuan pertama yang diberikan ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,04 g/kgBB
- KP2 : Kelompok perlakuan kedua yang diberikan ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,08 g/kgBB
- KP3 : Kelompok perlakuan ketiga yang diberikan ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan dosis 0,16 g/kgBB

Data yang diperoleh dilanjutkan dengan uji statistika untuk menguji sebaran datanya dengan menggunakan uji *Homogeneity of Variance* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,862 selanjutnya dengan nilai signifikansi yang lebih besar dari 0,05 (0,862 > 0,05) maka terpenuhi

syarat untuk uji ANOVA dan data menyebar secara normal atau homogen.

Tabel 1. Uji *Homogeneity of Variance*

Test of Homogeneity of Variances			
Rata-rata			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
,317	4	15	,862

Uji analisis dengan menggunakan *one way ANOVA* didapatkan nilai signifikansi sebesar 0,018 (Sig.< 0,05). Hal ini menunjukkan terdapat perbedaan bermakna pada semua kelompok perlakuan. Pengambilan keputusan untuk menentukan hipotesis diterima atau ditolak didasarkan pada F hitung dan F tabel

dengan syarat F hitung lebih besar dari F tabel maka H0 ditolak dan H1 diterima. Uji *one way ANOVA* pada rata-rata kadar gula darah diperoleh F hitung sebesar 4,186 dengan sig. 0,018. Jika dibandingkan F tabel, perhitungan V1 menggunakan jumlah varian dikurangi satu diperoleh nilai empat (5-1=4), dan V2 diperoleh dengan menggunakan jumlah sampel dikurangi 5 sehingga diperoleh nilai limabelas (20-5=15). Pada titik inilah diperoleh nilai F tabel 3,06 sehingga F hitung > F tabel (4,186 > 3,06) dan hipotesis H1 diterima yaitu rata-rata setiap perlakuan terdapat perbedaan secara bermakna.

Tabel 2. Uji *One Way ANOVA*

ANOVA					
Rata-rata					
	Sum of Squares	Df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6802,200	4	1700,550	4,186	,018
Within Groups	6093,000	15	406,200		
Total	12895,200	19			

Pada hasil ANOVA *one way* yang menyatakan bahwa H1 diterima maka dapat dilanjutkan dengan uji LSD (Least Significant Difference) untuk melihat adanya perbedaan data kadar gula darah pada tikus. Data yang diperoleh pada uji LSD yaitu antara kelompok kontrol negatif dengan kelompok kontrol positif, KP1, KP2, dan KP3 terdapat perbedaan yang signifikan.

Hal ini menunjukkan pemberian Suspensi CMC 0,5% tidak memberikan pengaruh terhadap penurunan kadar gula darah pada tikus, sedangkan antara kelompok kontrol positif dan KP1, KP2, juga KP3 tidak terdapat perbedaan yang signifikan. Hal ini menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun Tapak Dara (*Catharantus roseus* L.) dapat menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar

Berdasarkan grafik yang diperoleh maupun uji statistik yang telah dilakukan maka dapat dikatakan bahwa pemberian ekstrak etanol daun Tapak Dara dapat menurunkan kadar gula darah dikarenakan kandungan zat aktif yang terdapat pada daun Tapak Dara yaitu senyawa turunan alkaloid seperti lain leurosine, katarantine, lochnerine, tetrahydroalstonine, vindoline dan vindolinine yang mampu mencegah naiknya kadar glukosa darah pada tikus dalam keadaan hiperglikemia dengan menstimulasi sel beta pankreas untuk memproduksi hormon insulin sehingga terjadi penurunan kadar gula darah.

PENUTUP

Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan maka dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun Tapak Dara

(*Catharantus roseus*) memiliki efek menurunkan kadar gula darah pada tikus putih jantan galur wistar (*Rattus norvegicus* L.).

Saran

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk menguji efek ekstrak etanol daun Tapak Dara dengan meningkatkan dosis ekstrak untuk mengetahui dosis toksik ekstrak etanol daun Tapak Dara.

DAFTAR PUSTAKA

- Dalimartha, S. 2007. *Atlas Tumbuhan Obat Indonesia*. AgroMedia Pustaka. Jakarta.
- Departemen Kesehatan RI. 1979. *Farmakope Indonesia Edisi III*. Depkes RI. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Depkes RI. Jakarta
- Departemen Kesehatan RI. 2000. *Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat*. Depkes RI. Jakarta.
- Dominiczak MH. 2005. *Glucose homeostasis, fuel metabolism and insulin*. *Medical Biochemistry*. *Second Edition*. Elsvier Mosby. Hlm 273-197
- Gamse T. 2002. *Liquid-liquid Extraction and Solid-Liquid Extraction*. Graz Pr. New York
- Harmita. 2006. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi III*. Penerbit Buku Kedokteran ECG. Jakarta
- Raina, MH. 2011. *Tanaman Obat untuk Kesehatan*. Penerbit : Absolut, Yogyakarta.
- Santoso, B. 1993. *Buku Pegangan Kuliah: Ilmu penyakit dalam I seri penyakit endokrin dan metabolik*. Universitas Sebelas Maret. Surakarta
- Setiawan, R. 2010. *Pengaruh Pemberian Ekstrak Kelopak Bunga Rosela (*Hibiscus sabdariffa*,L.) Terhadap Penurunan Kadar Gula Darah Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) yang Diinduksi Aloksan* [Skripsi]. Fakultas Kedokteran Universitas Sebelas Maret, Surakarta.
- Stephen,L, Dawson. 2003. *Catharanthus roseus var. roseus and Catharanthus roseus var.albus*. Kew Garden. New York