



JURNAL LABORATORIUM KHATULISTIWA

e - ISSN : 2597-9531

p - ISSN : 2597-9523



Uji Aktivitas Trombolitik Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak Secara In Vitro

✉ **Khaulani Refsi Hardini, Etiek Nurhayati, Wahdaniah**

Jurusan Analis Kesehatan Poltekkes Kemenkes Pontianak

E-mail : rkhaulani@gmail.com

Submitted : 14 November 2019; **Revised** : 25 November 2019; **Accepted** : 28 November 2019

Published : 30 November 2019

Abstract

Temulawak is known by the people of Indonesia as an efficacious medicinal plant. Temulawak is effective in overcoming jaundice, diarrhea, ulcers, lowering blood fat, preventing blood clots, and as an antioxidant. Temulawak rhizome extract contains compounds in the form of flavonoids, akoids, tannins, triterpenoids, saponins, and glycosides. Flavonoids play a role in thrombolytic by increasing the content of tissue plasminogen activator and reducing plasminogen activator inhibitor. This study aims to determine the difference in activity of temulawak rhizome extract compared to nattokinase on the percentage of clot lysis. This research is a quasi-experimental research, which is in vitro using the method developed by Prased et al.(2017) and modified by Kawsar et al., (2011). This study used a purposive sampling technique with samples of temulawak rhizome extract made using ethanol solvent maceration method at concentrations of 0.1, 0.2, and 0.3%. which was repeated 9 times. Thrombolytic activity was determined by calculating the percentage of clot lysis of the blood sample. The result of the univariate test of the highest thrombolytic activity was at a concentration of 0.3%, which was 42.19%. Then from the results of the linear regression statistical test, it showed a significant value of p value = 0.000 < a 0.05, which means H was accepted so that it was stated that there was thrombolytic activity of the ethanol extract of temulawak rhizome in vitro. This shows that temulawak rhizome has potential as a thrombolytic agent.

Keywords : Thrombolytic, Temulawak rhizome, flavonoids, percentage of lysed clots

Temulawak dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat berkhasiat. Temulawak ampuh mengatasi penyakit kuning, diare, maag, menurunkan lemak darah, mencegah pengumpulan darah, dan sebagai antioksidan. Ekstrak rimpang temulawak mengandung senyawa berupa flavonoid, akoid, tanin, triterpenoid, saponin, dan glikosida. Flavonoid berperan atas trombolitik dengan cara meningkatkan kandungan activator plasminogen jaringan dan mengurangi plasminogen activator inhibitor. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui perbedaan aktivitas ekstrak rimpang temulawak yang di bandingkan dengan nattokinase terhadap presentase bekuan lisis. Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental semu yakni secara in vitro menggunakan metode yang dikembangkan oleh Prased et al.(2017) dan dimodifikasi oleh Kawsar et al., (2011). Penelitian ini menggunakan teknik purposive sampling dengan sampel ekstrak rimpang temulawak yang dibuat melalui metode maserasi pelarut etanol pada konsentrasi 0,1, 0,2, dan 0,3 % yang dilakukan pengulangan sebanyak 9 kali. Aktivitas trombolitik ditentukan dengan menghitung presentase bekuan lisis dari sampel darah. Hasil uji univariat aktivitas trombolitik paling tinggi adalah pada konsentrasi 0,3% yaitu sebesar 42.19%. kemudian dari hasil uji statistik regresi linear menunjukkan nilai signifikansi p value = 0.000 < a 0,05 yang artinya H diterima sehingga dinyatakan ada aktivitas trombolitik ekstrak etanol rimpang temulawak secara invitro. Hal ini menunjukkan bahwa rimpang temulawak memiliki potensi sebagai agen trombolitik.

Kata Kunci : Trombolitik, Rimpang Temulawak, Flavonid, Presentase Bekuan Lisis

PENDAHULUAN

Temulawak telah dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai tanaman obat yang memiliki banyak khasiat. Dalam Ensiklopedia Pengobatan Herbal Jilid 1 (2015), dikatakan bahwa temulawak ampuh mengatasi sakit kuning, diare, maag, perut kembung, dan pegal-pegal. Khasiat lainnya adalah untuk menurunkan lemak darah, mencegah penggumpalan darah, dan sebagai antioksidan. Selain itu, temulawak bermanfaat sebagai *acnevulgaris*, anti inflamasi, dan anti hepototoksik (Putra, 2016).

Temulawak memiliki kandungan saponin, flavonoid, minyak atsiri (Redaksi 2015), felandrean, turmerol, kamfer, glukosida, foluymetik karbinol, dan kurkumin (Suryoko, 2011). Selain itu, temulawak juga mengandung beragam senyawa kimia lain seperti fenolik, triterpenoid, glukosa, kalium oksalat, protein, mineral, serat, dan pati. Temulawak diketahui memiliki kandungan zat aktif berupa germakron yang berfungsi untuk menekan rasa sakit (analgesik), anti-inflamasi, hipotermik, dan memiliki efek untuk menekan saraf pusat. Minyak atsiri dan kurkumin dalam temulawak berfungsi sebagai antibakteri. Kelompok flavonoid yaitu antosianin berfungsi sebagai antioksidan di dalam tubuh sehingga dapat mencegah terjadinya aterosklerosis, yaitu penyakit penyumbatan pembuluh darah (Subagja, 2014).

Flavonoid merupakan kandungan yang berperan dalam aktivitas trombolitik. Flavonoid secara signifikan meningkatkan kandungan aktivator plasminogen jaringan dan mengurangi plasminogen aktivator inhibitor (Miao et al. 2013),

METODE PENELITIAN

Metode yang digunakan untuk mengukur aktivitas trombolitik ini dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode yang dikembangkan oleh Prasad et al. (2007) dan dimodifikasi oleh Kawsar et al. (2011).

1) Pengambilan Tumbuhan

Tumbuhan yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari pekarangan yang terletak di RT.61/RW.009 Dusun Kenanga, Kecamatan Sungai Kakap, Kabupaten Kubu Raya, Provinsi Kalimantan Barat.

2) Determinasi Tumbuhan

Determinasi tumbuhan dilakukan di Laboratorium Biologi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Tanjungpura Pontianak. Tujuan dari determinasi ini adalah untuk menentukan bahwa tanaman sebagai bahan uji yang diambil dari tanaman temulawak.

3) Pengolahan Simplisia

Rimpang temulawak dikumpulkan sebanyak 3 kg

sebagai berat basah, disortasi basah, dan dibersihkan kotoran yang melekat dari rimpang temulawaknya dengan cara disikat dengan lembut kemudian dicuci dengan air mengalir. Setelah dibersihkan, rimpang temulawak dirajang kasar menjadi potongan-potongan yang kecil lalu dikeringkan dengan menggunakan alat cabinet dryer. Setelah itu, disortasi kering kemudian diblender dan diayak dengan ayakan. Hasil ayakan ditimbang dan disimpan ditempat tertutup, kering, dan bersih, serta terhindar dari sinar matahari langsung.

4) Penetapan Kadar Air

Tujuan penetapan kadar air adalah untuk memberikan batasan minimal atau rentang tentang besarnya kandungan air di dalam bahan. Cara penetapan kadar air ialah cawan penguap yang digunakan untuk penetapan kadar air dipanaskan dahulu di dalam oven pada suhu 100-105°C selama 15 menit atau 30 menit. Kemudian cawan disimpan dalam desikator selama 10 menit dan selanjutnya ditimbang dan dilakukan perlakuan yang sama sampai diperoleh berat cawan yang konstan. Simplisia yang telah dipotong kecil-kecil di blender, dimasukkan kurang lebih 10 gram, ditimbang dalam cawan porselin yang telah diketahui beratnya dan ditara. Selanjutnya dikeringkan di dalam oven pada suhu 105°C selama 5 jam dan ditimbang. Sample kering tadi kemudian didinginkan dalam desikator serta ditimbang kembali sampai perbedaan berat antara dua penimbangan berturut-turut tidak lebih dari 0,25%. Kadar air dalam simplisia tidak boleh lebih dari 10% (Depkes RI, 2000). Kadar air dalam simplisia dapat dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Kadar air} = \frac{(b-c)}{(b-a)} \times 100\%$$

Keterangan

a=berat konstan cawan kering

b=berat cawan+sampel sebelum dikeringkan

c=berat cawan+ sampel setelah dikeringkan

5) Ekstraksi Rimpang Temulawak

Ekstraksi sampel dilakukan dengan metode maserasi (Perendaman), Simplisia rimpang temulawak yang telah diayak dimasukan ke toples kaca Simplisia direndam dengan pelarut etanol untuk ekstrak etanol kemudian ditutup dengan aluminium foil. Perendaman simplisia dilakukan 3 x 24 jam dimana pelarutnya diganti setiap 24 jam sekali dimana pelarutnya diganti setiap 24 jam sekali sambil diaduk. Simplisia didiamkan 24 jam supaya zat yang tersari di dalam sel berdifusi sel.

6) Skrinning Fitokimia

a. Pemeriksaan Alkaloid

Ekstrak dilarutkan dalam asam klorida encer dan disaring. Kemudian dilakukan uji-uji sebagai berikut (Tiwari et al. 2011):

- (1) Uji Meyer
Filtrat direaksikan dengan reagen Mayer (Kalium Merkuri iodida). Pembentukan endapan berwarna menunjukkan adanya alkaloid. Kuning
 - (2) Uji Wagner
Filtrat direaksikan dengan reagen Wagner (Yodium dalam Kalium iodida). Pembentukan endapan coklat atau kemerahan menunjukkan adanya alkaloid.
 - (3) Uji Dragendorff
Filtrat direaksikan dengan reagen Dragendorff (larutan) Kalium Bismuth Iodida). Pembentukan endapan merah menunjukkan adanya alkaloid.
- b. Pemeriksaan Fenol
Sebanyak 1 mL larutan ekstrak tumbuhan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambahkan beberapa tetes air panas dan beberapa tetes larutan FeCl₃. Perubahan warna larutan menjadi warna biru kehijauan atau biru kehitaman menunjukkan adanya senyawa fenol (Tiwari et al. 2011).
- c. Pemeriksaan Flavonoid
- (1) Uji Natrium Hidrosida
Ekstrak direaksikan dengan beberapa tetes larutan natrium hidrosida. Pembentukan warna kuning yang intens, yang menjadi berwarna pada penambahan asam menunjukkan adanya flavonoid (Tiwari et al. 2011).
 - (2) Uji Timbal Asetat encer
Ekstrak direaksikan dengan beberapa tetes larutan timbal asetat. Pembentukan endapan kuning menunjukkan adanya flavonoid (Tiwari et al. 2011).
- d. Pemeriksaan Tanin
Larutan ekstrak tumbuhan ditambahkan larutan gelatin 1%. Terbentuknya presipitat putih menandakan adanya kandungan tanin. Pengujian ini dilakukan triplo (Tiwari et al. 2011).
- e. Pemeriksaan Saponin
Sebanyak 2 g sampel tumbuhan yang telah dihaluskan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, ditambah air suling sehingga seluruh cuplikan terendam, dididihkan selama 2-3 menit dan selanjutnya didinginkan, kemudian dikocok kuat-kuat. Hasil positif ditunjukkan dengan terbentuknya buih yang stabil (Sangi et al. 2008).
- f. Pemeriksaan Steroid dan Triterpenoid
Sebanyak 50-100 mg sampel tumbuhan yang telah dihaluskan, ditempatkan pada plat tetes dan ditambahkan asam asetat anhidrat sampai sampel terendam semuanya, dibiarkan selama kira-kira 15 menit, enam tetes larutan dipindahkan ke dalam tabung reaksi dan ditambah 2-3 tetes asam sulfat pekat. Adanya triterpenoid ditunjukkan dengan terjadinya warna merah jingga atau ungu, sedangkan adanya steroid ditunjukkan dengan adanya warna biru (Sangi et al. 2008).
- g. Pemeriksaan Glikosida
Ekstrak yang dihidrolisis dengan larutan HCL dan kemudian digunakan untuk menguji glikosida. Uji Bontrager Termodifikasi dilakukan dengan cara mereaksikan ekstrak dengan larutan Feri Klorida dan direndam dalam air mendidih selama sekitar 5 menit. Campuran didinginkan dan diekstraksi dengan volume yang sama dari benzena. Lapisan benzena dipisahkan dan diperlakukan dengan larutan amonia. Pembentukan warna rose pink di lapisan amoniak menunjukkan adanya glikosida anthranol (Tiwari et al. 2011)
- 7) Pembuatan Reagen.
- a. Pengambilan Darah
Darah yang digunakan sebagai media penelitian adalah darah vena dari responden sebanyak 9 orang berjenis kelamin laki-laki, tidak mengalami gangguan fungsi hati, tidak memiliki riwayat mengkonsumsi obat kontrasepsi, dan obat antikoagulan ataupun obat-obatan lainnya. Darah yang diambil sebanyak 8 ml. Kemudian dilakukan pemeriksaan hitung jumlah trombosit, jika jumlah trombosit normal, penelitian dapat dilanjutkan.
Perlu diketahui prosedur dalam pengambilan darah vena, dimana tempat pengambilan darah vena yang paling ideal adalah vena pada lipat siku karena vena ini paling tebal dan paling kelihatan. Selanjutnya cara pengambilan darah vena adalah sebagai berikut (Gandasoebrata, 2010):
 - b. Pembuatan Larutan Uji Ekstrak Etanol Rimpang Temulawak dan Nattokinase
0,5 gram ekstrak rimpang temulawak dan nattokinase dilarutkan dalam salin hingga 100 ml (0,5%) pada suhu ruang sebagai larutan induk. Kemudian kedua larutan tersebut diencerkan menjadi beberapa seri konsentrasi (0,1,0,2 dan 0,3 %).
- 8) Pengukuran Aktivitas Trombolitik
Ditimbang tabung microtube kosong dan dicatat beratnya. Sebanyak 1 ml darah dimasukkan ke dalam microtube dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 45 menit. Setelah itu, serum diambil dengan tidak merusak bekuan darah yang telah terbentuk. Kemudian serum tube yang berisi bekuan ditimbang untuk mendapatkan berat bekuan (berat bekuan Berat tabung berisi bekuan - berat tabung kosong) (Kawsar et al. 2011).

Sebanyak 100 pl larutan uji ditambahkan kedalam microtube yang berisi bekuan. Kontrol negatif dilakukan dengan tidak memberikan penambahan larutan uji kedalam microtube yang berisi bekuan. Semua tabung kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 90 menit dan dilakukan obeservasi terhadap bekuan yang lisis. Setelah inkubasi, cairan lisis dibuang ung ditimbang kembali untuk mengamati perbedaan berat setelah bekuan mengalami lisis. Perbedaan berat antara sebelum dan sesudah bekuan lisis disebut dengan persentase bekuan lisis (Kawsar et al. 2011). Persentase bekuan lisis dapat dihitung dengan menggunakan rumus: Selisih berat bekuan sebelum dan sesudah perlakuan Berat bekuan sebelum perlakuan x 100%

HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi dilakukan di Laboratorium Kimia Teknologi Pengolahan Hasil Perkebunan Politeknik Negeri Pontianak. Ekstraksi dilakukan dengan cara sampel yakni rimpang temulawak yang diambil dengan berat basah sebanyak 3 kg, kemudian dicuci dengan air mengalir. Rimpang temulawak yang telah dicuci bersih kemudian dirujang menjadi bagian yang kecil, lalu dikeringkan dengan lemari pengering (cabinet dryer) selama 1 hari. Rimpang yang telah kering diblender dan diayak. Hasil ayakan disebut dengan simplisisa yang diperoleh sebanyak 500 gram. Kemudian simplisisa diuji kadar air.

Simplisia sebanyak 500 gram dimaserasi dengan menggunakan pelarut etanol 96% selama 3 hari dan pelarut diganti setiap 24 jam sekali. Selama proses maserasi dilakukan pengadukan beberapa kali agar proses penarikan zat aktif oleh pelarut berjalan secara optimal. Pelarut dari proses maserasi ditampung yang kemudian disebut dengan maserat. Maserat didapatkan sebanyak 2,5 liter yang kemudian maserat tersebut dievaporasi dengan menggunakan rotary evaporator dan didapatkan ekstrak kental sebanyak 26,8 gram lalu ekstrak tersebut diuji susut pengeringan.

Hemostasis dan trombosis adalah dua kondisi yang berbeda tetapi memiliki kesamaan dalam proses terbentuknya gumpalan darah atau trombus. Pada dasarnya hemostasis adalah proses berhentinya perdarahan dari perlukaan atau sobekan pembuluh darah.

Nattokinase digunakan sebagai kontrol karena merupakan salah satu agen trombolitik yang bekerja dengan cara mendegradasi gumpalan fibrin baik secara langsung maupun tidak langsung dengan mempengaruhi inhibitor aktivator plasminogen 1 (PAI-1) serta meningkatkan jumlah aktivator plasminogen jaringan (IPA) (Eldin, et.al.. 2015).

Hasil pengamatan dan perhitungan yang telah dilakukan, didapatkan persentase bekuan lisis ekstrak

etanol rimpang temulawak pada konsentrasi 0,1% sebesar 27,94%, konsentrasi 0,2% sebesar 34,84% , dan konsentrasi 0,3% sebesar 42,19%. Dilihat dari hasil persentase bekuan lisisnya juga dapat diketahui bahwa dengan meningkatnya konsentrasi ekstrak meningkat pula potensi ekstrak dalam melisiskan bekuan darah, artinya potensi trombolitik menjadi plasmin semakin tinggi dan jumlah plasmin meningkat (Mino et al. 2013).

Sistem trombolitik dicetuskan oleh adanya aktivator plasminogen yang akan memecah plasminogen menjadi plasmin. Plasmin berasal dari plasminogen (bentuk tidak aktif dari plasmin), diaktifkan oleh dinding pembuluh darah (jalur instrinsik) atau dari jaringan (jalur ekstrinsik), enzim enzim kinase merupakan aktivator plasminogen. plasmin yang terbentuk bertanggung jawab memecah benang fibrin menjadi fragmen X, fragmen Y. frahmen D, dan fragmen E yang dapat menghambat sistem hemostasis dengan jalan mencegah polimerisasi fibrin dan agregasi trombosit. Proses pembentukan plasmin serta terjadinya proses pemecahan bekuan dan penghambatan hemostasis karena aktivitas plasmin merupakan hemostasis tersier (Nugraha, 2017).

PENUTUP

Berdasarkan hasil pada penelitian diatas, kesimpulan yang dapat diambil adalah:

1. Ekstrak rimpang temulawak memiliki kemampuan dalam melisiskan bekuan darah dengan persentase bekuan lisis konsentrasi 0,1% sebesar 27,94%, konsentrasi 0,2% sebesar 34,84%, dan konsentrasi 0,3% sebesar 42,19%.
2. Ekstrak rimpang temulawak konsentrasi 0,1, 0,2, dan 0,3% memiliki nilai signifikansi p value $0.000 < 0.05$ yang artinya H, diterima sehingga dinyatakan ada aktivitas trombolitik ekstrak etanol rimpang temulawak secara in vitro. Aktivitas trombolitik ekstrak etanol rimpang temulawak yang diperoleh sebesar 95,9%.

DAFTAR PUSTAKA

- Adiguna, Parjan. 2014. *The Secret of Herbal*. Yogyakarta: Cemerlang Publishing.
- Agustina. Sry, and Agrippina Wiraningtyas. 2016. "Skining Fitokimia Tanaman Obat Di Kabupaten Bima." *Cakra Kimia (Indonesia E-Journal of Applied Chemistry)* 4: 71-76.
- Ali, Mohammad., Rumana Akhter, Syeda Najah Narjish, Mohammad Shahriar, and Mohiuddin Bhuiyan. 2015. "Studies of Preliminary Phytochemical Screening. Membrane Stabilizing Activity, Thrombolytic Activity and In Vitro Antiokxi-

- dant Activity of Leaf Extract of Citrus Hystrix.” International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research 6(6): 2367-74.
- Ardiansyah, Sofwan, Fithrotul Hashiinah, Ratna Farida, and Ria Puspitawati. 2019. “Javanese Turmeric (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.) Ethanol Extract Has Inhibitory Effect in The Development of Intermediate Phase of Candida Albicans Biofilm.” Journal of International Dental and Medical Research 12: 460-64.
- Arifin, Bustanul, and Saanusi Ibrahim. 2018. “Struktur, Bioaktivitas Dan Antioksidan Flavonoid.” Jurnal Zarah 6(1): 21-29.
- Bhowmick, Rumpa., Md Shahid Sarwar, Syed Masudur Rahman Dewan, Abhijit Das, Binayok Das, Mir Muhammad Nasir Uddin, Md Siddiquil Islam, and Mohammad Safiqul Islam. 2014. “In Vivo Analgesic, Antipyretic, and Anti-Inflammatory Potential in Swiss Albino Mice and in Vitro Thrombolytic Activity of Hydroalcoholic Extract from Litsea Glutinosa Leaves.”: 1-8.
- Candra, Agung Adi. 2013. “Aktivitas Hepatoprotektor Temulawak Pada Ayam Yang Diinduksi Pemberian Parasetamol Hepatoprotektor.” 13(2): 137-43.
- Depkes RI. 2000. Parameter Standar Umum Ekstrak Tumbuhan Obat. 1st ed. Jakarta.
- Eldin Fadul Elseid Obeid, Alaa, Aisha Mudawi Alawad, and Hanan Moawia Ibrahim. 2015. “Isolation and Characterization of Bacillus Subtilis with Potential Production of Nattokinase.” International Journal of Advanced Research 3(3): 94-101.
- Fuentes, Eduardo. Kur, Luis Guzman, Marcelo Alarcon, Rodrigo Moore, and Ivan Palomo. 2014. “Thrombolytic/Fibrinolytic Mechanism of Natural Product.” Faculty of Health Sciences, Interdisciplinary Excellence Research Program on Healthy Aging (PIEIES), Universidad de Talca, Chile i: 13. <http://dx.doi.org/10.1039/C7RA001721>
- Gandasoebrata, R. 2010. Penuntun Laboratorium Klinik. Jakarta: DIAN RAKYAT.
- Gunawan, Sulistya Gan. 2012. Farmakologi Dan Terapi Edisi 5. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Hanani, Endang. 2017. Analisis Fitokimia. Jakarta: EGC.
- Kabo. Peter. 2010. Bagaimana Menggunakan Obat-Obat Kardiovaskuler Secara Rasional. Jakarta: Balai Penerbit FKUI.
- Karyawati, Amor Thersna. 2011. “Aktivitas Antivirus Simian Retrovirus Serotype-2 (SRV-2) Dari Ekstrak Meniran (Phyllanthus Niruri) Dan Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza).” Jurnal Penelitian Sains 14(D): 52-55.
- Kawsar, Hassan, Al Amin Sikder, Sohel Rana, and Ishrat Nimmi. 2011. “Studies of Thrombolytic, Antioxidant and Cytotoxic Properties of Two Asteraceous Plants of Bangladesh.” 14(2): 103-6.
- Kemenkes, RI. 2017. Formularium Ramuan Obat Tradisional Indonesia. Jakarta. [http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk_hukum/KMK No. HK_01_07MENKES-1872017_ttg Formularium_Ramuan_Obat Tradisional Indonesia.pdf](http://hukor.kemkes.go.id/uploads/produk_hukum/KMK_No.HK_01_07MENKES-1872017_ttg_Formularium_Ramuan_Obat_Tradisional_Indonesia.pdf).
- Kumoro, Andri Cahyo. 2015. Teknologi Ekstraksi Senyawa Bahan Aktif Dari Tanaman Obat. Yogyakarta: Plantaxia.
- Kuntorini, Evi Mintowati, Maria Dewi Astuti, and Norma Milina. 2011. “Struktur Anatomi Dan Kerapatan Sel Sekresi Serta Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Dari Rimpang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.) Asal Kecamatan Pegaron Kabupaten Banjar Kalimantan Selatan.” 8.
- Kurosawa, Yuko., Shinsuke Nirengi, Toshiyuki Homma, Kazuki Esaki, Mitsuhiro Ohta, Joseph F. Clark, and Takafumi Hamaoka. 2015. “A Single-Dose of Oral Nattokinase Potentiates Thrombolysis and Anti-Coagulation Profiles.” Nature Publishing Group 5:11601: 1-7. <http://dx.doi.org/10.1038/srep11601>.
- Miao, Mingsan, MD, Xuexia Zhang, and Linan Wang. 2013. “Persimmon Leaf Flavonoid Induces Brain Ischemic Tolerance in Mice.” Neural Regen Res 8(15): 1376-82. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4107763/>
- Muhlisah, Fauziah. 2008. Tanaman Obat Keluarga (TOGA). Jakarta: Penebar Swadaya.
- Murray, Robert K., Daryl K. Granner, and Victor W. Rodwell. 2009. Biokimia Harper. 27th ed. Jakarta: EGC.
- Notoatmodjo, Seokidja. 2010. Metodologi Penelitian Kesehatan, Jakarta: Rineka Cipta.
- Nugraha, Gilang. 2017. Panduan Pemeriksaan Hematologi Dasar. Jakarta: CV. Trans Info Media.
- Olson, James 2004. Belajar Mudah Farmakologi. Jakarta: EGC.
- Prasad, Sweta., Rajpal Singh Kashyap, Jayant Y Deopujari, Hemant J Purohit, Girdhar M Taori, and Hatim F Dagainwala. 2007. “Effect of Fagonia Arabica (Dhamasa) on in Vitro Thrombolysis.” BMC Complementary and Alternative Medicine 6: 1-6.
- Prasetyorini. Ike Yulia Wiendarlina, and Anisa Bela Peron. 2011. “Toksitas Beberapa Ekstrak Rimpang Cabang Temulawak (Curcuma Xanthorrhiza Roxb.) Pada Larva Udang (Artemia Salina Leach).” Fitofarmaka 1(2): 14-21.
- Purwakusumah, Edy Djauhari, Lusi Royani, and Mohamad Rafi. 2016. “Evaluasi Aktivitas Antioksidan Dan Perubahan Metabolit Sekunder Mayor Temulawak (Curcuma Xantho... Suprpto, Haddy. 2017. Metodologi Penelitian Untuk

Karya Ilmiah. Yogyakarta: Gosyen Publishing.

Suryoko, Hery. 2011. 20 Tanaman Obat Paling Berkhasiat Penakluk Asam Urat. Yogyakarta: ANDI.

Tiwari, Prashant.. Bimlesh, Kumar, Mandeep Kaur, Gurpreet Kaur, and Harleen Kaur. 2011. "Phytochemical Screening and Extraction: A Review." *International Pharmaceutica Scientia* 1(1).

Weng, Yunqi, Jian Yao, Sawyer Sparks, and Kevin Yueju Wang. 2017. "Nattokinase: An Oral Antithrombotic Agent for the Prevention of Cardiovascular Disease."