



Pengaruh Paparan Ekstrak Biji Klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) terhadap Kadar Hemoglobin, Indeks Hepatosomatik dan Kadar Protein Hepar Tikus Putih (*Rattus norvegicus* L.)

Rofiatul Adawiyah Putri*, Agung Janika Sitasiwi, Kasiyati

Fakultas Sains dan Matematika, Universitas Diponegoro, Semarang.

*Corresponding Author: rofiatulputri@gmail.com

Article History

Received : 24 September 2021

Approved : 05 November 2021

Published : 30 November 2021

Keywords

dose, liver function,
fenugreek seed extract

ABSTRACT

Fenugreek is one of the herbal plants whose seeds contain flavonoid antioxidant compounds, essential amino acids and minerals but their effect on liver function has not been tested. This study consisting of 4 treatment groups, namely P0 (white rats were given aquadest), P1 (white rats were given fenugreek seed extract at dose of 500 mg/kg BW), P2 (white rats were given fenugreek seed extract at dose of 1000 mg/kg BW), and P3 (white rats given fenugreek seed extract at dose of 1500 mg/kg BW). Statistical analysis test used Kruskal Wallis and continued with Mann Whitney test. The results showed that the administration of fenugreek seed extract on the highest hepatosomatic index was found in research rats treated with a dose of 500 mg/kg BW, the highest hemoglobin levels were found in research rats treated with a dose of 1500 mg/kg BW and the highest liver protein levels were found in research rats. treated with a dose of 500 mg/kg BW. The conclusion of this study was that exposure to fenugreek seed extract was able to maintain liver function by showing the value of hepatosomatic index, hemoglobin and liver protein levels in white rats.

© 2022 Universitas Kristen Indonesia

Under the license CC BY-SA 4.0

PENDAHULUAN

Tanaman klabet (*Trigonella foenum-graecum* L.) merupakan salah satu tanaman obat yang biasa dimanfaatkan bagiannya, terutama pada bagian biji (Srinivasan, 2006). Biji klabet berwarna

kuning kecokelatan, memiliki tekstur keras dan berukuran panjang sekitar 5 mm (Snehlata & Payal, 2012). Biji klabet mengandung banyak asam folat (84 mg/100 g), diosgenin, gitogenin, neogitogenin, homorientin, saponaretin,

neogigogenin, dan trigogenin (Khorshidian *et al.*, 2016), juga mengandung komponen dalam jumlah kecil seperti flavonoid, alkaloid (trigonolin, cholin, gentianin, carpaine), asam amino (4-hydroxyisoleucine), spirostanol dan furastanol (diosgenin, gitogenin, dan yamogenin) yang memberikan efek farmakologis (Trivedi *et al.*, 2007).

Efek antidiabetes pada biji klabet terkandung dari senyawa galaktomanan yang mengontrol kadar glukosa darah dan mengurangi penyerapan glukosa di usus. Efek antiinflamasi dan analgesik pada biji klabet terkandung dalam senyawa kimia saponin, flavonoid, dan tanin (Yadav *et al.*, 2016). Efek antikanker pada biji klabet terkandung dalam senyawa utama seperti naringenin, kuersetin, dan skualen (Khalil *et al.*, 2015). Efek antimikroba pada biji klabet terkandung dalam senyawa flavonoid dan polifenol (Kumari *et al.*, 2016; Norziah *et al.*, 2015). Efek antifertilitas pada biji klabet terkandung dari senyawa saponin yang mengakibatkan sekresi FSH menurun dan LH terhambat (Hanum, 2010). Efek antioksidan dalam biji klabet terkandung dalam senyawa flavonoid (Bukhari *et al.*, 2008).

Manfaat biji klabet terhadap hepar telah dibuktikan dengan ekstrak polifenol biji klabet dapat berfungsi sebagai agen pelindung atau agen hepatoprotektif pada hati yang diinduksi oleh etanol (Kaviarasan

et al., 2009). Biji klabet juga mampu meningkatkan biosintesis hemoglobin dan meningkatkan kadar darah karena kaya akan kandungan sumber protein, terutama asam amino esensial seperti lisin dan treonin, sumber mineral seperti besi dan tembaga, sumber vitamin seperti folat dan askorbat. Komponen asam amino, mineral, dan vitamin esensial tersebut memiliki efek yang menguntungkan dan membantu untuk pencegahan ataupun penyembuhan penyakit anemia (Doshi *et al.*, 2012).

Tikus merupakan hewan pengerat dan tergolong ke dalam kelas mamalia yang sering digunakan sebagai hewan percobaan di laboratorium karena sifatnya mudah dipelihara, relatif sehat dan karena tergolong hewan mamalia sehingga kelengkapan organ, kebutuhan nutrisi, metabolisme biokimia, sistem reproduksi, sistem pernafasan, sistem peredaran darah dan sistem ekskresi dianggap mirip dengan manusia (Bredo & Vazquez, 2011). Tikus putih jantan jika digunakan dalam penelitian memiliki hasil lebih stabil karena kecepatan metabolisme obat yang lebih cepat, kondisi biologis tubuh yang cenderung stabil, dan tidak dipengaruhi oleh adanya siklus estrus dan kehamilan seperti bila dibandingkan pada tikus putih betina (Pujiatiningsih, 2014). Ciri luar atau morfologis dari tikus putih (*Rattus norvegicus*) ialah kepalanya kecil, warna tubuh albino, dan panjang ekor lebih

panjang dibandingkan badannya. Berat badan rata-rata tikus putih pada umur satu bulan berkisar antara 35–40 gram dan untuk berat badan tikus dewasa rata-rata sekitar 200-250 gram. Habitat tikus berada dalam lubang dan berkelompok, dalam satu kelompok bisa mencapai 200 ekor tikus. Tikus mudah dijumpai di area perkebunan kelapa, selokan, dan padang rumput (Akbar, 2010).

Hemoglobin adalah komponen utama sel darah merah. Globin terdiri atas 4 rantai polipeptida, yaitu 2 rantai polipeptida alfa yang terdiri atas 141 asam amino dan 2 rantai polipeptida beta yang terdiri atas 146 asam amino dengan total asam amino sebanyak 574 buah (Norsiah, 2015). Fungsi hemoglobin ialah mengangkut oksigen ke jaringan tubuh, dan mengangkut karbondioksida dan proton dari jaringan perifer ke organ respirasi. Hubungan kadar hemoglobin dengan kadar eritrosit sangat erat, yaitu apabila eritrosit rendah, maka kemampuan hemoglobin membawa oksigen ke seluruh jaringan akan terhambat dan tubuh akan mengalami anemia apabila kekurangan oksigen (Gunadi dkk., 2016).

Hepar adalah salah satu organ sistem pencernaan yang terletak dipermukaan kaudal diafragma hingga sisi median dan lengkungan kosta kiri, di bagian kranial hepar berbatasan dengan abdomen dari duodenum dan berbentuk seperti cekungan.

Hepar dibungkus dengan Kapsula Glisson yang merupakan jaringan ikat tipis yang menebal di hilum (Bredo & Vazquez, 2011). Hepar tikus dibagi menjadi empat lobus, yaitu lobus kiri, lobus median, lobus kanan, dan lobus caudatus (Boorman, 2006). Hepar memiliki peran besar dalam aktivitas metabolisme (Salasia & Hariono, 2010). Menurut Price & Lorraine (2006), hepar menjadi organ penghubung antara sistem pencernaan dengan sistem peredaran darah.

Permasalahan dalam penelitian ini adalah bagaimana pengaruh paparan ekstrak biji klabet terhadap kadar hemoglobin, indeks heptosomatik dan kadar protein pada tikus putih jantan. Tujuan dari penelitian ini adalah menguji pengaruh paparan ekstrak biji klabet terhadap kadar hemoglobin, indeks heptosomatik dan kadar protein hepar tikus putih jantan.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini dilakukan selama empat bulan di Laboratorium Biologi Struktur dan Fungsi Hewan, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika (FSM), Universitas Diponegoro (UNDIP). Analisis kadar hemoglobin dilakukan di Laboratorium Kesehatan Hewan, Semarang. Analisis kadar protein dilakukan di Laboratorium Terpadu Universitas Diponegoro Semarang dan

Laboratorium Fakultas Kedokteran Hewan Universitas Gajahmada Yogyakarta.

Alat yang digunakan yaitu 36 set kandang pemeliharaan tikus beserta tempat pakan dan botol minum, timbangan digital dengan akurasi 0,01 gram, timbangan analitik dengan akurasi 0,001 gram, *logbook*, *spidol*, *bolpoin*, *penggaris*, *gunting*, *sarung tangan*, *spuit injeksi* ukuran 5 ml, *alat sonde mencit*, *gelas ukur*, *termohigrometer*, *rotary evaporator*, *lemari pendingin*, *freezer -20°C*, *set alat bedah*, *bak paraffin*, *jarum pentul*, *cawan petri*, *tabung EDTA*, *mortar dan stamper*, *mikropipet*, *white pippete tip*, *blue pippete tip*, *yellow pippete tip*, *microtube*, *sentrifuge*, *ice gel*, *cooler bag*, *spektrofotometeter*, dan *kuvet*. Bahan yang digunakan yaitu biji klabet, 36 individu tikus putih jantan strain Wistar berumur satu bulan, *pakan standar A594*, *air kran*, *akuades*, *kertas label*, *kloroform*, *kapas*, *tisu*, *larutan garam fisiologis*, *etanol 70%*, *larutan Buffer Neutral Formalin*, *larutan PBS Solution*, *biorad protein assay*, *sekam padi*, *plastik klip*, *kertas minyak*, *kertas milimeter blok*, *aluminium foil*, dan *plastik mika*.

Penelitian ini menggunakan desain Rancangan Acak Lengkap (RAL), dengan 4 kelompok perlakuan dan 9 kali ulangan, dengan rincian tiap kelompok sebagai berikut :

P0 : Kontrol, tikus putih normal diberi aquades

P1 : Tikus putih normal diberi ekstrak biji klabet 500 mg/kg BB

P2 : Tikus putih normal diberi ekstrak biji klabet 1000 mg/kg BB

P3 : Tikus putih normal diberi ekstrak biji klabet 1500 mg/kg BB

Pembuatan ekstrak biji dimulai dengan cara biji klabet dikeringkan di dalam oven dengan suhu $\pm 45-50^{\circ}\text{C}$, selanjutnya dihancurkan, digiling, dan diayak menjadi serbuk. Ekstrak biji klabet direndam dengan etanol 70% selama 2 hari kemudian disaring dan diuapkan dengan alat rotary evaporator sampai diperoleh ekstrak biji klabet berbentuk tepung. Pemberian perlakuan menggunakan spuit berkanul yang dipasang pada syringe 1 ml dengan mengambil 0,2 ml larutan ekstraksi untuk satu tikus semua kelompok perlakuan selama 21 hari. Pembedahan hewan uji dilakukan pada minggu ke-3 dengan pengambilan tiap kelompok perlakuan secara acak dari P0, P1, P2 dan P3. Pengambilan sampel darah dan organ dilakukan dengan diseksi yang diawali dengan anesthesia menggunakan kloroform. Hewan uji pingsan segera dikeluarkan dari wadah dan diletakkan di atas bak paraffin dengan bagian anterior menghadap ke atas dan diseksi dilakukan dengan memotong jaringan kulit dari

bagian bawah menuju bagian atas abdomen.

Pengambilan sampel darah dilakukan dengan menggunakan spuit yang ditusukkan ke bagian jantung kemudian sampel darah dihisap dengan spuit secara perlahan. Sampel darah yang sudah terkumpul dimasukkan dalam tabung EDTA dan dihomogenkan dengan cara memutar tabung EDTA secara perlahan dan hati-hati agar tidak menggumpal. Isolasi organ dilakukan dengan alat-alat bedah untuk mengambil hepar. Organ hepar selanjutnya ditimbang dengan timbangan digital ketelitian 0,01 gram. Pemotongan sedikit pada bagian hepar kurang dari 1 gram untuk digunakan sebagai sampel perhitungan kadar protein lalu ditimbang dan dicatat sebagai berat organ hepar untuk sampel penentuan kadar protein. Sampel hepar selanjutnya dicuci dengan larutan garam fisiologis 0,8%, disimpan di dalam freezer -20°C sampai dipergunakan untuk analisis protein hepar.

Analisis protein hepar dimulai dengan cara hepar dipotong, ditimbang, dan disimpan di dalam freezer -20°C . Hepar dihancurkan dengan mortar dan stamper dan diberi larutan PBS dengan perbandingan 1:1, kemudian jus yang dihasilkan dimasukkan ke dalam *microtube* dengan mikrotip dan disentrifuge dengan kecepatan 10.000 rpm selama 4 menit dengan suhu 4°C . Natan diambil dan

dipindahkan ke mikrotube baru kemudian diberi label keterangan nomor perlakuan dan disimpan didalam freezer -20°C . Pembuatan larutan blanko dengan mencampurkan 800 μl aquadest steril dan 200 μl Biorad Protein Assay sehingga total larutan blanko ialah 1000 μl , dan selanjutnya membuat larutan sampel dengan mencampurkan 798 μl aquadest steril; 2 μl sampel natan hepar; 200 μl Biorad Protein Assay, sehingga total larutan sampel adalah 1000 μl . Selanjutnya, dihomogenkan dan diinkubasi selama 5 menit dan dilanjutkan dengan spektrofometer dengan panjang gelombang 595 nm untuk mengetahui nilai absorbans total protein.

Pengukuran parameter dimulai dengan menghitung indeks hepatosomatik, yaitu dengan menimbang terlebih dahulu bobot badan akhir pada tikus putih dan bobot hepar tikus putih dengan menggunakan timbangan digital dengan akurasi 0,01 gram. Penghitungan indeks hepatosomatik dilakukan dengan rumus bobot hepar dibagi bobot badan tikus dikali 100%. Pengukuran kadar hemoglobin dilakukan dengan menggunakan alat *Hematology Analyzer* dimana nanti nilai akan langsung tertera pada monitor. Pengukuran kadar protein dilakukan Menurut Rosita (2018), menggunakan persamaan regresi linear kurva baku sebagai berikut :

$$Y = 0,0465x - 0,0157 \text{ atau } X = \frac{y + 0,0157}{0,0465}$$

x = konsentrasi protein; y = nilai absorbans dengan nilai $0,0465x - 0,0157$. Nilai konsentrasi dalam satuan mg/μl.

Analisis data indeks hepatosomatik, kadar hemoglobin dan kadar protein hepar menggunakan SPSS versi 25.0. Uji homogenitas dengan uji *Lavene* kemudian dianalisis dengan menggunakan uji *Kruskal Wallis* dengan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$) dan dilanjutkan dengan uji

Mann Whitney apabila hasil analisis *Kruskal Wallis* berbeda nyata.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil analisis indeks hepatosomatik (HSI), kadar hemoglobin dan kadar protein hepar pada penelitian ini ditampilkan pada **Tabel 1**. Rata-rata indeks hepatosomatik menunjukkan adanya perbedaan nyata antarkelompok perlakuan ($p < 0,05$), sedangkan rata-rata kadar hemoglobin dan kadar protein hepar menunjukkan perbedaan tidak nyata antarkelompok perlakuan.

Tabel 1. Hasil analisis rata-rata indeks hepatosomatik (%), kadar protein hepar tikus putih (mg/μl), kadar hemoglobin (g/dL) tikus putih setelah paparan ekstrak biji klabet selama 21 hari.

Waktu pengamatan	Perlakuan			
	P0	P1	P2	P3
	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$	$\bar{x} \pm SD$
HIS	4,17 ^b ± 0,30	4,67 ^a ± 0,23	4,11 ^b ± 0,3	3,97 ^b ± 0,25
Kadar Hemoglobin	9,48 ^a ± 1,97	11,38 ^a ± 0,41	11,25 ^a ± 0,29	11,40 ^a ± 1,01
Kadar Protein	15,05 ^a ± 1,86	17,61 ^a ± 2,79	16,11 ^a ± 0,49	15,51 ^a ± 0,92

Keterangan: Data yang ditampilkan berupa rata-rata ± standar deviasi. P0= tikus putih normal diberi aquades. P1= tikus putih normal diberi 500 mg/kg BB ekstrak biji klabet. P2= tikus putih normal diberi 1000 mg/kg BB ekstrak biji klabet. P3= tikus putih normal diberi 1500 mg/kg BB ekstrak biji klabet. Superskrip yang berbeda pada kolom yang sama menunjukkan berbeda nyata ($p < 0,05$).

Indeks hepatosomatik (HSI) pada hari ke-21 memperlihatkan bahwa P0 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok dosis 500 mg/kg BB (P1) namun berbeda tidak nyata dengan kelompok dosis 1000 mg/kg BB (P2) dan kelompok dosis 1500 mg/kg BB (P3). Nilai HSI P1 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan P0, kelompok dosis

500 mg/kg BB (P1) dan kelompok dosis 1500 mg/kg BB (P3). Nilai HSI P2 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok dosis 500 mg/kg BB (P1) namun berbeda tidak nyata dengan P0 dan kelompok dosis 1500 mg/kg BB (P3). Nilai HSI P3 berbeda nyata ($p < 0,05$) dengan kelompok dosis 500 mg/kg BB (P1) namun berbeda

tidak nyata dengan P0 dan kelompok dosis 1000 mg/kg BB (P2).

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa paparan ekstrak biji klabet selama 21 hari menyebabkan perubahan indeks hepatosomatik. Indeks hepatosomatik tertinggi terdapat pada tikus penelitian yang diberi perlakuan dosis 500 mg/kg BB. Perubahan yang terjadi pada nilai indeks hepatosomatik disebabkan adanya perubahan nilai pada bobot badan dan bobot hepar tikus. Nunes *et al.* (2011) menjelaskan bahwa nilai indeks hepatosomatik digunakan sebagai bioindikator senyawa toksik di dalam tubuh dan menunjukkan besaran energi pada hepar untuk mengetahui status kesehatan hewan. Yuneldi *et al.* (2018) menjelaskan bahwa indeks normal hepatosomatik tikus berkisar 4,46-4,86 %. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa nilai indeks hepatosomatik masih berada dalam kisaran nilai normal sehingga paparan biji klabet tidak menyebabkan efek toksik dan juga mampu mempertahankan fungsi hepar dalam ketersediaan energi hewan uji.

Kadar hemoglobin pada hari ke-21 memperlihatkan bahwa P0 berbeda tidak nyata dengan semua kelompok dosis perlakuan, yaitu kelompok dosis 500 mg/kg BB (P1), kelompok dosis 1000 mg/kg BB (P2) dan kelompok dosis 1500 mg/kg BB (P3). Kadar hemoglobin

tertinggi terdapat pada tikus penelitian yang diberi perlakuan dosis 1500 mg/kg BB. Hasil dalam penelitian ini menunjukkan bahwa nilai kadar hemoglobin dalam lebih rendah dari normal. Douglas & Wardrop (2010) menyatakan bahwa nilai normal hemoglobin tikus berkisar dari 11,6-16,1 g/dL. Kandungan protein dalam biji klabet, terutama asam amino esensial seperti lisin dan treonin; mineral seperti besi dan tembaga; vitamin seperti folat dan askorbat diduga berkontribusi dalam meningkatkan sintesis hemoglobin. Penelitian Doshi *et al.* (2012) menunjukkan bahwa biosintesis hemoglobin dan kadar darah dapat meningkat karena adanya kandungan sumber protein asam amino esensial pada biji klabet seperti lisin dan treonin.

Kadar protein pada hari ke-21 memperlihatkan bahwa P0 berbeda tidak nyata dengan semua kelompok dosis perlakuan, yaitu kelompok dosis 500 mg/kg BB (P1), kelompok dosis 1000 mg/kg BB (P2) dan kelompok dosis 1500 mg/kg BB (P3). Kadar protein hepar tertinggi terdapat pada tikus penelitian yang diberi perlakuan dosis 500 mg/kg BB. Peningkatan kadar protein hepar mengindikasikan terjadinya peningkatan sintesis protein hepar. Kandungan asam amino pada biji klabet yang dapat diserap oleh intestinum dan diedarkan ke hati dapat dijadikan sebagai substrat pada

biosintesis protein hepar. Trivedi *et al.* (2007) menyatakan bahwa kandungan asam amino pada biji klabet seperti 4-hydroxyisoleucine memberikan efek farmakologis. Penelitian Doshi *et al.* (2012) juga menyatakan bahwa kandungan protein asam amino esensial pada biji klabet, yaitu lisin dan treonin. Andri dkk. (2020) menyatakan bahwa lisin ialah salah satu asam amino esensial yang bermanfaat untuk menurunkan kadar trigliserida berlebih dalam darah dan bahan baku antibodi darah. Harli (2008) menyatakan bahwa treonin berperan dalam mempertahankan keseimbangan protein, sintesis kolagen dan elastin, dan meningkatkan fungsi hati.

Antioksidan dalam kandungan ekstrak biji klabet ialah senyawa yang dapat melindungi sel dari kerusakan radikal bebas dengan menstabilkan dan menghentikan reaksi berantai. Menurut Miryanti dkk. (2011) antioksidan berfungsi dalam menghentikan reaksi berantai dari radikal bebas sehingga menghambat terjadinya oksidasi. Antioksidan dibedakan menjadi antioksidan enzim dan antioksidan vitamin. Antioksidan yang termasuk ke dalam vitamin dan fitokimia biasa dikenal dengan sebutan flavonoid. Kandungan flavonoid seperti quersetin dan silymarin yang terdapat pada biji klabet diduga memberikan efek proteksi terhadap hepar. Ikalinus dkk. (2015) menyatakan bahwa

quersetin golongan flavonoid bertindak sebagai antioksidan yang menetralkan radikal bebas dengan gugus OH fenolik untuk menghambat inflamasi dan memperbaiki keadaan jaringan yang rusak. Penelitian Selvakumar *et al.* (2012) membuktikan bahwa perlakuan quersetin pada tikus jantan dewasa yang diberi paparan *Polychlorinated biphenyls* (PCBs) menghasilkan peningkatan kadar hemoglobin.

SIMPULAN

Simpulan dari penelitian ini adalah paparan ekstrak biji klabet mampu mempertahankan fungsi hepar dengan ditunjukkan nilai indeks hepatosomatik, kadar hemoglobin dan kadar protein hepar tikus putih.

DAFTAR PUSTAKA

- Akbar B. 2010. *Tumbuhan Dengan Kandungan Senyawa Aktif Yang Berpotensi Sebagai Bahan Anti Fertilitas*. Jakarta : Adabia Press.
- Andri, RP Harahap, & YA Tribudi. 2020. Estimasi dan Validasi Asam Amino Metionin, Lysin dan Threonin Dari Pakan Bijian Sebagai Sumber Protein Nabati. *Jurnal Nutrisi Ternak Tropis*, 1:18-22.
- Boorman GA. 2006. *Pathology of the Fischer Rat: Reference and Atlas*. California : Academics Press
- Bredo RM. 2011. Anatomy of the Liver In Wistar Rat (*Rattus norvegicus*). *Jurnal International J. Morphol.* Hal 77

- Bukhari SB, IB Muhammad, & M Shahabuddin. 2008. Antioxidative Activity of Extracts from Fenugreek Seeds (*Trigonella foenum-graecum*). *Pak. J. Anal. Environ. Chem*, 9(2):78-83.
- Doshi M, A Mirza, B Umarji, & R Karambelkar. 2012. Effect of *Trigonella foenum-graecum* (Fenugreek / Methi) on Hemoglobin Levels in Females of Child Bearing Age. *Biomedical Research*, 23(1).
- Douglas JW, & KJ Wardrop. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology*. 6th ed. Wiley-Blackwell, p.852-887.
- Gunadi VIR, YM Mewo, & M Tiho. 2016. Gambaran Kadar Hemoglobin Pada Pekerja Bangunan. *Jurnal e-Biomedik (eBm)*, 4(2).
- Hanum M. 2010. *Biologi Reproduksi*. Yogyakarta: Nuha Medika.
- Harli M. 2008. *Asam amino esensial*. www.suparmas.com.
- Norsiah. 2015. Perbedaan Kadar Hemoglobin Metode Sianmethemoglobin Dengan Dan Tanpa Sentrifugasi Pada Sampel Leukositosis. *Journal Medical Laboratory Technology*.
- Price SA, & MW Lorraine. 2006. *Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit*. Jakarta: EGC.
- Pujiatiningsih S. 2014. Pemberian Ekstrak Daun Putri Malu (*Mimosa Pudica Linn*) Secara Oral Menurunkan Kadar Gula Darah Post Prandial Pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Jantan Galur Wistar Prediabetes. *Tesis*. Fakultas biomedik. Denpasar : Universitas Udayana.
- Salasia, SIO & Hariono B. 2010. *Patologi Klinik Veteriner: Kasus Patologi Klinik*. Yogyakarta: Samudra Biru.
- Trivedi PD, K Pundarikakshudu, S Rathnam, & KS Shah. 2007. A Validated Quantitative Thin-layer Chromatographic Method for Estimation of Diosgenin in Various Plant Samples, Extract, and Market Formulation. *J Aoac Int*, 90(2): 358-63.
- Yadav R, R Tiwari, & F Amin. 2016. The Screening of Analgesic and Anti-inflammatory Activities of *Trigonella foenum-graecum* Seeds. *International Journal of Pharmaceutical Science Invention*, 5(7):50-53.
- Yuneldi RF, TR Saraswati, & EYW Yuniwanti. 2018. Profile of SGPT and SGOT on Male Rats (*Rattus norvegicus*) Hyperglycemic After Giving Insulin Leaf Extract (*Tithonia diversifolia*). *Journal of Biology & Biology Education*