

UJI EFEK ANTIINFLAMASI EKSTRAK ETANOL DAN EKSTRAK n-HEKSAN BIJI JINTAN HITAM (*Nigella sativa* L.) TERHADAP MENCIT (*Mus musculus*).

Anti-inflammatory effects test of black cumin (*Nigella sativa* L.) seed etanol extract and black cumin (*Nigella sativa* L.) seed n-Heksan extract To Mice (*Mus musculus*).

Mukhriani^{*1}, Hj. Faridha Yenny Nonci², Fathiyah Nuhrang³
Jurusan Farmasi, Fakultas Ilmu Kesehatan UIN Alauddin Makassar
Jl. Sultan Alauddin No. 36 Samata-Gowa Sulse, Indonesia, Telp/Fax 0411-841879/8221400

*Email: thyariezt19@yahoo.com

Abstract

Studies have been conducted testing anti-inflammatory effects of black cumin seed extract to mice with induced by subplantar albumin, wich to determine the effect and the concentration of the seed extract jintan hitam as an anti-inflammatory. This study was done by giving albumin as mediators of inflamatinon in the feet of mice, after which the black cumin seed n-Heksan extract to mice given orally with a dose of 1,2 g/kg BB, 2,4 g/kg BB, and 4,8 g/kg BB and carried out observations began after inducing albumin, up to 120 minutes. Na.diclofenac is used as a comparison at dose of 0,2 mg. Obtained inflammation percentage of black cumin seed n-Heksan extract with dose 1,2 g/kg BB is 17,5%, dose 2,4 g/kg BB is 18,06% and for dose 4,8 g/kg BB is 23,33%. For black cumin seed etanol extract given orally with a same dose of 1,2 g/kg BB, 2,4 g/kg BB, and 4,8 g/kg BB orally and carried out observations began after inducing albumin, up to 120 minutes. Na.diclofenac is used as a comparison at dose of 0,2 mg. Obtained inflammation percentage of black cumin seed etanol extract with dose 1,2 g/kg BB is 20,83%, dose 2,4 g/kg BB is 22,22% and for dose 4,8 g/kg BB is 24,72%.

Doses of n-Heksan extract of seed black cumin and etanol extract of seed black cumin given to mice has antiinflammatory effects. This shows that n-Heksan extract of the seed black cumin and etanol extract of seed black cumin capable of inhibiting inflammation to mice induced by albumin. From the three doses, the best doses who give inhibiting inflammation is 4,8 g/kg BB for n-Heksan extract of seed black cumin and etanol extract of seed black cumin.

Keyword: Anti-inflammatory, Extract, Black Cumin

1. Pendahuluan

Klasifikasi Jintan Hitam	Subdivisi	: Angiospermae	
Dunia	: Plantae	Kelas	: Dicotyledonae
Divisi	: Spermatophyta	Subkelas	: Diallypetalae

Keluarga : Ranales
 Ordo : Ranaceae
 Marga : *Nigella* L.
 Jenis : *Nigella sativa* L.

Kandungan Kimia

Dari berbagai penelitian, jintan hitam tidak hanya terbukti berfungsi sebagai obat penyembuh, tetapi juga mengandung lebih dari 100 unsur yang mendukung sistem kekebalan tubuh manusia, termasuk unsur yang dapat menyembuhkan kanker. Ahli gizi Nergiz dan Oetles menulis artikel di jurnal ilmiah *Food Chemistry* (48/3, 1993) berjudul "Chemical Composition of *Nigella sativa* L. Seeds". Dalam tulisan itu kedua ahli gizi tersebut menyatakan bahwa jintan hitam memiliki kandungan kimia berupa lemak dan minyak nabati (35%), karbohidrat (32%), protein (21%), air (5%), saponin, flavonoid, nigelin, dan kandungan lainnya (7%).

Biji jintan hitam mengandung kristal nigelon dan arganin; asam lemak; karoten; serta 15 macam asam amino, protein, dan karbohidrat. Selain itu juga mengandung bermacam-macam mineral, seperti kalsium; sodium; potassium; magnesium; selenium; zat

besi; serta vitamin A, B1, B2, B6, C, E dan niasin.

Biji jintan hitam antara lain mengandung minyak atsiri, minyak lemak, dan saponin melantin, zat pahit nigelin, nigelon dan timokinon. Minyak atsiri pada umumnya bersifat antibakteri, antiperadangan. Ia juga menghangatkan perut (Khomsan, 2009: 257).

Manfaat Jintan Hitam

Jintan hitam sudah lama dikenal. Percobaan-percobaan sudah banyak dilakukan terhadap jintan hitam. Dikatakan bahwa jintan hitam mempunyai banyak manfaat seperti mengatasi radang pada selaput lendir mata sehingga penglihatan berkabut, batuk rejan, keputihan pada gadis remaja, lepra, radang hidung, demam (daunnya), sembelit, encok, digigit serangga atau ular, influenza (buah/bijinya) (Khomsan, 2009: 257).

Dalam buku *Inventaris Tanaman Obat Indonesia (III)* (1994) dikatakan bahwa biji *Nigella sativa* berkhasiat sebagai obat cacing. Sebagai obat cacing digunakan kurang lebih 15 g biji jintan hitam yang telah dicuci, kemudian ditumbuk sampai halus, tambahkan air matang sebanyak

setengah gelas, diaduk dan saring. Air saringan diminum sekaligus (Khomsan, 2009: 257). Safflower adalah tanaman suhu hangat, yang dibudidayakan pada sebagian besar daerah tropis seperti Asia, Afrika, Rusia dan Cina (Machewad, 2012: 1).

Klasifikasi Hewan Coba

Dunia : Animalia
 Filum : Chordata
 Sub Filum : Vertebrata
 Kelas : Mammalia
 Sub Kelas : Theria
 Ordo : Rodentia
 Famili : Muridae
 Genus : Mus
 Spesies : *Mus musculus*

Mencit/mouse *Mus musculus* adalah hewan pengerat (Rodentia) yang cepat berbiak, mudah dipelihara dalam jumlah banyak, variasi genetiknya cukup besar serta sifat anatomis dan fisiologisnya terkarakterisasi dengan baik (Malole, 1989: 94).

Inflamasi merupakan respon terhadap kerusakan jaringan akibat berbagai rangsangan yang merugikan, baik rangsangan kimia maupun mekanis, infeksi, serta benda asing seperti bakteri dan virus. Pada proses inflamasi terjadi reaksi vaskular,

sehingga cairan, elemen-elemen darah, sel darah putih (leukosit), dan mediator kimia terkumpul pada tempat yang cedera untuk menetralkan dan menghilangkan agen-agen berbahaya serta untuk memperbaiki jaringan yang rusak. Tanda-tanda inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskuler, peningkatan permeabilitas kapiler, dan migrasi leukosit ke daerah inflamasi (Listyiwati, 2005;1).

Inflamasi meliputi kerusakan mikrovaskuler, meningkatnya permeabilitas kapiler dan migrasi leukosit ke jaringan radang. Gejala proses inflamasi yang sudah dikenal ialah kalor, rubor, tumor, dolor, dan *function laesa*. Respon inflamasi terjadi dalam 3 fase dan diperantarai mekanisme yang berbeda: (1) fase akut, dengan ciri vasodilatasi lokal dan peningkatan permeabilitas kapiler; (2) reaksi lambat, tahap sub akut dengan ciri infiltrasi sel leukosit dan fagosit; dan (3) fase proliferasi kronik, pada mana degradasi dan fibrosis terjadi (Ganiswara, 2007: 232).

2. Bahan dan Metode

2.1. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian adalah sampel ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.), etanol 70%, Na. Diklofenak, n-Heksan, air suling, Na. CMC, VCO, dan albumin.

2.2. Penyiapan Sampel

Sampel biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dikirim dari Negara Mesir. Pengambilan sampel dilakukan saat bagian bawah jintan hitam mulai kering dan kulit bijinya sudah kekuningan. Pemanenan dilakukan dengan cara memotong bagian bawah tanaman dan mengikatnya. Hasil panen dikeringkan dan dibolak-balik sehingga bijinya rontok. Biji yang telah keluar dari cangkang (kulit) tersebut diayak agar terpisah dari bahan lain, kemudian dilakukan ekstraksi berupa maserasi.

2.3. Ekstraksi Sampel

Sampel jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang telah kering ditimbang sebanyak 1000 g dimasukkan ke dalam wadah maserasi, kemudian dituangi dengan pelarut n-Heksan. Wadah maserasi ditutup dan disimpan selama 24 jam di tempat yang gelap sambil sesekali diaduk. Selanjutnya disaring,

dipisahkan antara ampas dan filtrat. Ampas diekstraksi kembali dengan pelarut n-Heksan. Hal ini dilakukan selama 3 x 24 jam. Kemudian dilakukan hal yang sama selama 3 x 24 jam dengan pelarut etanol 70%. Metode yang digunakan adalah maserasi bertingkat. Filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diuapkan dengan menggunakan rotavapor hingga diperoleh ekstrak yang kental. Ekstrak kemudian diuji efek antiinflamasinya terhadap mencit (*Mus musculus*).

2.4. Pembuatan suspensi albumin

Suspensi albumin 1% dibuat dengan melarutkan 1 ml albumin (putih telur) hingga volume akhir 100 ml air.

2.5. Pembuatan Larutan Koloida Na. CMC 1%

Pembuatan larutan koloida Na. CMC 1% dibuat dengan menimbang 1 g serbuk Na. CMC, dan dilarutkan dalam air hingga volume 100 ml

2.6. Pembuatan suspensi Na. Diklofenak

Suspensi Na. Diklofenak dibuat dengan menimbang 20 mg tablet Na. Diklofenak yang telah digerus, lalu disuspensikan dengan Na. CMC 1% hingga volume akhir 100 ml.

2.7. Penyiapan Hewan Uji

Mencit dipuasakan 8 jam sebelum pelaksanaan percobaan dimulai. Kemudian pada hari pengujian, hewan uji yaitu mencit ditimbang dan dikelompokkan secara acak, yaitu kelompok suspensi Na. CMC, kelompok suspensi obat, dan kelompok uji, yang masing-masing kelompok terdiri dari tiga ekor. Dan diberi tanda pada batas pengukuran di tumit kaki kiri mencit. Kemudian telapak kaki semua mencit disuntik secara subplantar dengan albumin 1 % sebanyak 0,1 ml, yang sebelumnya kaki mencit dibersihkan dengan etanol 70%.

Setelah satu jam, masing-masing suspensi ekstrak etanol dan ekstrak n-Heksan biji jintan hitam serta suspensi Na. CMC dan suspensi obat diberikan peroral pada mencit sesuai dengan kelompok perlakuannya, yaitu sebagai berikut:

Kelompok I : Suspensi Na. CMC dengan perlakuan pemberian peroral suspensi Na. CMC 1% sebanyak 1 ml.

Kelompok II : Diberi Perlakuan ekstrak biji jintan hitam peroral dengan dosis 1,2 g/kg BB.

Kelompok III : Diberi perlakuan ekstrak biji jintan hitam peroral dengan dosis 2,4 g/kg BB.

Kelompok IV : Diberi perlakuan ekstrak biji jintan hitam peroral dengan dosis 4,8 g/kg BB.

Kelompok V : Suspensi obat dengan perlakuan pemberian peroral Na. Diklofenak sebanyak dengan dosis 0,2 mg.

Kemudian diukur volume edema telapak kaki mencit setelah perlakuan pada waktu 0, 15, 30, 60, dan 120 menit. Volume edema ditentukan berdasarkan kenaikan volume air pada alat pengukur dengan cara mencelupkannya ke dalam alat pletysmometer sampai tanda batas pengukuran pada kaki mencit dan diamati kenaikan volume pada skala alat pengukur.

Adapun prinsip kerja dari pletysmometer adalah berdasarkan pada hukum *Archimedes* "Jika suatu benda dicelupkan ke dalam sesuatu zat cair, maka benda itu akan mendapat tekanan keatas yang sama besarnya dengan beratnya zat cair yang terdesak oleh benda tersebut". Dengan demikian besarnya volume kaki dari hewan coba dalam hal ini adalah mencit dapat

diamati dengan melihat kenaikan cairan pada skala pletysmometer ketika menerima tekanan dari air raksa ketika kaki mencit dicelupkan ke dalamnya.

2.8. Analisis Hasil

Hasil Pengujian efek antiinflamasi dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Efek antiinflamasi sampel dihitung dengan menggunakan metode RAL dan dilanjut dengan Uji Beda Jarak Nyata Duncan.

3. Hasil dan Pembahasan

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap luka jaringan yang disebabkan oleh trauma fisik, zat kimia yang merusak, atau zat-zat mikrobiologik. Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan, dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Inflamasi dicetuskan oleh pelepasan mediator kimiawi dari jaringan yang rusak dan migrasi sel (Mycek et al, 2001: 404).

Lima ciri khas inflamasi dikenal dengan tanda-tanda utama inflamasi, adalah kemerahan (eritema) terjadi akibat adanya sel darah merah yang terkumpul pada daerah cedera jaringan dan terjadinya dilatasi arteriol, panas (kolor), terjadi karena bertambahnya

pengumpulan darah dan dimungkinkan juga adanya pirogen (substansi yang menimbulkan demam) yang mengganggu pusat pengatur panas pada hipotalamus, pembengkakan (udema) akibat merembesnya plasma sel ke dalam jaringan intestinal pada tempat cedera, nyeri (dolor) terjadi karena pelepasan mediator-mediator nyeri (histamin, kinin, dan prostaglandin), dan terganggunya fungsi (function laesa) karena adanya gangguan nyeri dan penumpukan cairan sehingga mengurangi mobilitas pada daerah itu. Dua tahap inflamasi adalah tahap vaskuler yang terjadi 10-15 menit setelah terjadinya cedera dan tahap lambat. Tahap vaskuler berkaitan dengan vasodilatasi dan bertambahnya permeabilitas kapiler yang menyebabkan substansi darah dan cairan meninggalkan plasma dan pergi menuju ke tempat cedera. Tahap lambat terjadi ketika leukosit menginfiltrasi jaringan inflamasi (Bashori, 2008 : 12).

Biji jintan hitam merupakan tanaman yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat untuk berbagai macam penyakit, antara lain untuk peradangan. Salah satu kandungan kimia yang terkandung dalam tanaman biji jintan

hitam adalah flavonoid yang memberikan efek antiinflamasi. Efek tersebut disebabkan karena pengaruh efek flavonoid terhadap metabolisme asam arakidonat dan efek penghambatan siklooksigenase seperti prostaglandin dan tromboksan, sebagai mana diketahui bahwa prostaglandin didalam tubuh bertanggung jawab bagi sebagian besar gejala peradangan. Salah satu kandungan kimia dari biji jintan hitam adalah flavonoid.

Pada penelitian ini, prosedur yang dilakukan yaitu pembuatan ekstrak sampel biji jintan hitam, yang kemudian dilakukan pengujian ekstrak terhadap hewan coba, dalam hal ini yang digunakan adalah mencit. Penarikan senyawa flavonoid pada tanaman biji jintan hitam dilakukan dengan cara maserasi bertingkat kemudian ekstrak diuapkan hingga diperoleh ekstrak kering biji jintan hitam (Bashori, 2008: 9).

Pengujian antiinflamasi ekstrak biji jintan hitam dengan menggunakan hewan coba yaitu mencit secara oral. Mencit merupakan salah satu hewan yang dapat digunakan untuk pengujian daya antiinflamasi dengan menggunakan pemicu kimiawi sehingga

terbentuk udem sebagai salah satu gejala fisiologis terjadinya inflamasi. Induksi albumin pada telapak kaki mencit secara subplantar berguna membantu memberikan peradangan pada kaki mencit. Diukur volume awal kaki mencit dan agar nantinya dapat diketahui seberapa besar efek ekstrak biji jintan hitam secara oral dengan beberapa konsentrasi sebagai antiinflamasi dalam mengurangi peradangan pada kaki mencit yang telah diinduksi.

Induksi albumin menghasilkan radang pada kaki mencit dengan peningkatan radang rata-rata dari kelompok perlakuan pertama yaitu kelompok yang diberikan ekstrak etanol biji jintan hitam 1,2 g/kg BB memiliki rata-rata penurunan radang sebesar 20,83%, untuk kelompok yang diberikan ekstrak etanol biji jintan hitam 2,4 g/kg BB memiliki rata-rata penurunan radang 22,22%, untuk kelompok yang diberikan ekstrak etanol biji jintan hitam 4,8 g/kg BB memiliki rata-rata penurunan radang 24,72%, untuk kontrol positif (Na. Diklofenak) memiliki rata penurunan radang sebesar 26,39%, dan untuk kontrol negatif (Na. CMC) memiliki rata-rata penurunan

radang yaitu 6,53%. Berdasarkan data rata-rata persentase penurunan radang diketahui bahwa terjadi penurunan radang pada kaki mencit, di mana semakin tinggi dosis ekstrak yang digunakan semakin besar pula tingkat penurunan radang pada kaki mencit.

Peningkatan radang rata-rata dari kelompok perlakuan kedua yaitu kelompok yang diberikan ekstrak n-Heksan biji jintan hitam sebanyak 1,2 g/kg BB memiliki rata-rata penurunan radang sebesar 17,5%, untuk kelompok yang diberikan ekstrak etanol biji jintan hitam 2,4 g/kg BB memiliki rata-rata penurunan radang 18,06%, untuk kelompok yang diberikan ekstrak etanol biji jintan hitam 4,8 g/kg BB memiliki rata-rata penurunan radang 23,33%, untuk kontrol positif (Na. Diklofenak) memiliki rata-rata penurunan radang sebesar 26,39%, dan untuk kontrol negatif yakni VCO memiliki rata-rata penurunan radang yaitu 7,5%. Berdasarkan data rata-rata persentase penurunan radang diketahui bahwa juga terjadi penurunan radang pada kaki mencit, di mana semakin tinggi dosis ekstrak yang digunakan semakin besar pula tingkat penurunan radang pada kaki mencit.

Tabel 1. Analisis Ragam dengan Nilai F Tabel Ekstrak Etanol

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	6501,62	1625,41	9,13**	2,54	2,68
Galat	55	9788,89	177,98			
Total	59	16290,5				

Tabel 2. Analisis Ragam dengan Nilai F Tabel Ekstrak n-Heksan

Sumber Keragaman	DB	JK	KT	F Hitung	F Tabel	
					5%	1%
Perlakuan	4	13995,19	3498,8	70,35**	2,54	2,68
Galat	55	2735,19	49,73			
Total	59	16730,37				

FH > FT 5%,1%

** : sangat signifikan

* : signifikan

Pengaruh perlakuan pada hewan coba dengan pemberian sampel ekstrak selama 120 menit, dapat dilihat dari analisis statistik Rancangan Acak Lengkap (RAL) dimana F hitung > F tabel pada taraf kepercayaan 5% dan 1%, ini berarti terdapat perbedaan yang nyata terhadap penurunan radang dari pemberian setiap dosis sampel ekstrak. Dari hasil analisis statistika, juga diperoleh koefisien keseragaman (KK) sebesar 66,24% untuk ekstrak etanol dan 38,005% untuk ekstar n-Heksan sehingga dengan nilai KK sebesar ini

maka dilanjutkan dengan Uji Duncan. Uji Duncan dilanjutkan dengan maksud melihat lebih jelas letak perbandingan antara 3 dosis ekstrak biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yaitu 1,2 g/kg BB, 2,4 g/kg BB, 4,8 g/kg BB, dengan kontrol positif Na. Diklofenak serta kontrol negatif yaitu koloidal Na. CMC 1% untuk ekstrak etanol dan VCO untuk ekstrak n-Heksan sehingga penurunan radang pada mencit lebih mudah diamati.

Dari uji lanjutan Duncan dapat disimpulkan bahwa konsentrasi pada ekstrak etanol biji jintan hitam dan ekstrak n-Heksan biji jintan hitam dapat menurunkan peradangan pada mencit. Hal ini dapat dilihat dari tabel yang mana apabila dibandingkan antara ekstrak etanol biji jintan hitam 4,8 g/kg BB dengan kontrol positif Na. Diklofenak, menunjukkan perbedaan yang signifikan diantara keduanya, artinya ada perbedaan yang signifikan antara efek ekstrak etanol biji jintan hitam dengan dosis 4,8 g/kg BB jika dibandingkan dengan Na. Diklofenak. Begitu juga pada tabel uji lanjutan Duncan untuk ekstrak n-Heksan biji jintan hitam apabila dibandingkan antara ekstrak n-Heksan biji jintan

hitam 4,8 g/kg BB dengan Na. diklofenak menunjukkan perbedaan yang signifikan antara keduanya, artinya bahwa ada perbedaan yang signifikan antara efek ekstrak etanol biji jintan hitam dengan dosis 4,8 g/kg BB jika dibandingkan dengan Na. Diklofenak.

Efek antiinflamasi yang ditunjukkan oleh ekstrak biji jintan hitam dapat diketahui karena terjadinya penurunan radang setelah pemberian ekstrak, karena dilihat dari kandungan kimia yang terkandung dalam biji jintan hitam yaitu flavonoid, dimana flavonoid merupakan salah satu senyawa yang dapat berefek sebagai antiinflamasi. Mekanisme antiinflamasi yang dilakukan oleh flavonoid dapat melalui beberapa jalur yaitu penghambatan siklooksigenase yang merupakan langkah pertama pada jalur sintesis hormon eikosanoid seperti prostaglandin dan tromboksan. Didalam tubuh prostaglandin bertanggung jawab bagi sebagian besar gejala peradangan.

Kemudian melalui penghambatan akumulasi leukosit. Efek antiinflamasi flavonoid dapat disebabkan oleh aksinya dalam menghambat akumulasi leukosit di daerah inflamasi. Pada

kondisi normal leukosit bergerak bebas sepanjang dinding endotel. Selama inflamasi, berbagai mediator turunan endotel dan faktor komplemen mungkin menyebabkan adhesi leukosit ke dinding endotel sehingga menyebabkan leukosit menjadi immobil. Dan dengan pemberian flavonoid dapat menurunkan adhesi leukosit ke endotel dan mengakibatkan penurunan respon inflamasi tubuh.

Selanjutnya adalah dengan penghambatan pelepasan histamin. Efek antiinflamasi flavonoid didukung oleh aksinya sebagai antihistamin. Histamin adalah salah satu mediator inflamasi yang pelepasannya distimulasi oleh pemompaan kalsium ke dalam sel. Flavonoid dapat menghambat pelepasan histamin dari sel mast. Namun mekanismenya yang tepat belum diketahui. (Listyawati, 2005: 7).

Penelitian ini mengingatkan kita tentang adanya tanda-tanda kekuasaan Allah dalam dunia tumbuh-tumbuhan yang memang penuh dengan tanda-tanda yang menunjukkan keagungan dan keperkasaan-Nya. Seperti pada hasil penelitian yang diperoleh membuktikan bahwa terdapat tanaman yang baik untuk dijadikan sebagai obat

yaitu tanaman biji jintan hitam yang dapat dijadikan sebagai obat radang atau sebagai antiinflamasi.

4. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian analisis data dan pembahasan dapat disimpulkan bahwa :

- a. Ekstrak etanol biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan ekstrak n-Heksan biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dapat memberikan efek sebagai anti inflamasi.
- b. Kosentrasi ekstrak etanol biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) dan ekstrak n-Heksan biji jintan hitam (*Nigella sativa* L.) yang memberikan efek anti inflamasi paling baik dari ketiga ragam dosis adalah 4,8 g/kg BB.

Kepustakaan

- Bashori, Yusuf. *Efek Antiinflamasi Ekstrak Etanol Daun Belimbing Wuluh (Averrhoa bilimbi Linn.) Pada Tikus Putih Jantan Galur Wista*. Surakarta : Universitas Muhammadiyah Surakarta. 2008.
- Ganiswarna, Sulistia G. *Farmakologi dan Terapi*, Ed 5. Jakarta : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran UI. 2007.
- Khomsan, Ali. *Rahasia Sehat dengan Makanan Berkhasiat*. PT Kompas Media Nusantara. Jakarta. 2009

Listyawati, shanti. *Kandungan Kimia dan Uji Antiinflamasi Ekstrak Etanol Lantana camara L. pada tikus Putih (Rattus norvegicus L) jantan.* Biologi FMIPA Universitas Sebelas Maret. Surakarta. 2005.

Machewad, G. Studies on Extraction of Safflower Pigments and its Utilization in Ice Cream. *Food Processing & Technology.* vol. 3 *Research Artikel.* 2012.

Malole, M.B.M dan Pramono,C. 94-100. *Penggunaan Hewan – Hewan Percobaan di Laboratorium.* Telaah oleh. Masduki Partadiredja. Bogor : Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi Pusat antar Universitas. 1989.