



Buletin V. 10

JURNAL BAHAN ALAM INDONESIA

USER

Username

Password

Remember me

JOURNAL
CONTENT

Search

All

Browse

- [By Issue](#)
- [By Author](#)
- [By Title](#)

CURRENT
ISSUE

ATOM 1.0

RSS 2.0

RSS 1.0

[HOME](#) [ABOUT](#) [LOG IN](#) [REGISTER](#)

[SEARCH](#) [CURRENT](#) [ARCHIVES](#)

[ANNOUNCEMENTS](#)

Home > Archives > **Vol 8, No 1 (2012)**

Vol 8, No 1 (2012)

Table of Contents

Articles

[ANTI-PROLIFERATION EFFECT OF
CREAMS CONTAINING TURMERIC](#)

[\(Curcuma domestica L.\) AND
TEMULAWAK \(Curcuma xanthorrhiza\)
EXTRACT ON UVB-IRRADIATED
EPIDERMAL CELLS OF MICE \(Mus
musculus\)](#)

*Aisyah Fatmawaty, Latifah Rahman,
Wahyu Hendrarti, Muhammad
Aswad, Abd Halim Umar, Gemini
Alam*

[PDF](#)

[PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK
ETANOL BIJI KLABET \(Trigonella foenum-
graecum L.\) TERHADAP
KARSINOGENESIS PADA TIKUS Sprague-
Dawley BETINA YANG DIINDUKSI DMBA
\(7,12-dimetilbenz\(a\)antrasena\)](#)

*Kurnia Agustini, Frans Suyatna,
Nurjati Chairani Siregar, Wahono
Sumaryono*

[PDF](#)

[TELAAH METABOLIT SEKUNDER KULTUR
KALUS ARTEMISIA ANNUA L.](#)

*Komar Ruslan Wirasutisna, Rika
Hartati, . Elfahmi, Irda Fidrianny*

[PDF](#)

[VALIDASI METODE ANALISIS KURKUMIN
DALAM PLASMA IN VITRO SECARA
KROMATOGRAFI CAIR KINERJA TINGGI](#)

*Yahdiana Harahap, Maryati Kurniadi,
Loedfiasti Alawiyah*

[PDF](#)

[ISOLASI DAN IDENTIFIKASI FRAKSI
TERAKTIF DARI FRAKSI KLOOROFORM
KULIT BATANG BAKAU MERAH \(Bruquiera
gymnorrhiza\) DAN AKTIVITAS
SITOTOKSIKNYA](#)

*. Warsinah, . Sismindari, Ratna
Asmah Susidarti*

[PDF](#)

[ISOLASI BAKTERI ENDOFIT DARI
TUMBUHAN SURIAN \(Toona sureni Blume
Merr.\) YANG BERPOTENSI SEBAGAI
PENGHASIL ANTIBAKTERI](#)

*Akmal Djamaan, Anthoni Agustien,
Desma Yuni*

[PDF](#)

[STANDARDISASI FRAKSI ETIL ASETAT
HERBA SAMBILOTO \(Andrographis
paniculata Nees\)](#)

*Idah Rosidah, Wahono Sumaryono,
Silvia Surini*

[PDF](#)

FONT SIZE

[Journal Help](#)

NOTIFICATIONS

- [View](#)
- [Subscribe /](#)
[Unsubscribe](#)

INFORMATION

- [For Readers](#)
- [For Authors](#)
- [For](#)
[Librarians](#)

PHYTOCHEMISTRY, TOXICITY AND
ANTIOXIDANT ACTIVITIES OF Kalanchoe
pinnata (LAM.) PERS. LEAVES EXTRACTS

[PDF](#)

*. Megawati, A Darmawan, Sofa
Fajriah, Lia Meilawati*

SKRINING TOKSISITAS DAN UJI
AKTIVITAS ANTI OKSIDAN SENYAWA
TURUNAN FLAVONOL ISOLAT DARI
FRAKSI ETILASETAT DAUN Brucea
javanica Merrill

[PDF](#)

. Megawati, Marissa Angelina

EVALUATION OF IN VITRO
ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY OF
Eupatorium riparium Reg. LEAVES
BENZENE EXTRACT AGAINST 293A AND
HCT-116 CANCER CELL LINE

[PDF](#)

*Linus Yhani Chrystomo, Aditya
Krishar Karim, Kumiko Terada,
Tutomu Nohno*

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70%
Barleria lupulina Lindl DAN KOMBINASI
LATIHAN FISIK PADA MENCIT YANG
DIINDUKSI DEKSAMETASON

[PDF](#)

*Retno Widyowati, Marta Ika Riyana,
Hening Laswati Putra, Mangestuti
Agil*

PEMBERIAN EKSTRAK ASETON Padina
australis SEBAGAI ANTIBAKTERI ALAMI
DALAM PENGOBATAN IKAN KERAPU
TIKUS (Cromileptus altivelis) YANG
TERINFEKSI Vibrio alginolyticus.

[PDF](#)

Yuliana Salosso

ISSN: 1414-2855

EFEK PEMBERIAN EKSTRAK ETANOL 70% *Barleria lupulina* Lindl DAN KOMBINASI LATIHAN FISIK PADA MENCIT YANG DIINDUKSI DEKSAMETASON

(The Effect of 70% Ethanolic Extract of *Barleria lupulina* Lindl with Exercise Combination on Mice Dexamethasone Induced)

Retno Widyowati,^{1*} Marta Ika Riyana¹, Hening Laswati Putra², Mangestuti Agil¹

¹Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, Airlangga University,

²Department Physical and Rehabilitation, Faculty of Medicine, Airlangga University

Abstrak

Barleria lupulina Lindl merupakan salah satu tumbuhan obat Indonesia yang mengandung senyawa glikosida iridoid, fenilpropanoid, lignin and benzil alkohol. Tanaman ini secara etnobotani digunakan untuk mengobati penyakit diabetes, peradangan, rematik and osteoporosis. Berdasarkan penelitian sebelumnya ekstrak etanol 70%, fraksi butanol dan fraksi air mampu meningkatkan aktivitas enzim alkalin fosfatase (marker dari sel osteoblas). Pada penelitian ini telah dilakukan uji aktivitas anti-osteoporosis ekstrak tersebut dan yang dikombinasi dengan latihan fisik pada mencit yang telah diinduksi dengan deksametason. Hasilnya menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mampu meningkatkan jumlah sel osteoblas dan kerapatan matriks tulang yang dapat dilihat secara morfologi. Kombinasi latihan fisik memberikan hasil peningkatan jumlah sel osteoblas yang paling tinggi.

Kata kunci: *Barleria lupulina* Lindl, sel osteoblas, kerapatan matriks tulang

Abstract

Barleria lupulina Lindl is one of Indonesia medicinal plants that contain iridoid, phenylpropanoid, lignin and benzyl alcohol glycoside. Traditionally it was used as antidiabetic, antiinflammatory, antirheumatic and antiosteoporosis. Based on the preview study, the 70% ethanolic extract, buthanolic fraction and water fraction of *B. lupulina* stimulates alkaline phosphatase as marker of osteoblast cells (bone formation). In this research, study on the antiosteoporotic activity of 70% ethanolic extracts of *B. lupulina* and exercise combination on mice that induced by dexamethasone has been done. The result showed that 70% ethanolic extract of *B. lupulina* increase the number of osteoblast cells and rigidity of the bone matrix by morphology figure. The exercise combination showed the highest number of osteoblast cells.

Keynotes: *Barleria lupulina*, osteoblast cells, bone matrix

Naskah diterima tanggal 5 Januari 2012, disetujui untuk dimuat 17 Maret 2012

Alamat korespondensi: Department of Pharmacognosy and Phytochemistry, Faculty of Pharmacy, Airlangga University

PENDAHULUAN

Osteoporosis adalah penyakit tulang sistemik yang ditandai oleh penurunan densitas masa tulang dan perburukan mikroarsitektur tulang sehingga tulang menjadi rapuh dan mudah patah (1). Dengan meningkatnya usia harapan hidup, maka berbagai penyakit degeneratif dan metabolik, termasuk osteoporosis akan menjadi permasalahan muskuloskeletal yang memerlukan perhatian khusus, terutama di negara-negara berkembang. Sejak dicanangkannya *Bone Joint Decade* (BJD) 2000-2010 osteoporosis menjadi penting, karena selain termasuk dalam 5 besar masalah kelainan muskuloskeletal yang harus ditangani, juga kasusnya semakin meningkat sejalan dengan peningkatan jumlah usia tua (2). Pada umumnya pengobatan osteoporosis dibagi menjadi 2 bagian yaitu untuk menghambat hilangnya masa tulang (anti-resorpsi) dan meningkatkan masa tulang (formasi tulang) (3). Permasalahan terapi osteoporosis adalah kompleks karena jumlah penderita yang terdeteksi secara dini rendah akibat mahalnya biaya deteksi dini, pemeriksaan lanjutan dan obat-obatan untuk penyakit osteoporosis. Selain itu obat yang ada pun masih belum ada yang ideal karena masalah efikasi dan toleransi yang ditimbulkan oleh obat-obatan tersebut.

Dewasa ini pengobatan osteoporosis banyak dilakukan dengan menggunakan terapi anti-resorpsi, seperti golongan raloxifen (estrogen reseptor modulator), golongan bisfosfonat (alendranat, risedronat, ibandronat) dan kalsitonin. Meskipun mekanisme aksi dari masing-masing golongan ini berbeda, penghambatan sel osteoklas sebagai mediator dari resorpsi tulang merupakan tujuan akhir yang diinginkan (4), tetapi dikarenakan efek samping yang sering terjadi, banyak pasien yang menghentikan terapinya (5, 6, 7).

Upaya penanggulangan penyakit osteoporosis terus dilakukan terutama pencarian obat antiosteoporosis baru. Pada penelitian sebelumnya telah dilakukan skrining dari 32 tanaman Indonesia terhadap aktivitas dari alkalin fosfatase (ALP) sebagai marker dari diferensiasi osteoblas dan diperoleh hasil bahwa ekstrak etanol 70% *Barleria lupulina* Lindl, *Graptophyllum pictum* (L) Griff, dan *Spilanthes acmella* Murr menstimulasi aktivitas enzim alkalin fosfatase sebesar 139%, 128% dan 169% (8). ALP mengkatalis ester monofosfat yang berada di dalam membran plasma menjadi *phosphatidyl-glycolipid anchor* yang akan mempengaruhi proses pembentukan masa tulang kembali (9).

Ekstrak etanol 70% dari *B. lupulina* berpotensi digunakan

untuk pengobatan osteoporosis karena mampu meningkatkan pembentukan masa tulang dengan menstimulasi aktivitas enzim alkalin fosfatase (8), namun sejauh ini belum ada laporan tentang uji aktivitas antiosteoporosis *in vivo* ekstrak, fraksi dan senyawa yang terkandung di dalamnya yang disertai dengan kombinasi latihan fisik untuk menghambat peningkatan ketidak seimbangan remodeling tulang. Dengan diketahuinya efek-efek tersebut dari tanaman ini, diharapkan dapat mengungkap potensi *B. lupulina* sebagai obat untuk penyakit osteoporosis baik melalui peningkatan pembentukan masa tulang (formasi tulang) maupun melalui penghambatan masa tulang (anti-resorpsi) sehingga *remodeling* tulang dalam tubuh dapat berjalan semestinya.

METODE

Bahan

B. lupulina diperoleh dari Kebun Raya, Purwodadi. Bahan kimia yang digunakan pada penelitian ini berderajat pro-analisis. Hewan coba yang digunakan adalah mencit betina *Mus musculus* IRC yang diperoleh dari Laboratorium Hewan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga yang tidak bersiklus. Bahan pemeriksaan untuk histokimia diperoleh dari Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga.

Ekstraksi dengan pelarut etanol 70%

Sebanyak 50 g serbuk seluruh bagian termasuk akar *B. lupulina* Lindl diekstraksi dengan 100 ml etanol 70% (3x) dengan metode maserasi selama 2 jam. Kemudian ekstrak etanol diuapkan dengan rotavapor dan diperoleh ekstrak kental etanol 70% dan dikeringkan dengan menggunakan *freeze dryer*. Ekstrak yang sudah kering ditimbang beratnya dan disimpan dalam eksikator. Terhadap ekstrak tersebut dilakukan uji aktivitas anti-osteoporosis *in vivo* yang disertai dengan kombinasi latihan fisik

Induksi deksametason

Terhadap mencit betina dilakukan induksi deksametason (0,00644 mg/20 GBB) secara oral 1 x sehari selama kurang lebih 1 bulan untuk diperoleh mencit dalam kondisi osteoporosis. Sediaan tersebut dibuat dengan melarutkan deksametason dalam larutan CMC-Na yang didispersikan dalam airsuling.

Pemeriksaan Ulas Vagina

Terhadap masing-masing mencit yang telah mendapatkan deksametason dilakukan pemeriksaan ulas vagina, yaitu membersihkan vulva mencit dengan menggunakan air suling, membasahi *cotton swab* dengan air dan hisap air dengan pipet, masukkan kembali *cotton swab* dan diputar secara halus dalam lubang vagina tersebut. *Cotton swab* dikeluarkan dan dioleskan dipermukaan gelas obyek, air diteteskan ke permukaan gelas obyek, membilas gelas obyek dengan air secara perlahan-lahan dan meneteskan giemsa secara merata pada gelas obyek, kemudian diamkan kurang lebih 2-3 menit dan mengamati preparat tersebut di bawah mikroskop dengan pembesaran 400.

Mencit betina menopause adalah mencit betina *Mus musculus* galur Swiss yang sudah tidak bersiklus, tidak melalui fase proestrus, estrus, metestrus dan diestrus, yang diketahui dengan pemeriksaan ulas vagina mencit 3 x berturut-turut setiap 12 jam dan diamati dibawah mikroskop dengan pembesaran 1000 x. Fase menopause ditandai gambaran sel basal dan parabasal yang menetap setelah pemeriksaan berturut-turut 3 x sctiap 2 x sehari.

Selain dengan kondisi menopause diamati dengan melakukan pemeriksaan ulas vagina, juga dapat ditandai

dengan membungkuknya bagian tengkuk dari mencit. Hal ini merupakan indikasi dari mencit yang telah mengalami osteoporosis.

Uji Aktivitas Ekstrak etanol 70% *B. lupulina* Lindl gabungan dengan Latihan Fisik

Setelah mencit mengalami pengeroposan tulang karena diinduksi oleh deksametason, mencit dikelompokkan dengan metode randomisasi menjadi empat kelompok. Tujuan randomisasi adalah untuk mengurangi variasi berat badan mencit pada saat perlakuan, yaitu :

Kelompok kontrol (-) : 7 ekor mencit masing-masing diberikan secara oral suspensi CMC-Na

Kelompok kontrol (+) : 7 ekor mencit masing-masing diberikan secara oral suspensi aledronat (0,182 mg/20 gBB per hari selama 1 bulan)

Kelompok uji I : 7 ekor mencit masing-masing disuntikkan ekstrak etanol 70% *B. lupulina* Lindl (4,14 mg/20 gBB per hari selama 1 bulan)

Kelompok uji II : 7 ekor mencit masing-masing disuntikkan ekstrak etanol 70% *B. lupulina* Lindl (4,14 mg/20 gBB per hari selama 1 bulan) dengan disertai latihan fisik

Pada kelompok uji II, dilakukan latihan fisik dengan pembebanan aksial merupakan latihan berjalan dengan menggunakan sarana treadmill untuk mencit tanpa elevasi dengan progresivitas intensitas yaitu:

Minggu I didahului 15 menit dengan kecepatan 7 m/menit, dilanjutkan 30 menit dengan kecepatan 11 m/menit dan diakhiri 15 menit dengan kecepatan 7 m/menit
Minggu II didahului 10 menit dengan kecepatan 7 m/menit, 40 menit dengan kecepatan 11 m/menit dan diakhiri 10 menit dengan kecepatan 7 m/menit.

Minggu III dan IV intensitas latihan dinaikkan menjadi 5 menit dengan kecepatan 7 m/menit, diikuti 50 menit dengan kecepatan 11 m/menit dan diakhiri 5 menit dengan kecepatan 7 m/menit.

Perlakuan latihan ini diberikan dengan frekuensi 3 x seminggu selama 4 minggu.

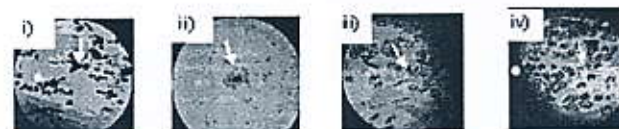
HASIL DAN PEMBAHASAN

Ekstraksi Simplisia *B. lupulina*

Dari 50 g simplisia *B. lupulina* dimaserasi dengan menggunakan etanol 70% sebanyak 300 ml, dan diperoleh ekstrak etanol 70% sebanyak 5,0 g.

Pengukuran Berat Badan Mencit

Sebelum dan saat dilakukan perlakuan, kondisi berat badan mencit harus tetap diperhatikan untuk memantau pengaruh perlakuan terhadap kondisi secara fisik dari mencit. Berdasarkan hasil pengamatan terlihat bahwa kondisi

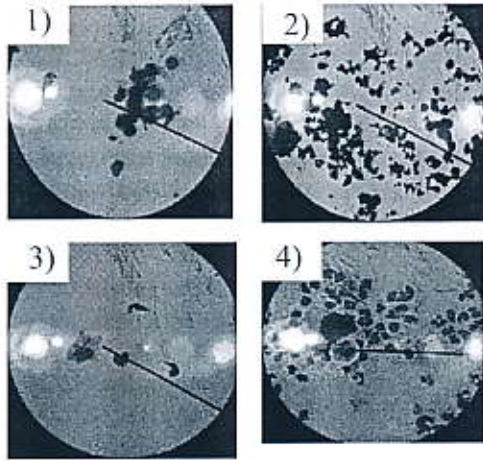


Gambar 1. Hasil Pengamatan Ulas Vagina Pada Minggu ke-3, i) kontrol: proestrus; ii) estrus; iii) metestrus dan iv) diestrus

berat badan mencit cenderung menurun dibandingkan sebelum dilakukan perlakuan.

Pengamatan Hasil Ulas Vagina

Dalam penelitian ini dibutuhkan mencit dalam kondisi menopause karena secara beriringan kondisi tersebut dapat menyebabkan pengeroposan pada tulang (osteoporosis). Pemberian deksametason terhadap mencit selama 1 bulan



Gambar 2. Hasil Pengamatan Ulas Vagina Pada Minggu ke-5, i) kontrol: proestrus; ii) diestrus; iii) estrus; iv) metestrus

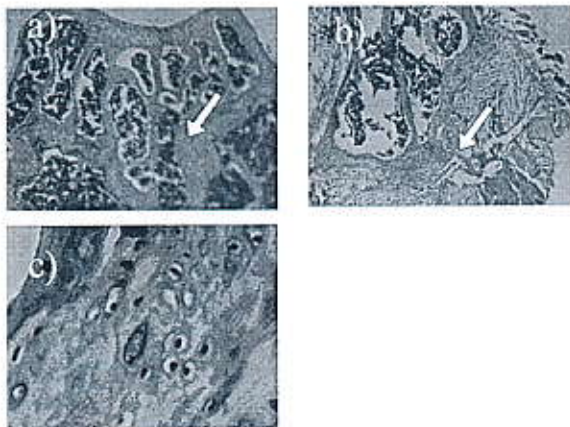
dapat menyebabkan terjadinya menopause dan pengeroposan tulang dengan ditandai pembungkukan pada bagian tengkuk.

Hasil pengamatan ulas vagina mencit yang diberi perlakuan deksametason pada minggu ke-3 dapat dilihat pada Gambar 1. Dari gambar tersebut terlihat bahwa sebagian mencit mengalami siklus estrus. Untuk melihat perkembangan lebih lanjut dari siklus hormon dalam mencit, pada penelitian ini kami dicoba untuk meneruskan pemberian deksametason sampai dengan minggu ke-5.

Dari hasil pengamatan ulas vagina yang diperoleh pada gambar 2 hampir semua mencit berada pada siklus estrus dan ada 1 ekor mencit yang mati setelah mengalami fase diestrus. Pada awal sebelum kematiannya, mencit tersebut mengalami kebengkokan pada tulang belakang. Oleh karena itu diambil kesimpulan bahwa mencit sudah memasuki masa menopause dan perlakuan terhadap sampel mulai dilakukan.

Hasil Uji Aktivitas Ekstrak Etanol 70% dari tanaman landik (*B. lupulina*) dalam Menghambat Peningkatan Remodeling Tulang yang Disertai Latihan Fisik

Hasil pengamatan morfologi tulang femur
Kontrol negatif

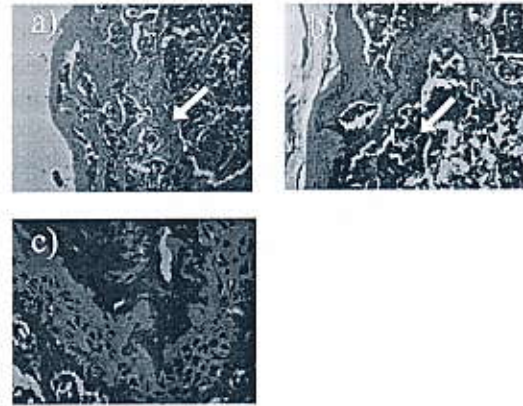


Gambar 3. Morfologi tulang femur kelompok kontrol negatif: a) dan b) matriks tulang pembesaran 100x dan 400x , c) sel osteoblas

Kemudian dilakukan perlakuan dengan memberikan ekstrak etanol 70% *B. lupulina* baik yang disertai latihan fisik ataupun tidak selama 30 hari. Setelah 30 hari, dilakukan pembedahan tulang femur mencit dan kemudian terhadap tulang tersebut dilakukan dekalsifikasi dan staining untuk mempermudah pengamatan morfologi tulangnya (kerapatan tulang dan sel osteoblas).

Secara morfologi tulang femur mencit kelompok kontrol

Kontrol positif



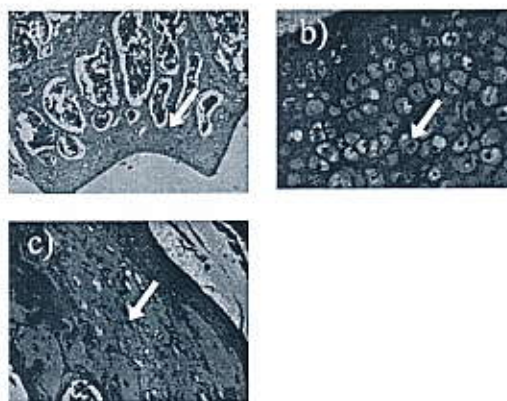
Gambar 4. Morfologi tulang femur kelompok kontrol positif: a) dan b) matriks tulang pembesaran 100x dan 400x, c) sel osteoblas

negatif mengalami pengeroposan tulang akibat pemberian deksametason selama 1 bulan. Dari gambar diatas terlihat bahwa jumlah sel osteoblas sangat sedikit bila dibandingkan dengan kelompok kontrol positif (Gambar 3c) sedangkan matriks tulang didalam tulang femur terdapat kerenggangan antar selnya (Gambar 3a dan 3b).

Kontrol positif

Pada kontrol positif, hewan coba (mencit) diberi perlakuan

Kelompok Uji I



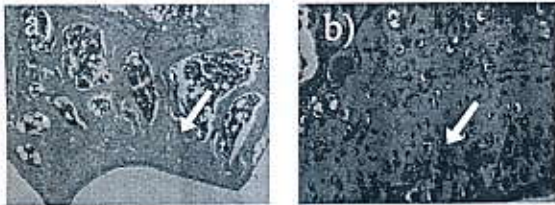
Gambar 5. Morfologi tulang femur kelompok uji I (ekstrak etanol 70% landik): a) matrik tulang, b) dan c) sel osteoblas pembesaran 400x dan 100x

dengan pemberian aledronate secara per-oral. Aledronat merupakan obat yang biasa digunakan pada pasien yang menderita osteoporosis. Secara morfologi matriks tulang femur pada kelompok kontrol positif ini tersusun sangat rapat (Gambar 4a dan 4b). Selain itu terlihat juga bahwa jumlah sel osteoblasnya lebih banyak bila dibandingkan dengan kontrol negatif (Gambar 4c).

Kelompok uji I merupakan kelompok uji dengan pemberian

ekstrak etanol 70% *B. lupulina* per oral yang pada penelitian sebelumnya diperoleh hasil mampu menstimulasi enzim alkaline fosfatase (marker dari sel osteoblas). Secara morfologi matriks tulang femur dari kelompok uji I ini tersusun secara rapat antar selnya (Gambar 5a). Bila

Kelompok Uji II



Gambar 6. Morfologi tulang femur kelompok uji II (ekstrak etanol 70% landik disertai treadmill latihan fisik), a) matriks tulang, dan b) sel osteoblas

dibandingkan dengan kontrol negatif maka kelompok uji I ini mempunyai susunan yang lebih rapat, selain itu sel osteoblas juga terlihat jumlahnya banyak dibandingkan dengan kontrol negatif (hampir sama dengan kontrol positif). Sehingga bisa disimpulkan bahwa ekstrak etanol 70% *B. lupulina* mampu meningkatkan kerapatan tulang dan jumlah sel osteoblas secara morfologi. Kelompok uji II adalah kelompok uji dengan pemberian ekstrak etanol 70% *B. lupulina* per oral yang disertai dengan latihan fisik pada treadmill. Secara morfologi matriks tulang femur dari kelompok uji ini tersusun sangat rapat antar selnya dan selain itu jumlah sel osteoblas dari kelompok ini juga meningkat dibandingkan dengan kontrol negatif. Berdasarkan Gambar 5 dan 6 secara visual bahwa jumlah sel osteoblas dari kelompok uji II lebih banyak dibandingkan dengan kelompok uji I. Jadi adanya tambahan latihan fisik memberikan dampak kerapatan pada matriks tulang dan meningkatkan jumlah sel osteoblas. Namun demikian untuk memperkuat hasil penelitian ini perlu dilakukan penghitungan jumlah sel osteoblas secara kuantitatif dan analisis secara statistik.

KESIMPULAN

Metode uji *in vivo* pada aktivitas anti-osteoporosis dilakukan dengan menginduksi mencit dengan deksametason sehingga mengakibatkan mencit memasuki siklus estrus dan tulang punggung menjadi bengkok. Hal

ini mengindikasikan kondisi tulang mencit telah mengalami pengeroposan (osteoporosis)

Pemberian ekstrak etanol 70% *B. lupulina* pada mencit memberikan gambaran kerapatan matriks tulang dan peningkatan jumlah osteoblas secara morfologi dibandingkan dengan kontrol negatif

Pemberian ekstrak etanol 70% *B. lupulina* yang disertai dengan kombinasi latihan fisik pada mencit juga memberikan gambaran kerapatan matriks tulang dan peningkatan jumlah osteoblas secara morfologi yang lebih besar dibandingkan tanpa pemberian latihan fisik.

DAFTAR RUJUKAN

- Jennifer JW. 2008. *Methods in Molecular Biology: Osteoporosis Methods and Protocol*, Human Press.
- Irwan M. 2008. *Osteoporosis*, Fakultas Kedokteran Universitas Riau, RSUD Arifin Achmad Pekanbaru.
- NIH. 2001. Consensus Development Panel on Osteoporosis Prevention, Diagnosis and Therapy: Osteoporosis prevention, diagnosis and therapy. *Journal of American Medical Association* 285: 785-795.
- Fleisch H. 1998. Bisphosphonate: Mechanism of action. *Endocrine Reviews* 19: 80-100.
- Mashiba T, Mori S, Burr DB, Komatsubara S, Cao Y, Manabe T. 2005. The effects of suppress bone remodeling by bisphosphonates on microdamage accumulation and degree of mineralization in the cortical bone of dog rib. *Journal of Bone Mineral and Metabolism* 23: 36-42.
- Whyte MP, Wenkert D, Clements KL, McAlister WH, Mumm S. 2003. Bisphosphonate-induced osteopetrosis. *The New England Journal of Medicine* 349: 457-463.
- Woo SB, Hellstein JW, Kalmar JR. 2006. Systematic review: Bisphosphonates and osteonecrosis of the jaws. *Annals of Internal Medicine*. 144: 753-761.
- Retno W. 2009. Chemical Constituents of *Barleria lupulina* and Their Alkaline Phosphatase Stimulatory Activity. Thesis, University of Toyama, Japan.
- Franceschi RT, Young J. 1990. Regulation of Alkaline Phosphatase by 1,25-dihydroxyvitamin D3 and Ascorbic acid in Bone-derived Cells. *Journal of Bone and Mineral Research* 5:1157-1167.