

AKTIVITAS ANTIDIABETES KOMBINASI EKSTRAK DAUN JERUK BALI DAN DAUN GEDI MERAH PADA TIKUS DIINDUKSI STREPTOZOTOCIN

Yunlis Silintowe Kenta, Mirawati, Joni Tandi

Prodi S1 Farmasi, STIFA Pelita Mas, Palu, Sulawesi Tengah

Email: stifapelitamaspalu@yahoo.co.id

ABSTRACT

Pomelo leaf and red gedi leaf have proven to be efficacious as antidiabetic. This research aims to know the activity of a combination extract of pomelo leaf and red gedi leaf and determine effective dose combinations as antidiabetic. Rat divided into 7 groups and given induction of streptozotocin, except the normal group. Group 1 (normal), group 2 (negative), group 3 (positive), group 4 as a single I (extract of pomelo leaf 250 mg/kg BW), single 5 as Group II (extract of gedi red leaf 100 mg/kg BW), group 6 as a combination I (extract of pomelo leaf 250 mg/kg BW and red gedi leaf 100 mg/kg BW), and the Group of 7 as a combination II (extracts of pomelo leaf 125 mg/kg BW and red gedi leaf 50 mg/kg BW). Blood glucose levels of rats were taken today to -14.21 and 28. A decrease in blood glucose levels were analyzed using one way ANOVA test of confidence level 95% ($p < 0.05$) and advanced test Duncan. The results showed a combination II (pomelo leaf 125 mg/kg BW and red gedi leaf 50 mg/kg BW) can lower blood glucose levels induced rat streptozotocin.

Keywords: *Citrus maxima* (Burm.) Merr, *Abelmoschus manihot* (L) Medik, Streptozotocin

ABSTRAK

Daun Jeruk Bali (DJB) dan Daun Gedi Merah (DGM) telah terbukti berkhasiat sebagai antidiabetes. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak daun jeruk bali dan daun gedi merah serta menentukan kombinasi dosis yang efektif sebagai antidiabetes. Tikus dibagi 7 kelompok dan diberikan induksi streptozotocin, kecuali kelompok normal. Kelompok 1 (normal), kelompok 2 (negatif), kelompok 3 (positif), kelompok 4 sebagai tunggal I (ekstrak daun jeruk bali 250 mg/kg BB), kelompok 5 sebagai tunggal II (ekstrak daun gedi merah 100 mg/kg BB), kelompok 6 sebagai kombinasi I (ekstrak daun jeruk bali 250 mg/kg BB & daun gedi merah 100 mg/kg BB), dan kelompok 7 sebagai kombinasi II (ekstrak daun jeruk bali 125 mg/kg BB & daun gedi merah 50 mg/kg BB). Kadar glukosa darah tikus diambil hari ke-14, 21 dan 28. Penurunan kadar glukosa darah dianalisis menggunakan uji *one way* ANOVA kepercayaan 95% ($p < 0,05$) dan uji lanjut Duncan. Hasil penelitian menunjukkan kombinasi II (daun jeruk bali 125 mg/kg BB dan daun gedi merah 50 mg/kg BB) dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus yang diinduksi streptozotocin.

Kata Kunci : *Citrus maxima* (Burm.) Merr, *Abelmoschus manihot* (L.) Medik, Streptozotocin

PENDAHULUAN

Diabetes melitus (DM) merupakan suatu kelompok penyakit metabolik yang ditandai dengan hiperglikemik yang terjadi karena kelainan sekresi insulin, kerja insulin, atau kedua-duanya.¹Kadar glukosa darah penderita diabetes melitus mengalami kenaikan melebihi batas normal, keadaan ini berhubungan dengan terjadinya gejala berupa gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein protein yang tidak normal dalam tubuh. DM disebabkan oleh menurunnya produksi hormon insulin oleh kelenjar pancreas. (Strayer, D ;Tanja S. 2010.)

Prevalensi DM terus meningkat, *World Health Organization* (WHO) memprediksikan penderita diabetes melitus di Indonesia pada tahun 2030 mencapai 21,3 juta jiwa.(*International Diabetes Federation* (IDF) mengungkapkan bahwa penderita diabetes melitus menempati urutan ke-7 di Indonesia dengan jumlah 8,5 juta.(*Internasional Diabetes Federation*. 2015.) Berdasarkan hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS), prevalensi diabetes yang terdiagnosis dokter yang tertinggi terdapat di Sulawesi Tengah 3,7%, kemudian diikuti oleh Sulawesi Utara 3,6%, Sulawesi Selatan 3,4%, dan Nusa Tenggara Timur 3,3%. (Anonim. 2013)

DM dapat dikendalikan dengan mengkonsumsi obat-obat antidiabetes oral, namun mengkonsumsi dalam jangka waktu lama dapat menimbulkan efek samping seperti hipoglikemik, kerusakan organ tubuh terutama ginjal dan hati. Sehubungan dengan itu, pemanfaatan bahan alam cenderung menjadi pilihan masyarakat.

Penelitian terdahulu yang dilakukan oleh Ruhayat (2015) menyatakan bahwa EDJB memiliki efek sebagai antidiabetes dengan dosis 250 mg/kg BB pada hari ke-10 pada tikus putih jantanDM tipe 2 yang diinduksi aloksan.Sabitha (2011) juga menyatakan EDGM dengan dosis 100 mg/kg BB efektif sebagai antidiabetes yang berlangsung selama 28 hari pada tikus putih jantan yang diinduksi streptozotocin.

Berdasarkan penelitian sebelumnya maka peneliti tertarik untuk menguji apakah kombinasi EDJB dan EDGM dapat menurunkan kadar glukosa darah tikus putih jantan yang diinduksi streptozotocin.

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas kombinasi ekstrak daun jeruk bali dan daun gedi merah dan menentukan kombinasi dosis yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah.

METODE PENELITIAN

Alat

Alat-alat kaca, ayakan mesh nomor 40, bejana maserasi, blender, Glukometer (*Easy Touch*), Glukotest strip test (*Easy Touch*), Rotavapor,Sonde oral, Spoit, Timbangan analitik, Timbangan hewan, *Waterbath*.

Bahan

Alkohol 70%, Amonium klorida,Asam sulfat, Aquadest, Citrate-buffer saline (*Natrium Sitrat, Asam Sitrat*), Daun jeruk bali, Daun gedi merah, Etanol 96%, FeCl₃, Glibenklamid,HCl 2 N, Magnesium, Metanol,Na CMC, Pakan standar (Pellet), Pereaksi Dragendrof, Streptozotocin.

Pembuatan larutan koloidal Na CMC

Natrium karbositimetil selulosa (Na CMC) 0,5 gram ditaburkan dalam lumpang

yang berisi 10 ml aquades yang telah dipanaskan didiamkan selama 15 menit. Larutan Na CMC dipindahkan ke dalam labu ukur 100 ml. Volumennya dicukupkan dengan aquades hingga 100 ml.

Pembuatan Suspensi Glibenklamid

Ditimbang serbuk tablet glibenklamid yang setara dengan 3,6 mg kemudian disuspensi dalam Na CMC 0,5% hingga 100 ml kemudian dikocok hingga homogen.

Pembuatan EDJB dan EDGM

Sebanyak 500 gram serbuk simplisia daun jeruk bali dan daun gedi merah diesktraksi dengan pelarut etanol 96% sebanyak 5 liter dan dimaserasi selama 3 hari. Serbuk simplisia dibagi dalam 2 bejana, masing-masing 500 gram dengan masing-masing pelarut etanol 96% 2,5 liter pada masing-masing bejana, ditutup, lalu dibiarkan selama 3 hari terlindung dari cahaya sambil sering diaduk, lalu disaring. Residunya diremaserasi dengan etanol dan disaring. Dipindahkan ke dalam bejana tertutup, dibiarkan di tempat sejuk terlindung dari cahaya selama 2 hari lalu disaring. Kemudian dirotavapor dengan suhu 60°C, dipekatkan di atas penangas air dengan suhu 40°C sehingga diperoleh ekstrak kental.

Pembuatan larutan Streptozotocin

Ditimbang streptozotocin 0,32 gram lalu dilarutkan menggunakan *citrate-buffer saline* dengan pH 4,5 lalu diinduksikan pada tikus melalui intraperitoneal (ip). Dosis streptozotocin yaitu 40 mg/kg BB.

Pengujian Aktivitas Kombinasi EDJB dan EDGM

Penelitian ini menggunakan 35 ekor tikus putih jantan yang dibagi menjadi 7

kelompok dan diadaptasikan selama 2 minggu dilingkungan tempat penelitian dan diberi pakan standar dan diberi minum. Pada hari ke-0 setelah adaptasi tikus dipuasakan selama 16 jam, kemudian dilakukan pengukuran kadar glukosa darah awal. Darah tikus diambil melalui ekor lalu diukur menggunakan alat pengukur glukosa darah (*Easy Touch*). Setelah diukur kadar glukosa darah awal, pada hari yang sama tikus kelompok 1 diberi pakan standar, kelompok 2, 3, 4, 5, 6, dan 7 diinjeksikan streptozotocin dengan dosis 40 mg/kg BB secara intraperitoneal. Saat injeksi tikus diposisikan menghadap ke arah frontal hingga terlihat bagian abdomennya. Pada bagian atas abdomen tikus disemprot dengan etanol 70%, kemudian kulit dicubit hingga terasa bagian ototnya, jarum dimasukkan pada bagian abdomen dan dicoba digerakkan, apabila terasa berat maka sudah masuk pada daerah intraperitoneal. Setelah yakin pada daerah intraperitoneal, maka streptozotocin segera dimasukkan secara perlahan. Selanjutnya abdomen tikus disemprot kembali dengan etanol 70%.

Kemudian ditunggu sampai 1 minggu. Setelah itu kadar glukosa darah diperiksa kembali. Hewan uji dibagi menjadi 7 kelompok dan diberikan perlakuan per oral, untuk kelompok 1 sebagai kontrol normal diberi pakan standar tanpa diinduksi dan diberi suspensi Na CMC 0,5%, Kelompok 2 sebagai kontrol negatif diberikan suspensi Na CMC 0,5%, Kelompok 3 sebagai kontrol positif diberikan suspensi glibenklamid, Kelompok 4 sebagai Tunggal I diberikan EDJB 250 mg/kg BB, Kelompok 5 sebagai

Tunggal II diberikan EDGM 100 mg/kg BB, kelompok 6 sebagai Kombinasi I diberikan EDJB 250 mg/kg BB dan EDGM 100 mg/kg BB, kelompok 7 sebagai Kombinasi II diberikan EDJB 125 mg/kg BB dan EDGM 50 mg/kg BB. Pengukuran kadar glukosa darah dilakukan padahari ke-14, hari ke-21 dan hari ke-28. Semua perlakuan diberikan secara oral selama 21 hari. Tikus dipuasakan terlebih dahulu selama 16 jam sebelum dilakukan pengukuran. Tujuannya yaitu untuk mengosongkan lambung tikus agar pada saat pemberian obat, tidak berinteraksi

dengan makanan yang ada di lambung tikus yang dapat mempengaruhi hasil penelitian.

Pengolahan Data

Data penurunan kadar glukosa darah dianalisis dengan uji statistik *one way* ANOVA taraf kepercayaan 95% dan uji lanjut *Duncan* untuk menentukan kombinasi dosis EDJB dan EDGM yang efektif sebagai antidiabetes terhadap penurunan kadar glukosa darah tikus. Pengolahan data dilakukan dengan menggunakan program *software* SPSS 21.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1 Uji Penapisan Fitokimia Ekstrak Daun Jeruk Bali dan Daun Gedi Merah

Senyawa Bioaktif	Pereaksi	Hasil DJB	Hasil DGM
Alkaloid	Dragendrof	+	+
Flavonoid	Magnesium dan HCl	+	+
Saponin	Tes Pembentukan Busa	+	+
Tanin	FeCl ₃	+	+
Polifenol	FeCl ₃	+	+

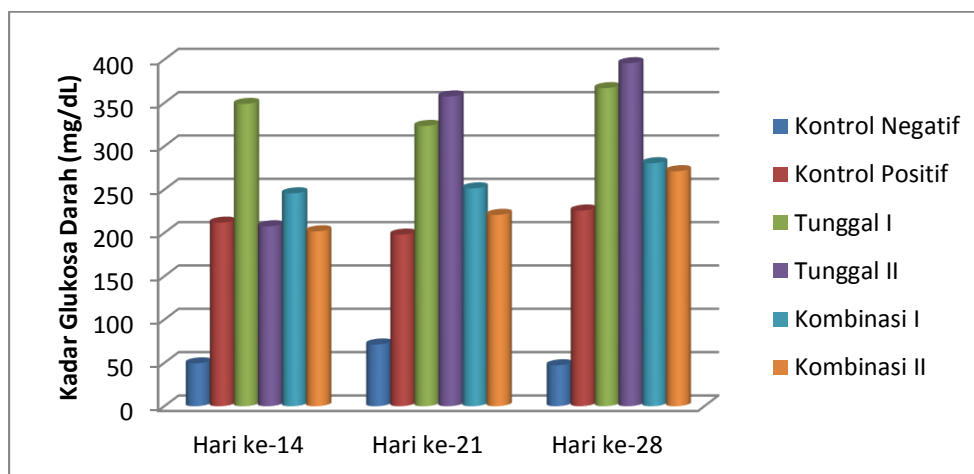
Ket : (+) = Mendeteksi adanya senyawa yang diuji

Tabel 2. Rerata Penurunan Kadar Glukosa Darah Tikus Hari ke-14, 21 dan 28

Kelompok	Rerata Selisih Kadar Glukosa Darah (mg/dL)		
	Hari Ke-14	Hari Ke-21	Hari Ke-28
Kontrol Negatif (Na CMC 0,5%)	49,4 ^a	71,2 ^a	47,2 ^a
Kontrol Positif (Glibenklamid)	211,8 ^b	198 ^b	225,8 ^b
Tunggal EDJB 250 mg/kg BB	348,8 ^c	323,4 ^{cd}	367 ^{cd}
Tunggal EDGM 100 mg/kg BB	207,6 ^b	357,4 ^d	395,8 ^d
Kombinasi I EDJB 250 mg/kg BB dan EDGM 100 mg/kg BB	245,6 ^b	251,4 ^{bcd}	280,4 ^{bc}
Kombinasi II EDJB 125 mg/kg BB dan EDGM 50 mg/kg BB	201,8 ^b	220,8 ^{bc}	271,2 ^{bc}

Ket: Abjad yang berbeda menunjukkan perbedaan yang signifikan

Abjad yang sama menunjukkan perbedaan yang tidak signifikan



Gambar 1. Profil Pengukuran Kadar Glukosa Darah Tikus Putih Jantan

PEMBAHASAN

Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui aktivitas antidiabetes kombinasi ekstrak daun jeruk bali dan daun gedi merah pada tikus putih jantan yang diinduksi streptozotocin. Bahan uji yang digunakan adalah daun jeruk bali (DJB) dan daun gedi merah (DGM). Metode ekstraksi yang digunakan dalam penelitian ini yaitu metode maserasi. Cairan penyari yang digunakan dalam proses maserasi ini adalah etanol 96%.

Penelitian ini menggunakan tikus putih jantan sebagai hewan uji, pemilihan tikus putih jantan karena tikus putih jantan memiliki metabolisme dan sistem pencernaan yang relative sama dengan manusia. Tikus putih jantan juga tidak memiliki siklus estrus sehingga tidak akan mengganggu proses penelitian.

Penelitian ini diawali dengan pengukuran kadar glukosa darah awal (hari ke-0) untuk mengetahui kadar glukosa normal tikus sebelum perlakuan. Hasil pengukuran kadar glukosa darah awal nilai rata-rata yang didapatkan adalah 74,6 mg/dL-103,6 mg/dL, kadar glukosa darah tersebut dinyatakan normal karena berada dalam range 50 mg/dL-135 mg/dL. Kemudian tikus diinduksi dengan streptozotocin kecuali kontrol normal. Tikus yang telah diinduksi diamati selama $\pm$ satu minggu, kemudian diukur kembali, apabila kadar glukosa darah melebihi 200 mg/dL maka tikus dinyatakan hiperglikemia. Tikus yang telah diinduksi mengalami kenaikan kadar glukosa darah dengan nilai rata-rata yang didapatkan 358,2 mg/dL-510,8 mg/dL.

Hal ini menunjukkan bahwa tikus telah mengalami hiperglikemia. Kemudian dilanjutkan dengan memberi perlakuan tiap-tiap kelompok selama 21 hari berturut-turut. Parameter yang diukur dalam penelitian ini adalah kadar glukosa darah sebelum dan sesudah induksi, yang diukur pada awal penelitian, setelah induksi streptozotocin, setelah perlakuan hari ke-14, 21 dan 28.

Berdasarkan pada uji paired sample t-test terhadap penurunan kadar glukosa darah kontrol normal diperoleh hasil tidak ada perbedaan yang signifikan pada kadar glukosa darah selama perlakuan. Hal ini disebabkan kelompok normal tidak diberi perlakuan dan hanya diberi suspensi Na-CMC 0,5% selama penelitian sehingga tidak mempengaruhi kadar glukosa darah pada saat pengukuran.

Pengujian statistik terhadap selisih penurunan kadar glukosa darah kelompok hewan uji pada hari ke-14 dilakukan dengan metode Anova satu arah (*one way Anova*). Berdasarkan hasil Anova satu arah memperlihatkan adanya perbedaan signifikan dengan hasil signifikan $p = 0,000$ ($p < 0,05$) (Lampiran 5). Hal ini menunjukkan adanya pengaruh perlakuan terhadap penurunan kadar glukosa darah. Pengujian dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk melihat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc Test* (Duncan) menunjukkan bahwa pada hari ke-14 kelompok tunggal I, kombinasi I dan Kombinasi II berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif namun berbeda signifikan dengan tunggal I dan kontrol

negatif. Hal ini membuktikan bahwa ekstrak daun jeruk bali dan daun gedi merah baik dalam ekstrak tunggal maupun kombinasi memberikan efek antidiabetes karena dapat menurunkan kadar glukosa darah akibat induksi streptozotocin. Dosis yang efektif yaitu dosis tunggal II dimana hasil statistiknya merupakan selisih terkecil yang mendekati kontrol positif. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa bioaktif yang terdapat pada ekstrak daun gedi merah seperti alkaloid, flavonoid, dan saponin sudah cukup kuat untuk menurunkan kadar glukosa darah. Namun efek penurunannya belum maksimal. Hal ini disebabkan obat bahan alam tidak dapat memberikan efek dengan cepat karena mekanisme kerja senyawa aktif seperti flavonoid yaitu memperbaiki atau meregenerasi sel-sel yang rusak akibat radikal bebas sehingga dibutuhkan waktu yang lama untuk menghasilkan efek yang maksimal.⁸ Ekstrak Tunggal daun jeruk bali mempunyai efek menurunkan kadar yang lebih besar atau lebih tinggi dibandingkan dengan perlakuan lainnya sehingga berpotensi menyebabkan terjadinya hipoglikemik.

Pengujian statistik terhadap selisih penurunan kadar glukosa darah kelompok hewan uji pada hari ke-21 memperlihatkan adanya perbedaan signifikan dengan hasil signifikan $p = 0,000$ ($p < 0,05$) (Lampiran 5). Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan (Lampiran 5). Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc Test* (Duncan) menunjukkan bahwa pada hari ke-21 kelompok kombinasi I dan kombinasi II berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif, namun

berbeda signifikan dengan tunggal I, tunggal II dan kontrol negatif. Dosis yang efektif yaitu kombinasi II dimana hasil statistiknya paling mendekati kontrol positif. Hasil ini menunjukkan bahwa perlakuan yang diberikan kombinasi ekstrak daun jeruk bali dan daun gedi merah memberikan efek penurunan kadar glukosa darah yang lebih baik dibandingkan dengan perlakuan pada hari ke-14 karena kandungan senyawa bioaktif yang semakin banyak seperti flavonoid, alkaloid, saponin dan tanin yang dapat meregenerasi sel beta pankreas, adanya perbaikan pada jaringan pankreas maka akan terjadi peningkatan jumlah insulin di dalam tubuh sehingga glukosa darah akan masuk ke dalam sel dan terjadi penurunan kadar glukosa darah dalam tubuh.⁹ Namun efek penurunannya belum mencapai keadaan normal sehingga perlakuan dilanjutkan 7 hari dan dilakukan pengukuran pada hari ke-28 untuk melihat efek maksimal penggunaan jangka panjang penggunaan obat bahan alam. Ekstrak tunggal daun gedi merah mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah yang lebih besar dibandingkan dengan perlakuan lainnya sehingga berpotensi menyebabkan terjadinya hipoglikemik.

Pengujian statistik kelompok hewan uji pada hari ke-28 memperlihatkan adanya perbedaan signifikan dengan hasil signifikan $p = 0,000$ ($p < 0,05$) (Lampiran 5). Pengujian dilanjutkan dengan uji lanjut Duncan untuk melihat perbedaan bermakna pada kelompok perlakuan. Berdasarkan hasil uji lanjut Duncan (Lampiran 5). Berdasarkan hasil analisis *Post Hoc Test*

(Duncan) menunjukkan bahwa pada hari ke-28 kelompok kombinasi I dan kombinasi II berbeda tidak signifikan dengan kontrol positif, namun berbeda signifikan dengan tunggal I, tunggal II dan kontrol negatif. Dosis yang efektif yaitu kombinasi II, dimana hasil statistiknya paling mendekati kontrol positif. Hal ini karena kandungan senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin polifenol dan tanin yang dapat meningkatkan penurunan kadar glukosa darah dengan cara meningkatkan aktivitas enzim antioksidan dan mampu meregenerasi sel-sel beta pankreas yang rusak sehingga defisiensi insulin dapat diatasi dan dapat memperbaiki sensitivitas reseptor insulin. (Suoth. 2013) Hal ini juga disebabkan pada sediaan kombinasi ekstrak terdapat kandungan multi zat aktif yang diduga memiliki kemiripan gugus aktif sehingga dapat berikatan dengan reseptor yang sama untuk menimbulkan efek sinergis maka kejenuhan reseptor lebih cepat dibandingkan ekstrak tunggal. Ekstrak tunggal daun gedi merah mempunyai efek menurunkan kadar glukosa darah yang lebih besar dibandingkan kelompok perlakuan lainnya sehingga penggunaan jangka panjang ditakutkan akan menyebabkan terjadinya hipoglikemik.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian maka dapat disimpulkan :

1. Ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) dan daun gedi merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik) baik tunggal maupun kombinasi dapat menurunkan kadar glukosa darah pada

tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) yang diinduksi streptozotocin.

2. Kombinasi II EDJB dan EDGM dengan dosis EDJB 125 mg/kg BB dan EDGM 50 mg/kg BB merupakan dosis yang efektif dalam menurunkan kadar glukosa darah

SARAN

Berdasarkan hasil penelitian maka disarankan untuk penelitian selanjutnya sebagai berikut :

1. Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan menggunakan ekstrak terpurifikasi kombinasi ekstrak daun jeruk bali (*Citrus maxima* (Burm.) Merr.) dan Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* (L.) Medik).
2. Perlu dilakukan uji histopatologi sel β pankreas untuk mengetahui kemampuan senyawa bioaktif dalam meregenerasi sel β pankreas.

DAFTAR PUSTAKA

- American Diabetes Association. 2011. *Diagnosis And Classification Of Diabetes Mellitus*. Diabetes Care Volume 34. Hal. S62-9
- Strayer, D ;Tanja S. 2010. *Diabetes Mellitus tipe 2*. Wilson Terrace, Glendale :Cinahl Information Systems. Hal. 3-5
- World Health Organization (WHO). (2013). *Type 2 diabetes practical targets and treatments*. International Diabetes Federation. Hal : 8
- Internasional Diabetes Federation. 2015. *IDF Diabetes Atlas*. Edisi 7. www.idf.org/diabetesatlas. Hal.13
- Anonim. 2013. "Hasil Riset Kesehatan Dasar". Kementrian Kesehatan, Indonesia. hal. 121-123
- Ruhyat NE. (2015). Uji Efektivitas Antidiabetes Ekstrak Etanol Daun Jeruk Bali (*Citrus maxima* (Burm) Merr) Terhadap Tikus Jantan (*Rattus norvegicus*) Diabetes Tipe 2. *Jurnal Fakultas Farmasi*. STIFA-PM.Palu. Hal. 2

- Sabitha V, et al. 2011. Antidiabetic and Antihyperlipidemic Potential of *Abelmoschus esculentus* (L.) Moench. in Streptozotocin Induced Diabetic Rats. *Journal*. Department of Pharmacology, KMCH College of Pharmacy Coimbatore, Tamil Nadu. India. Hal. 1-2
- Suoth. 2013. Evaluasi Kandungan Total Polifenol Dan Isolasi Senyawa Flavonoid Pada Daun Gedi Merah (*Abelmoschus manihot* L.). *Jurnal*. Jurusan Farmasi, Fakultas matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Kristen Indonesia. Tomohon. Hal. 86-91
- Sa'adah L. 2010. Isolasi dan Identifikasi Senyawa Tanin Dari Daun Belimbing Wuluh (*Averrhoa bilimbi* L.). *Skripsi*. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi. Universitas Negeri Islam Maulana Mhalik Ibrahim. Malang. Hal 31