

ANTI-INFLAMMATORY ACTIVITY AND CYCLOOXYGENASE-2 INHIBITION OF ETHANOL EXTRACT FROM MALUR LEAVES (*Brucea javanica* (L.) Merr)

UJI AKTIVITAS ANTI-INFLAMASI DAN DAYA HAMBAT SIKLOOKSIGENASE-2 EKSTRAK ETANOL DAUN MALUR (*Brucea javanica* (L.) Merr.)

Ifora^{1*)}, Diana Haryani¹⁾ Rahmad Abdillah²⁾

¹⁾Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi (STIFARM) Padang, Jln. Raya Siteba, 25147

²⁾Fakultas Farmasi Universitas Andalas, Jl. Limau Manis, Kec. Pauh, Kota Padang, Sumatera Barat. e-mail author : lforafo03@gmail.com

ABSTRACT

Inflammation is a normal protective response to tissue damage mediated by Cyclooxygenase-2 (COX-2) enzyme. This study aims to determine the anti-inflammatory activity ethanol extract of (*Brucea javanica* (L.) Merr.) and its inhibitory effect on COX-2 enzyme. The animals used in this study were white male rats which were divided into five groups, dose 250 mg/kg BB, dose 500 mg/kg BB, comparative control (*Celecoxib*), positive control and negative controls. Determining of anti-inflammatory activity was carried out by inducing the soles of the Rats with carrageen and then measuring the edema volume using a plethysmometer and measuring COX-2 inhibition using a microplate reader. The results showed that the ethanol extract of malur leaves doses 250 mg/kg BB and 500 mg/kg BB had significant anti-inflammatory activity ($p < 0.05$). The dose 500 mg/kg BB has a significant inhibitory effect on COX-2 ($p < 0.05$), but dose 250 mg/kg BB does not have a significant inhibitory effect on COX-2. The results of the study concluded that the ethanol extract of malur leaves has anti-inflammatory effects at doses 250 mg/kg BB and 500 mg/kg BB and inhibitory effect against COX-2 at a dose 500 mg/kg BB.

Keywords : *Brucea javanica*, Cyclooxygenase-2, Anti-inflammatory, Edema Volume

ABSTRAK

Inflamasi merupakan suatu respon protektif normal terhadap kerusakan jaringan yang dimediasi oleh enzim siklooksigenase-2 (COX-2). Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas antiinflamasi ekstrak etanol daun malur (*Brucea javanica* (L.) Merr.) dan daya hambatnya terhadap enzim COX-2. Hewan yang digunakan pada penelitian ini ialah tikus putih jantan yang dibagi menjadi lima kelompok yaitu dosis 250 mg/kg BB, dosis 500 mg/kg BB, pembandingan (*Celecoxib*), kontrol positif dan kontrol negatif. Pengujian aktivitas antiinflamasi dilakukan dengan cara menginduksi telapak kaki tikus dengan karagen kemudian diukur volume udemnya menggunakan plethysmometer dan pengukuran daya hambat COX-2 menggunakan *microplate readers*

Hasil uji analisis menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun malur dosis 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB memiliki aktivitas antiinflamasi secara signifikan ($p < 0,05$). Dosis 500 mg/kg BB memiliki daya hambat terhadap COX-2 secara signifikan ($p < 0,05$) sedangkan dosis 250 mg/kg BB tidak memiliki daya hambat terhadap COX-2 secara signifikan. Dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun malur memiliki efek antiinflamasi pada dosis 250 mg/kg BB dan 500 mg/kg BB dan daya hambat terhadap COX-2 pada dosis 500 mg/kg BB.

Kata kunci: *Brucea javanica*; Siklooksigenase-2; Anti-inflamasi; Volume Udem.

PENDAHULUAN

Salah satu tumbuhan obat Indonesia yang sering digunakan dalam pengobatan tradisional dan memiliki banyak potensi sebagai obat adalah tumbuhan malur (*Brucea javanica* (L.) Merr.), hampir semua bagian dari tumbuhan malur dapat dimanfaatkan sebagai obat. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Angelina (2011), daun malur mengandung beberapa senyawa kimia diantaranya alkaloid, glikosida, flavonoid, dan tannin. *Quassinoid* merupakan salah satu komponen aktif utama pada tumbuhan malur. Beberapa peneliti telah mengisolasi senyawa turunan *Quassinoid* seperti *Brucein A, B, C, D, E, F, G, H* dan *I* (Kim *et al.*, 2004).

Senyawa flavonoid dari daun malur diketahui memiliki potensi sebagai antikanker (Ismail *et al.*, 2012). Fraksi etil asetat dari daun malur terbukti memiliki aktivitas sebagai anti oksidan (Angelina, 2010). *Quassinoid* juga memiliki beberapa aktivitas sebagai antitumor, leukimia dan aktivitas antiinflamasi (Nakao *et al.*, 2009). Fraksi etil asetat dari biji *Brucea javanica* (L.) Merr. menunjukkan aktivitas antiinflamasi dengan memodulasi produksi NO, PGE2, TNF- α , TNF- β , IL-1 β , dan IL-6 mediator inflamasi (Yang *et al.*, 2013).

Inflamasi adalah usaha tubuh untuk menginaktivasi atau merusak organisme yang menyerang, menghilangkan zat iritan dan mengatur derajat perbaikan jaringan. Inflamasi dicetuskan oleh mediator kimia dari jaringan yang rusak dan migrasi sel (Mycek *et al.*, 2001). Salah satu mediator kimia yang dilepaskan ialah prostaglandin. Enzim pertama pada sintesis prostaglandin adalah asam lemak siklooksigenase. Sekarang ini diketahui ada 2 bentuk siklooksigenase, yaitu siklooksigenase-1 (COX-1) dan siklooksigenase-2 (COX-2) (Robert

et al., 2008). COX-1 bersifat konstitutif (selalu ada), yang terdapat di jaringan seperti di ginjal, paru-paru, platelet dan saluran cerna sedangkan COX-2 tidak terdapat di jaringan, tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang (Tjay & Rahardja, 2007).

Obat antiinflamasi yang beredar saat ini, seperti obat golongan Anti Inflamasi Non Steroid (AINS) sebagian besar mekanisme kerjanya berdasarkan hambatan sintesis prostaglandin dimana kedua jenis siklooksigenase diblokir. Dalam tingkat yang berbeda semua AINS (kecuali agen-agen COX-2) menghambat agregasi platelet dan juga menyebabkan iritasi lambung (Katzung, 2002). Atas dasar ini, penghambat COX-2 yang selektif telah dikembangkan dan dipasarkan dengan asumsi bahwa penghambat-penghambat selektif semacam itu akan lebih aman daripada penghambat-penghambat COX-1 yang non selektif tetapi tentunya tanpa kehilangan kemanjurannya (Katzung, 2002). Namun, obat-obat yang selektif COX-2 yang ada saat ini memiliki efek yang cukup berbahaya terhadap jantung sehingga dosis yang digunakan harus serendah mungkin untuk jangka waktu yang singkat (Tjay & Rahardja, 2007). COX-2 berperan besar dalam proses inflamasi, maka perlu dilakukan pencarian agen yang dapat mempengaruhi regulasi enzim COX-2 sebagai alternatif anti-inflamasi yang relatif aman penggunaan dan sedikit efek sampingannya.

METODE PENELITIAN

Alat

Microplate reader (Bio-Rad), Pletismometer, pipet mikro (Bio-Rad), plat mikrotiter timbangan hewan (Ohaus), timbangan analitik (Precisa), jarum suntik (Terumo), krus porselen, *rotary evaporator* (IKA), *microtube*, penangas air

(Memert), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-1800), lampu UV (Camag), sentrifus (Kubota), tabung sentrifus.

Bahan

Daun malur (*Brucea javanica* (L.) Merr.), tikus putih jantan, air suling (PT Brataco), karagen (Sigma Aldrich), etanol 95% (PT. Brataco), etanol 70% (PT. Brataco), natrium klorida fisiologis 0,9% (PT Otsuka), natrium karboksimetil selulosa (Na CMC) (PT. Brataco), *Celecoxib* (Pfizer), kloroform (Merck), amonia (Merck), asam sulfat pekat (Merck), asam klorida (Merck), feri klorida (Merck), makanan ternak Hi-Pro-Vite Medicated (PT Charoen Pokphand), Plat KLT Silika Gel 60 F₂₅₄ (Merck) dan *Prostaglandin Endoperoxide Synthase-2* ELISA kit (*Elabscience*).

Pembuatan Ekstrak

Pembuatan ekstrak etanol daun malur dibuat dengan cara maserasi serbuk simplisia sebanyak 201,586 gram kemudian dimaserasi menggunakan etanol 70% sebanyak 2 liter, direndam selama 6 jam sambil sesekali diaduk, kemudian diamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara penyaringan menggunakan kain flanel dan proses diulangi dua kali dengan jenis dan jumlah pelarut yang sama. Semua maserat dikumpulkan dan didestilasi, kemudian dipekatkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental (Kementerian Kesehatan Republik Indonesia, 2011).

Pembuatan Sediaan Suspensi Ekstrak

Serbuk Na.CMC ditimbang sebanyak 50 mg. Kemudian, Na.CMC tersebut ditaburkan di atas air panas sebanyak 20 kalinya (1 mL) dalam lumpang panas dan dibiarkan selama 15 menit. Serbuk Na.CMC yang telah ditabur dan ditunggu 15 menit digerus sampai homogen. Na.CMC yang telah homogen ditambahkan ekstrak daun malur yang sebelumnya sudah ditimbang sesuai dengan dosis (250 mg dan 500 mg). Campuran tersebut digerus sampai homogen. Kemudian, aquadest ditambahkan sampai volume 10 ml

Uji Aktivitas Anti-inflamasi dengan Metoda Induksi Karagenan pada Telapak Kaki Tikus

Tikus diaklimatisasi selama lebih kurang 7 hari. Kemudian, tikus dipuaskan selama 18 jam pada hari ke delapan. Tikus diberi tanda dengan spidol pada pengelangan kaki agar batas kaki yang dimasukkan kedalam alat pletismometer

semua sama. Sebelum tikus diberi bahan uji, volume kaki tikus diukur menggunakan alat pletismometer sebagai volume awal (V₀) kenaikan air raksa diukur dan dicatat sebelum dan sesudah pencelupan. Kelompok kontrol positif diberikan *celecoxib* dosis 9 mg/kg BB, kelompok perlakuan ekstrak etanol daun malur diberikan variasi dosis 250 mg/kg dan 500 mg/kg dan kelompok kontrol negatif hanya diberikan suspensi Na CMC 0,5%. Satu jam setelah pemberian sediaan, telapak kaki tikus dibersihkan dengan etanol 70%. Kemudian, tikus disuntikkan karagen secara suplantar pada telapak kaki tikus sebanyak 0,1 mL. Amati dan ukur perubahan diameter radang, volume cairan radang pada tiap jam selama 6 jam yaitu pada jam ke 1, 2, 3, 4, 5 dan 6. Setiap kelompok dapat dihitung persentase inhibisi udem.

Uji Daya Hambat Enzim Siklooksigenase-2

- (a) Penyiapan serum pada jam ke-3 darah diambil melalui sinus orbital mata. Darah ditampung dengan tabung reaksi dan diamkan selama 15 menit. Kemudian, dilakukan *sentrifuge* dengan 4000 rpm selama 20 menit sehingga terpisah antara serum dan bekuan darahnya, serum berada diatas dan bekuan berada dibawah. Kemudian serum diambil dengan jarum suntik dan dimasukkan kedalam *microtube* dan disimpan dalam *freezer* suhu -4°C dengan posisi tegak.
- (b) Prosedur Pengukuran
Semua sampel uji (standar, blangko, dan serum tikus) dipipet masing-masing 100 µL ke masing-masing sumur *microplate*. Inkubasi selama 90 menit pada suhu 37°C. Cairan dikeluarkan dari masing-masing sumur *microplate*, segera tambahkan 100 µL *biotinylated detection Ab*, kemudian diinkubasi selama 1 jam pada suhu 37°C. Sisa larutan dibilas dari masing-masing sumur *microplate* menggunakan *wash buffer* sebanyak 3 kali. 100 µL larutan HRP konjugasi ditambahkan ke masing-masing sumur *microplate* kemudian inkubasi selama 30 menit pada suhu 37°C. Sisa larutan dibilas dari masing-masing sumur *microplate* menggunakan *wash buffer* sebanyak 5 kali. Tambahkan 90 µL *substrate reagen* ke masing-masing sumur *microplate* kemudian inkubasi selama 15 menit pada suhu 37°C.

50 μ L *stop solution* ditambahkan ke masing-masing sumur *microplate*, lakukan pengukuran absorbansi pada panjang gelombang 450 nm menggunakan *Elisa microplate reader*.

ANALISA DATA HASIL PENELITIAN

Data yang diperoleh dari percobaan diolah secara statistik dengan uji ANOVA satu arah dengan tingkat kepercayaan 95% dan uji lanjutan *tukey* menggunakan perangkat lunak SPSS versi 22.

HASIL DAN DISKUSI

Berdasarkan hasil penelitian, pada parameter volume radang dan persentase radang kelompok dosis 250 mg/kg BB memiliki nilai rata-rata volume radang 0,42 cm^3 , dengan persentase radangnya 54,64%, kelompok dosis 500 mg/kg BB memiliki nilai volume radang 0,37 cm^3 , dengan persentase radangnya 48,93%, kelompok kontrol positif memiliki volume radang 0,32 cm^3 , dengan persentase radangnya 39,58% dan kelompok kontrol negatif memiliki volume radang 0,73 cm^3 dengan persentase radangnya 80,49% yang diukur selama 6 jam (**Tabel 1** dan **Tabel 2**).

Tabel 1. Data hasil pengukuran volume radang setelah diinduksi karagen

No	Volume radang (cm^3)				
	K1	K2	K3	K4	K5
1	0,43	0,38	0,31	0,7	0
2	0,41	0,33	0,33	0,68	0
3	0,41	0,41	0,31	0,8	0
Rata-rata	0,42	0,37	0,32	0,73	0
SD \pm	0,011	0,040	0,011	0,064	0

Ket. K1: Dosis 250 mg/kgBB, K2: Dosis 500 mg/kgBB, K3:Kontrol Positif: K4:Kontrol Negatif: K5:Kontrol Normal

Tabel 2. Data hasil persentase radang setelah diinduksi karagen

No	Persentase radang				
	K1	K2	K3	K4	K5
1	61,42 %	54,28 %	38,75 %	68,57 %	0 %
2	51,25 %	41,25 %	41,25 %	85,41 %	0 %
3	51,25 %	51,25 %	38,75 %	87,50 %	0 %
Rata-rata	54,64 %	48,93 %	39,58 %	80,49 %	0 %
SD \pm	5,87	6,81	1,44	10,38	0

Ket. K1: Dosis 250 mg/kgBB, K2: Dosis 500 mg/kgBB, K3:Kontrol Positif: K4:Kontrol Negatif: K5:Kontrol Normal

Kelompok kontrol negatif memiliki volume radang dan persentase radang yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya dengan nilai volume radang 0,73 cm^3 dan persentase radangnya 80,49%, diikuti kelompok dosis 250 mg/kg BB yang memiliki nilai volume radang 0,42 cm^3 dan persentase radangnya 54,64%, sedangkan kelompok dosis 500 mg/kg BB memiliki nilai volume radang 0,37 cm^3 dengan persentase radangnya 48,93% yang paling mendekati kelompok kontrol positif dengan volume radang 0,32 cm^3 dan persentase radang terendah yaitu 39,58%.

Volume radang dan persentase radang pada kelompok kontrol negatif adalah yang paling tinggi dibandingkan dengan kelompok lainnya. Hal ini dikarenakan kelompok kontrol karagen hanya diinduksi karagen dan tidak diberi perlakuan apapun sehingga proses penghilangan mediator-mediator inflamasi dalam tubuh hanya terjadi secara alamiah. Volume radang dan persentase radang dari ketiga variasi dosis yang paling rendah yaitu pada kelompok dosis 500 mg/kg BB.

Hasil pengolahan data secara statistik uji lanjut *Tukey* diketahui kelompok dosis 500 mg/kg BB tidak berbeda secara signifikan dengan

kelompok kontrol positif namun berbeda secara signifikan kontrol negatif, artinya kelompok dosis 500 mg/kg BB dan kelompok kontrol positif memiliki kemampuan yang mendekati sama dalam menurunkan inflamasi. Namun kelompok

dosis 500 mg/kg BB juga beririsan dengan dosis 250 mg/kg BB, artinya kedua dosis ini juga memiliki aktivitas yang hampir sama dalam menurunkan volume radang (**Tabel 3**).

Tabel 3. Hasil analisis volume radang dengan uji lanjut Tukey

Volume radang						
Tukey HSD ^a						
Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
kontrol normal	3	0,000				
kontrol <i>Positif</i>	3		0,317			
dosis 500 mg/kg BB	3		0,373	0,373		
dosis 250 mg/kg BB	3			0,417		
kontrol Negatif	3					0,727
Sig.		1,000	0,327	0,589	1,000	1,000

Adanya kemampuan menurunkan volume radang dan persentase radang diduga terjadi karena aktivitas senyawa aktif yang terdapat dalam daun malur (*Brucea javanica* (L.) Merr.) yaitu flavonoid dan alkaloid. Beberapa senyawa golongan flavonoid bekerja pada endotelium mikrovaskular untuk mengurangi terjadinya hiperpermeabilitas dan edema. Flavonoid memiliki kemampuan memblok siklooksigenase dan lipooksigenase sehingga sintesis prostaglandin, leukotrien, histamin, bradikinin dan tromboksan terhambat (Agrawal, 2011). Alkaloid sebagai antiinflamasi diduga bekerja dengan menghambat Prostaglandin H₂ PGH₂. Prostaglandin H₂ (PGH₂) adalah senyawa intermediet pembentukan prostaglandin yang aktif

secara fisiologis Prostaglandin E₂(PGE₂) dan Prostaglandin F₂ (PGF₂) dan tromboksan A₂ (TXA₂). Pembentukan prostaglandin dan tromboksan tersebut dapat menginduksi suatu inflamasi, sehingga dengan adanya aktivitas penghambatan PGH₂ oleh alkaloid dapat menghambat suatu inflamasi (Anwar et al., 2013).

Hasil pengukuran jumlah COX-2 menggunakan alat *Microplate reader* pada jam ke enam setelah diinduksi karagen didapatkan hasil rata-rata konsentrasi enzim siklooksigenase-2 pada kelompok dosis 250 mg/kg BB, dosis 500 mg/kg BB, kontrol *positif*, kontrol negatif dan kontrol normal secara berurutan adalah 7194,473 pg/mL; 6399,461 pg/mL; 4345,942 pg/mL; 6924,596 pg/mL; 2432,618 pg/mL (**Tabel 4**).

Tabel 4. Data hasil pengukuran jumlah konsentrasi enzim siklooksigenase-2

No	COX-2 pada jam ke 6 (pg/mL)				
	K1	K2	K4	K5	K6
1	7037,538	7870,198	4280,483	7142,005	1564,623
2	8124,120	6407,060	4458,646	6285,138	3318,130
3	6421,718	4921,125	4298,698	7346,646	2415,094
Rata-rata	7194,473	6399,464	4345,942	6924,596	2432,618

Ket. K1: Dosis 250 mg/kgBB, K2: Dosis 500 mg/kgBB, K3:Kontrol Positif: K4:Kontrol Negatif: K5:Kontrol Normal

Kelompok dosis 250 mg/kg BB memiliki jumlah konsentrasi enzim siklooksigenase-2 tertinggi yaitu 7194,473 pg/mL diikuti dengan kontrol positif yaitu 6924,596 pg/mL kemudian dosis 500 mg/kg BB yaitu 6399,461 pg/mL yang mendekati kontrol positif yaitu 4345,942 pg/mL dan kontrol normal yaitu 2432,618 pg/mL. Jumlah konsentrasi enzim siklooksigenase-2 pada kelompok dosis 250 mg/kg BB sedikit lebih tinggi dibandingkan jumlah konsentrasi siklooksigenase-2 pada kontrol positif, namun jumlah konsentrasi siklooksigenase-2 pada kelompok dosis 500 mg/kg BB lebih rendah dibanding kontrol negatif dan mendekati jumlah konsentrasi siklooksigenase-2 pada kelompok positif (**Tabel 4**).

Hasil uji lanjut Tukey diketahui kontrol positif dan kontrol karagen memiliki perbedaan yang signifikan, pada kelompok dosis 500 mg/kg BB dan kelompok positif berbeda namun tidak signifikan yang artinya kelompok dosis 500 mg/kg BB memiliki kemampuan yang hampir sama dengan kelompok positif dalam menghambat jumlah konsentrasi enzim siklooksigenase-2. Pada dosis 250 mg/kg BB dan kontrol negatif memberikan efek yang berbeda secara signifikan dengan kelompok kontrol normal, artinya pada kelompok 250mg/kg BB dan kontrol negatif tidak berpengaruh pada penurunan jumlah konsentrasi enzim siklooksigenase-2 pada tikus putih jantan (**Tabel 5**).

Tabel 5. Hasil analisis statistik jumlah konsentrasi COX-2 pada jam ke 6 dengan uji lanjut Tukey

Konsentrasi COX-2				
Tukey HSD ^a				
Kelompok	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
kontrol normal	3	2432,615		
kontrol <i>Positif</i>	3	4345,942	4345,942	
Dosis 500 mg/kg BB	3		6399,464	6399,464
kontrol Negatif	3			6924,596
Dosis 250 mg/kg BB	3			7194,473
Sig.		0,145	0,106	0,287

KESIMPULAN

Ekstrak etanol daun malur (*Brucea javanica* (L.) Merr.) dosis 250 mg/kg BB dan dosis 500 mg/kg BB memiliki aktivitas antiinflamasi terhadap tikus putih jantan yang ditandai dengan peningkatan inhibisi radang pada uji induksi karagen pada kaki tikus sedangkan terhadap uji daya hambat enzim siklooksigenase 2 (COX-2) ekstrak etanol daun malur (*Brucea javanica* (L.) Merr.) dosis 500 mg/kg BB dapat meningkatkan daya hambat enzim siklooksigenase-2 pada tikus putih jantan. Namun, dosis 250 mg/kg BB tidak dapat menunjukkan daya hambat enzim COX-2 dengan signifikan.

REFERENSI

- Agrawal, A. D. (2011). Pharmacological activities of flavonoids: a review. *International Journal of Pharmaceutical Science Nanotechnology*, 4(2), 1394 - 1398.
- Angelina, M. M. (2010). Uji aktivitas ekstrak dan fraksinasi daun *Brucea javanica* (Merril) secara invitro. *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, 12(2), 59-64.
- Angelina, M. M., Abdul, M., Hanafi, M. (2011). Ekstrak terstandar secara kimia daun *Brucea javanica* Merril. *Indonesian Journal of Applied Chemistry*, 13(2), 45-51.
- Anwar, K., Santoso, H. B., & Cahaya, N. (2013). Penghambatan radang infusa daun dadap ayam (*Erythrina variegata* L.) pada mencit putih jantan yang diinduksi karagenin.

Prosiding Semirata FMIPA Universitas Lampung, 45-52.

- Ismail, N., Abdullah, H., Jamil, S., Jamalulail, S., Rotondo, D., Seidel, V., (2012). Anticancer and immunomodulating activity of a flavonoid from *Brucea javanica* leaves. *UMT 11th International Annual Symposium on Sustainability Science and Management*. 1542-1548.
- Katzung, B. G. (2002). *Farmakologi dasar dan klinik*. (edisi 8). Penerjemah : Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga. Jakarta:Penerbit Salemba Medika.
- Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. (2011). *Suplemen II farmakope herbal Indonesia*. (edisi 1). Jakarta: Kementerian Kesehatan Republik Indonesia.
- Kim, I. H., Hitotsuyanagi, Y., Takeya, K. (2004). Quassinoid glucosides from seeds of *Brucea amarissima*. *Phytochemistry*, 65(23), 3168-3173.
- Mycek, M. J., Harvey, R. A., Champe, P. C. (2001). *Farmakologi ulasan bergambar* (edisi 2). Alih Bahasa Azwar Agoes. Jakarta: Widya Medika.
- Nakao, R., Mizukami, C., Kawamura, Y. (2009). Evaluation of efficacy of bruceine A, a natural quassinoid compound extracted from a medicinal plant, *Brucea javanica*, for canine babesiosis. *J Vet Med Sci*, 71(1), 33-41.
- Robert, L. J & Morrow, J. D., in Goodman & Gilman. (2008). *Dasar farmakologi terapi* (edisi 10). Alih Bahasa Tim Bahasa Sekolah Farmasi ITB. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Tjay, T. H., & Rahardja, K. (2007). *Obat-obat penting*(Edisi 6). Jakarta: Penerbit PT Elex Media Komputindo.
- Yang, J., Li, S., Xie, C., Ye, H., Tang, H., Chen, L., Peng, A. (2013). Anti-inflammatory activity of ethyl acetate fraction of the seeds of *Brucea javanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 147(2): 442-446.