

Studi Ex-Vivo, Efek Ekstrak *Eurycoma longifolia* Terstandar Pada Aktivitas Enzim Rosiglitazone N-Demetilase

Ex-Vivo Study, The Effect of Standardized Eurycoma longifolia Extract on The Enzyme Activity of Rosiglitazone N-Demethylase

Purwantiningsih^{1*}, Abas Hj Hussin², Kit Lam Chan³

¹ Department of Pharmacology & Clinical Pharmacy, Faculty of Pharmacy, Universitas Gadjah Mada

² Centre for Drug Research, Universiti Sains Malaysia, 11800 Penang, Malaysia

³ School of Pharmaceutical Sciences, Universiti Sains Malaysia, 11800 Penang, Malaysia

Corresponding author: Purwantiningsih; Email: purwantiningsih@ugm.ac.id

Submitted: 04-08-2019

Revised: 16-08-2019

Accepted: 02-09-2019

ABSTRAK

Eurycoma longifolia (*E. longifolia*) atau dikenal dengan sebutan Pasak Bumi di Indonesia, sudah digunakan secara luas khususnya untuk meningkatkan stamina pada pria. Penggunaan obat herbal dalam jangka panjang membuka peluang adanya pengaruh obat herbal pada metabolisme substansi lain. Penelitian ini bertujuan melihat pengaruh *E. longifolia* ekstrak pada metabolisme rosiglitazone setelah pemberian oral selama satu dan empat belas hari, serta efeknya terhadap berat badan tikus. Tikus uji dibagi menjadi dua kelompok, kelompok perlakuan satu hari (dibagi dalam 8 subkelompok dengan n = 6: I (kontrol), II hingga VIII (diberi perlakuan ekstrak dengan dosis 1 hingga 1000 mg/kg BB) dan 14 hari (tikus dibagi menjadi 4 subkelompok, n = 6: I (kontrol), II hingga IV (diberi perlakuan ekstrak dengan dosis 5, 25 dan 50 mg/kg BB). Pada akhir percobaan, hewan uji dikorbankan dan aktivitas rosiglitazone N-demetilase pada hepatosit ditentukan dengan mengukur jumlah formaldehida yang terbentuk pada 415 nm. Aktivitas rosiglitazone N-demetilase pada seluruh kelompok dianalisis dengan analisis varian pola searah (ANOVA) dan Uji Tukey (P<0,05). Persentase perubahan berat badan pada kelompok perlakuan 14 hari dibandingkan dengan kelompok kontrol. Hasil Penelitian menunjukkan, ada peningkatan signifikan pada aktivitas rosiglitazone N-demetilase setelah tikus diberi perlakuan ekstrak *E. longifolia* dosis 5 hingga 1000 mg/kgBB, tetapi tidak berbeda secara signifikan pada dosis 1 mg/kg BB bila dibandingkan dengan kontrol. Pada perlakuan selama 14 hari, tidak ada perbedaan signifikan antara kelompok perlakuan dengan kelompok kontrol, baik aktivitas enzim rosiglitazone N-demetilase maupun berat badan tikus.

Kata kunci: *Eurycoma longifolia*; aktivitas rosiglitazone N-demetilase; tikus jantan

ABSTRACT

Eurycoma longifolia (*E. longifolia*) or is known as Pasak Bumi in Indonesia, has been used widely, especially to increase stamina in men. The use of herbal medicines in the long run opens up the opportunities for the influence of herbal medicines on the metabolic process of other substances. This study aimed to evaluate the effect of *E. longifolia* extract on rosiglitazone metabolism after oral administration for one and fourteen days, and its effect on rat body weight. The rats were divided into two groups, group for one day treatment (divided into 8 subgroups with n = 6: I (control), II to VIII (were given extract at doses of 1 to 1000 mg/kg BW) and 14 days (rats divided into 4 subgroups, n = 6: I (control), II to IV (treated with extracts of doses 5, 25 and 50 mg/kg BW). At the end of the experiment, test animals were sacrificed and rosiglitazone N-demethylase activity in hepatocytes was determined by measuring the amount of formaldehyde formed at 415 nm. The rosiglitazone N-demethylase activity in all groups was analyzed by analysis of variance (ANOVA) and Tukey Test (P <0.05). The percentage of the changing in the body weight in the 14 days treatment group was compared to the control group. The results showed there was a significant increased in the rosiglitazone N-demethylase activity after rats were treated with *E. longifolia* extract at doses of 5 to 1000 mg/kg BW, but was not significantly different at a dose of 1 mg/kg BW when compared with control group. For the 14 days treatment, there was no significant difference between the treatment

group and the control group, for both the rosiglitazone N-demethylase enzyme activity or the changed of rat body weight.

Keywords: *Eurycoma longifolia*; rosiglitazone N-demethylase activity; male rats

PENDAHULUAN

Di seluruh dunia, ada banyak jenis sediaan obat herbal (Zhang *et al.*, 2005). Berbagai obat tradisional ada yang disiapkan menggunakan bentuk senyawa terisolasi atau preparat yang terdiri dari ekstrak utuh, ekstrak murni atau campuran senyawa yang diidentifikasi dari sumber alami, sebagai contoh ekstrak *Eurycoma Longifolia* yang digunakan untuk pengobatan disfungsi ereksi (DE) (Low & Tan, 2007; Drewes *et al.*, 2003).

Eurycoma longifolia Jack (*E. longifolia*) adalah salah satu tanaman obat tradisional yang banyak digunakan di Asia terutama di Indonesia, Vietnam dan Malaysia. Saat ini, ada lebih dari 200 produk *E. longifolia* beredar di pasar Malaysia dan sebagian besar dari produk ini fokus pada efek afrodisiak (Bhat & Karim, 2010). Akar *E. longifolia* memiliki banyak kandungan kimia seperti alkaloid (Kanchanapoom *et al.*, 2001), quassinoid (Chan *et al.*, 1989), turunan squalene (Ang *et al.*, 2002), biphenylneolignan (Morita *et al.*, 1992) dan triterpen (Itokhawa *et al.*, 1992). Studi tentang *E. longifolia* yang telah dilakukan meliputi aktivitas antiplasmodial (Chan, *et al.*, 2005) aktivitas anti-schistosomal dan anti-parasit (Jiwajinda *et al.*, 2002), efek sitotoksik (Kardono *et al.*, 1991), aktivitas antipiretik (Chan *et al.*, 1995), efek apoptosis dalam sel HepG2 (Zakaria *et al.*, 2009) dan sebagai afrodisiak (Ang & Ngai, 2001; Ang & Lee, 2002; Ang *et al.*, 2003). Namun, masih jarang publikasi yang berkaitan dengan interaksi obat herbal.

Berdasarkan studi sebelumnya dilaporkan bahwa ekstrak akar *E. longifolia* (EAE) dapat mempengaruhi metabolisme fase I baik aminopirin maupun rosiglitazone, percobaan dilakukan secara in-vitro menggunakan hepatosit tikus galur Sprague Dewley (SD) jantan dan betina (Purwantiningsih *et al.*, 2010; 2011). Penelitian lain juga telah melaporkan pengaruh EAE pada metabolisme aminopirin dan rosiglitazone pada tingkat molekuler (Purwantiningsih *et al.*, 2012; 2015). Studi oleh Purwantiningsih *et al.* (2014), menunjukkan bahwa eurikomanone (senyawa penanda pada EAE) dapat menghambat aktivitas enzim sitokrom P450 manusia. Hal ini yang mendorong penulis untuk melakukan

penelitian berkaitan efek EAE terhadap metabolisme fase I rosiglitazone secara ex-vivo.

METODOLOGI

Alat

Alat utama terdiri atas: mikropipet (Eppendorf®), timbangan analitik (Explorer™), cawan petri, *Petri dish shaker* (The Belly Dancer®), satu set alat perfusi, timbangan hewan (Navigator™), beker gelas, tabung reaksi, pH meter (Cyber Scan® 1100 pH), *microplate reader* (Powerwave X-340®, Biotek), sentrifuse (Universal 320R) dan *Waterbath*.

Bahan

Rosiglitazone dibeli dari Wuhan Sunrise Technology, China. Dietil eter, magnesium klorida, dan magnesium sulfat dibeli dari BDH Laboratory Supplies, Inggris. Asetil aseton, streptozotocin, kolagenase tipe IV dan *trypan blue* diperoleh dari Sigma Chemicals (St. Louis, MO, USA). Disodium hidrogen fosfat, amonium asetat, barium hidroksida, zinc sulfat heptahidrat dibeli dari R&M Chemicals (Inggris), sedangkan glukosa monohidrat dan kalsium klorida dari Riedel-deHaen, Prancis. Larutan formaldehida 37% diperoleh dari Merck (Darmstadt, Jerman). Semua bahan kimia yang digunakan memiliki kualitas pro-analisis.

Penyiapan ekstrak *E. longifolia*

Ekstrak *E. longifolia* dibuat dari akar *E. longifolia* dengan metode ekstraksi sesuai dengan metode yang dijelaskan sebelumnya oleh Chan *et al.* (2004). Akar *E. longifolia* dikumpulkan dari Distrik Teluk Bahang di Penang, Malaysia. Serbuk akar ditimbang sebanyak 2 kg dan diekstraksi berulang kali pada suhu kamar (enam kali selama dua minggu) dengan etanol-air (1:1). Semua ekstrak etanol encer dikumpulkan dan diuapkan untuk mendapatkan ekstrak kering serta diperoleh rendemen sebanyak 2,8%. Standarisasi dilakukan di Laboratorium Pharmaceutical Chemistry, School of Pharmaceutical Sciences, Universiti Sains Malaysia. Dari ekstrak tersebut telah berhasil diisolasi eurycomanone murni, dan ekstrak dinyatakan mengandung 19,6% eurycomanone (Low *et al.*, 2005). Ekstrak terstandar *E. longifolia* digunakan dalam

penelitian ini dan disiapkan dengan cara melarutkan ekstrak dalam air suling. Voucher specimen sampel tanaman disimpan di Kebun Raya Penang dengan Referensi No. 785-117 (Chan *et al.*, 2004).

Hewan uji

Tikus untuk percobaan ini berasal dari rumah hewan di Universiti Sains Malaysia, Penang, Malaysia. Tikus Sprague-Dawley (SD) jantan yang digunakan memiliki berat badan 350 ± 40 g dan umur 20-24 minggu. Semua tikus diberi pakan pelet standard (Gold Coin®, Penang, Malaysia) dan air minum *ad libitum*. Protokol penelitian telah disetujui oleh Komite Etika untuk Hewan, Universitas Sains Malaysia, Penang, Malaysia dengan no referensi: USM/PPSF/50 (066) Jld.2.

Jalannya Penelitian

Penyiapan kurva standar formaldehida

Larutan standar dibuat pada konsentrasi 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5 $\mu\text{g/mL}$ (dibuat dengan pengenceran larutan stok formaldehida konsentrasi 2,5 $\mu\text{g/mL}$), masing-masing konsentrasi diambil 1 mL dan dimasukkan dalam tabung reaksi. Dalam tabung kontrol, larutan stok 1 mL diganti dengan 1 mL air suling. Sebanyak 2 mL Reagen Nash ditambahkan ke setiap tabung reaksi dan ditutup. Semua tabung diinkubasi pada 60 °C selama 30 menit dalam *shaking waterbath*. Kemudian 0,20 mL larutan diambil dari masing-masing tabung dan dipindahkan ke plate 96 sumuran. Absorbansi dibaca pada 415 nm dengan menggunakan *microplate reader* (Powerwave X-340®, Biotek). Persamaan kurva standar diperoleh dengan memplotkan nilai absorbansi versus konsentrasi formaldehida, $\mu\text{g/mL}$.

Studi ex-vivo efek ekstrak *E. longifolia* pada aktivitas enzim rosiglitazone N-demetilase

Tikus dibagi menjadi dua kelompok yaitu untuk perlakuan satu hari dan 14 hari. Pada kelompok perlakuan satu hari, tikus dibagi dalam delapan subkelompok ($n = 6$); kelompok I (kontrol), dan kelompok II - VIII (diberi perlakuan *E. longifolia* ekstrak dosis 1 hingga 1000 mg/kgBB). Untuk kelompok perlakuan 14 hari, hewan uji dibagi menjadi empat subkelompok ($n = 6$); kelompok I (kontrol) dan kelompok II hingga IV (diberi perlakuan *E. longifolia* ekstrak dosis 5, 25 dan 50 mg/kgBB). Pada akhir perlakuan hepatosit

dari masing-masing tikus diisolasi dengan teknik perfusi (Hussin & Skett, 1998), dan dilakukan uji aktivitas rosiglitazone N-demetilase.

Sebanyak 1,0 mL rosiglitazone (0,75 mM) dalam larutan pembawa ditambahkan ke cawan petri yang mengandung media inkubasi dan hepatosit hasil isolasi (75.000 sel/petri). Untuk petri kontrol, rosiglitazone digantikan dengan larutan pembawa (1% larutan PEG-400). Cawan petri diinkubasi pada suhu kamar selama 10 menit di atas meja bergoyang. ZnSO_4 [0,5 mL; 25% (b/v)] ditambahkan untuk menghentikan reaksi dan diikuti oleh penambahan $\text{Ba}(\text{OH})_2$ jenuh (0,5 mL). Sampel kemudian disentrifugasi selama 10 menit pada 3000 rpm. Sebanyak 1 mL supernatant diambil dan ditambahkan ke tabung reaksi berisi 2 mL reagen Nash dan diinkubasi pada 60°C selama 30 menit dalam *waterbath shaker*. Aktivitas rosiglitazone N-demetilase ditentukan menurut metode kolorimetri dari Nash (1953) yaitu dengan mengukur jumlah formaldehida yang terbentuk pada 415 nm menggunakan *microplate reader*.

Pengukuran bobot badan hewan uji

Bobot badan hewan uji ditimbang tiap 2 hari sekali, selama 14 hari untuk selanjutnya dihitung perubahan bobot badan perhari dan dilakukan Analisis Varian pola searah (ANOVA) untuk mengetahui perbedaan antar kelompok.

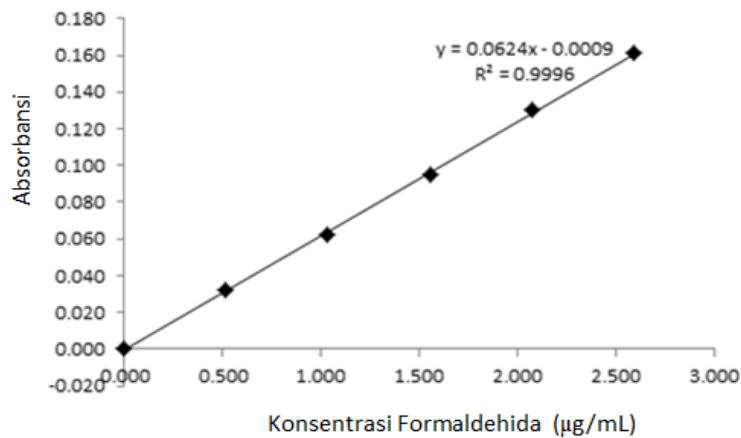
Analisis Data

Rata-rata dan standar deviasi formaldehida yang terbentuk ($\mu\text{g/mL}$) karena aktivitas N-demetilase pada kelompok perlakuan dihitung dan dibandingkan dengan kelompok kontrol. Aktivitas rosiglitazone N-demetilase pada masing-masing kelompok dibandingkan dengan menggunakan analisis varians satu arah (ANOVA) dan dilanjutkan Uji Tukey, tingkat signifikansi ditetapkan pada $P < 0,05$.

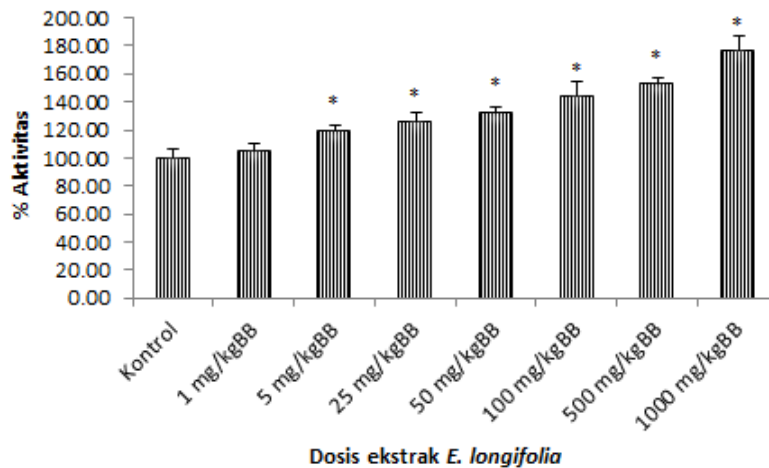
HASIL DAN PEMBAHASAN

Pembuatan Kurva Standar Formaldehida

Kurva standar formaldehida dibuat dengan cara memplotkan hasil pembacaan absorbansi dengan konsentrasi formaldehida yang digunakan (Gambar 1). Persamaan kurva baku yang diperoleh yaitu $Y = 0.0624X - 0,0009$ dan nilai $R^2 = 0.9996$. Berdasarkan harga R^2 terlihat bahwa nilainya mendekati 1, itu berarti



Gambar I. Kurva standard Formaldehida



Gambar 2. Pengaruh pemberian ekstrak *E. longifolia* pada aktivitas enzim pemetabolisme rosiglitazone pada hepatosit tikus jantan perlakuan secara oral dosis tunggal (1-1000 mg/kgBB (* $P < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok kontrol, nilai = rata-rata \pm SD, n = 6).

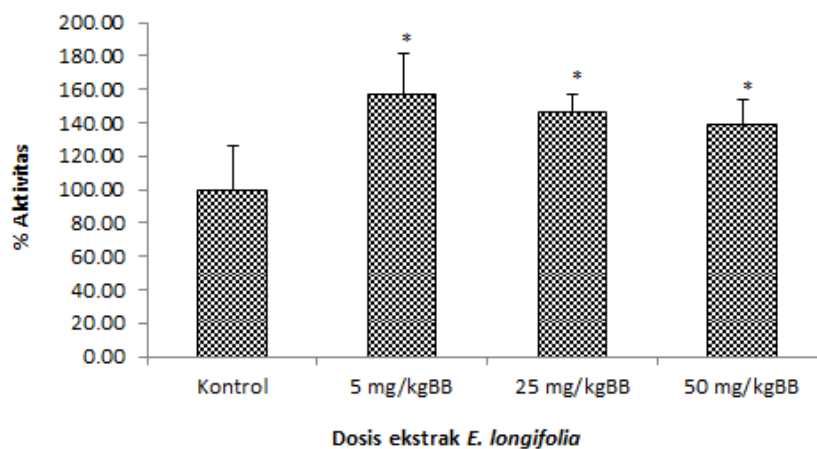
bahwa terdapat hubungan linier antara konsentrasi formaldehida yang digunakan dengan absorbansi yang dihasilkan.

Studi ex-vivo efek ekstrak *E. longifolia* pada aktivitas enzim rosiglitazone N-demetilase setelah pemberian oral dosis tunggal dan 14 hari

Pengaruh pemberian ekstrak *E. longifolia* terhadap aktivitas enzim pemetabolisme rosiglitazone pada fase I yaitu enzim rosiglitazone N-demetilase, setelah pemberian oral dosis tunggal disajikan pada Gambar 2. Pada gambar tersebut menunjukkan bahwa peningkatan formaldehida secara signifikan

terjadi pada semua kelompok perlakuan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$) pada dosis 5 sampai 1000 mg/kgBB, dan peningkatan terjadi seiring peningkatan dosis yang digunakan. Namun peningkatannya tidak berbeda secara signifikan pada kelompok perlakuan dosis 1 mg/kgBB ($P > 0,05$).

Hasil percobaan untuk perlakuan selama 14 hari ditunjukkan dalam Gambar 3. Pada kelompok perlakuan yang diberikan ekstrak *E. longifolia* selama 14 hari dengan dosis 5, 25 dan 50 mg/kgBB, formaldehida yang terbentuk mengalami peningkatan dibandingkan dengan kelompok kontrol ($P < 0,05$) walaupun peningkatannya tidak proporsional dengan



Gambar 3. Pengaruh pemberian ekstrak *E. longifolia* pada aktivitas enzim pemetabolisme rosiglitazone pada hepatosit tikus jantan setelah perlakuan oral selama 14 hari dengan dosis 5, 25 dan 50 mg/kgBB (* $P < 0,05$ dibandingkan dengan kelompok kontrol, nilai = rata-rata \pm SD, n = 6).

peningkatan dosis ekstrak yang digunakan. Peningkatan formaldehida paling tinggi terjadi pada kelompok dosis 5 mg/kgBB diikuti dengan dosis 25 dan 50 mg/kgBB.

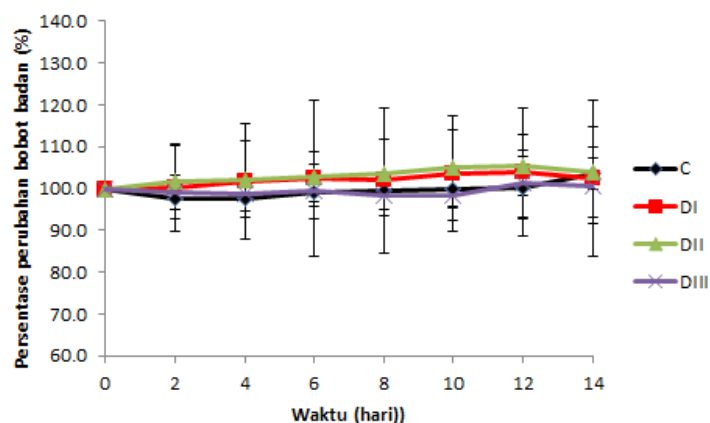
Penggunaan sediaan herbal sudah meluas di masyarakat (Zhang *et al.*, 2005) baik di negara berkembang maupun di negara maju. Peningkatan penjualan sediaan herbal di Amerika diperkirakan mencapai 25% pertahun, data yang ada menunjukkan peningkatan dari US\$ 1 miliar di tahun 1994 ke angka US\$ 4 miliar di tahun 1998 (Bent & Ko, 2004). Estimasi pasar obat tradisional dan makanan kesehatan lainnya di Malaysia adalah antara US\$ 526 hingga US\$ 790 juta (Noordin *et al.*, 2008).

Ada banyak laporan tentang interaksi yang terjadi antara obat dengan sediaan herbal, efek samping sediaan herbal dan potensi mereka dalam mempengaruhi efek terapeutik pada penggunaan obat-obatan secara klinis dimana interaksi tersebut kadang-kadang menyebabkan beberapa konsekuensi klinis yang serius (Mills *et al.*, 2005; Low & Tan, 2007). Saxena *et al.* (2008) melaporkan bahwa penggunaan *Piper nigrum* yang diketahui mengandung piperin, ternyata mampu meningkatkan ketersediaan hayati fenitoin, propranolol, dan teofilin berdasarkan hasil uji klinis pada manusia. Studi lain oleh Salman *et al.* (2010) tentang efek ekstrak air *E. longifolia* pada ketersediaan hayati propranolol menunjukkan bahwa ekstrak tersebut menurunkan AUC (29%), mengurangi C_{max} (42%) dan

memperpanjang T_{max} (86%) dari propranolol. Perubahan yang cukup besar bukan tidak mungkin dapat mempengaruhi efek terapeutik propranolol, tetapi perlu pembuktian lebih lanjut.

E. longifolia adalah sediaan herbal yang telah banyak digunakan oleh masyarakat baik dengan cara menyeduh maupun yang sudah dalam bentuk sediaan jadi berupa ekstrak dalam kapsul. Karena adanya permintaan produk *E. longifolia* yang tinggi, saat ini ada lebih dari 200 produk *E. longifolia* yang beredar dan terdaftar di Biro Kontrol Malaysia (Bhat & Karim, 2010), dijual sebagai Obat Herbal Tradisional di Indonesia dan Malaysia. Untuk memenuhi permintaan tersebut sekitar 21.000 kg *E. longifolia* dipanen oleh pengumpul pertahun, dari data permintaan kebutuhan sekitar > 54.000 kg pertahun. Sediaan ini diklaim mempunyai efek sebagai afrodisiak dan memiliki efek meningkatkan kadar testosteron.

E. longifolia ekstrak tidak dapat berefek serta merta sebagaimana penggunaan afrodisiak sintetik yang bisa berefek secara cepat. Sediaan ini harus dikonsumsi secara teratur dalam jangka waktu tertentu. Efektivitas baru optimal dirasakan setelah waktu penggunaan minimal satu minggu atau lebih secara terus menerus. Banyak penyakit kronis, seperti penyakit kardiovaskular, hipogonadisme dan diabetes melitus, dapat memengaruhi fungsi seksual (Wespes, 2002). Menurut penelitian sebelumnya, kekurangan



Gambar 4. Persentase perubahan berat badan tikus setelah mendapat perlakuan ekstrak *E. longifolia* secara oral selama 14 hari dengan dosis 5, 25 dan 50 mg/kgBB; dimana C

testosterone yang sebelumnya hanya dijumpai pada pria dengan diabetes tipe 2, ternyata juga umum pada pria dengan diabetes tipe 1 (Tomar *et al.*, 2006; Chandel *et al.*, 2008). Kadar testosterone yang rendah dapat menyebabkan masalah kesehatan yang dapat mengakibatkan terjadinya disfungsi ereksi (Marbeger *et al.*, 2006).

Penderita diabetes seringkali juga mengalami gangguan seksual, yang mana pada penderita tersebut harus menggunakan obat antidiabetes secara rutin dalam jangka waktu lama atau bahkan seumur hidup. Untuk mengatasi gangguan seksual bukan tidak mungkin penderita menggunakan sediaan herbal untuk pengatasan gangguan seksualnya, sebagai contoh sediaan herbal yang digunakan adalah ekstrak *E. longifolia*. Dalam penelitian ini ingin diketahui bagaimana efek penggunaan secara bersamaan ekstrak tersebut dengan agen antidiabetes yang dalam hal ini rosiglitazone digunakan sebagai obat model. Penggunaan ekstrak *E. longifolia* dan rosiglitazone secara bersamaan untuk jangka waktu yang lama, diduga dapat mempengaruhi metabolisme rosiglitazone karena adanya pengaruh ekstrak *E. longifolia* terhadap aktivitas enzim N-demetilase yang berfungsi untuk melakukan proses metabolisme fase I.

Penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa ekstrak *E. longifolia* dapat meningkatkan konsentrasi formaldehida pada hepatosit kelompok tikus jantan normal dan diabetes. Peningkatan yang signifikan terjadi ($p < 0,05$), menunjukkan bahwa ekstrak tersebut meningkatkan metabolisme rosiglitazone fase I

pada tikus jantan secara in-vitro (Purwantiningsih *et al.*, 2011). Kedua hasil ini sejalan yaitu ekstrak *E. longifolia* meningkatkan aktivitas enzim N-demetilase sehingga meningkatkan metabolisme rosiglitazone. Hasil tersebut didukung oleh penelitian lain yang mana ekstrak *E. longifolia* diduga mempengaruhi fase I metabolisme rosiglitazone pada tikus jantan pada tingkat molekular yaitu diduga melalui jalur aktivasi fosfatase dan penghambatan tirosin kinase (Purwantiningsih *et al.*, 2015).

Pengukuran bobot badan hewan uji

Pengukuran bobot badan dilakukan tiap 2 hari sekali selama 14 hari, dan dihitung persentase perubahannya, data antar kelompok dibandingkan menggunakan analisis varian pola searah (Anova) untuk melihat perbedaannya. Hasil perhitungan perubahan persentase bobot badan disajikan dalam Gambar 4, sedangkan berdasarkan hasil uji statistik perubahan antar kelompok uji tidak berbeda secara signifikan ($P > 0,05$) dikarenakan besarnya standar deviasi. Ini berarti bahwa perlakuan ekstrak *E. longifolia* dosis 5-50 mg/kgBB secara oral selama 14 hari tidak mempengaruhi bobot badan hewan uji.

KESIMPULAN

Pemberian ekstrak *E. longifolia* meningkatkan secara signifikan ($P < 0,05$) aktivitas enzim N-demetilase dalam metabolisme rosiglitazone pada tikus jantan setelah mendapat perlakuan ekstrak tersebut secara oral untuk pemberian selama satu hari

dosis 5-1000 mg/kgBB dibandingkan kelompok kontrol, tetapi tidak berbeda signifikan pada dosis 1 mg/kgBB. Perlakuan ekstrak *E. longifolia* dosis 5, 25 dan 50 mg/kgBB secara oral selama 14 hari meningkatkan secara signifikan ($P < 0,05$) aktivitas enzim tersebut dibandingkan kontrol, tetapi tidak mempengaruhi bobot badan hewan uji.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis mengucapkan terima kasih kepada School of Pharmaceutical Sciences, Universiti Sains Malaysia, yang telah membiayai penelitian ini dengan Grant Number 1001/PFARMASI/821127.

DAFTAR PUSTAKA

- Ang, H. H., Hitotsuyanagi, Y., Fukaya, H., & Takeya, K., 2002, Quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, 59(8), 833-837.
- Ang, H., & Ngai, T. H., 2001, Aphrodisiac evaluation in non-copulator male rats after chronic administration of *E. longifolia* Jack, *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 15, 265-268.
- Ang, H. H., & Lee, K. L., 2002, Effect of *Eurycoma longifolia* Jack on orientation activities in middle-aged male rats, *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 16, 479-483.
- Ang, H. H., Lee, K. L., & Kiyoshi, M., 2003, *Eurycoma longifolia* Jack enhances sexual motivation in middle-aged male mice, *Journal of Basic Clinical Physiology and Pharmacology*, 14, 301-308.
- Bent, S., & Ko, R., 2004, Commonly Used Herbal Medicines in the United States: A Review, *American Journal of Medicine*, 116, 478-485.
- Bhat, R., & Karim, A., 2010, Tongkat Ali (*Eurycoma longifolia* Jack): A review on its Ethnobotany and pharmacological importance, *Fitoterapia*, 81, 669-679.
- Chan, K. L., Choo, C. Y., & Abdullah, N. R., 2005, Semisynthetic 15-O-Acyl- and 1,15-Di-O-acyleurycomanones from *Eurycoma longifolia* as Potential Antimalarials, *Planta Medica*, 71, 967-969.
- Chan, K. L., Choo, C. Y., Abdullah, N. R., & Ismail, Z., 2004, Antiplasmodial studies of *Eurycoma longifolia* Jack using the lactate dehydrogenase assay of *Plasmodium falciparum*, *Journal of Ethnopharmacology*, 92, 223-227.
- Chan, K. L., Lee, S. P., Sam, T. W., & Han, B. H., 1989, A quassinoid glycoside from the roots of *Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, 28, 2857-2859.
- Chan, K. L., Lee, S. P., & Yuen, K. H., 1995, Antipyretic Activity of Quassinoids from *Eurycoma longifolia* Jack. In Ghazally I, Murtedza M & Laily D (Eds.), *Chemical prospecting in Malayan forest*, Selangor: Pelanduk Publications, 219-224.
- Chandel, A., Dhindsa, S., Topiwala, S., Chaudhuri, A., & Dandona, P., 2008, Testosterone Concentrations in Young Patients With Diabetes, *Diabetes Care*, 31, 2013-2017.
- Drewes, S. E., George, J., & Khan, F., 2003, Recent findings on natural products with erectile-dysfunction activity, *Phytochemistry*, 62, 1019-1025.
- Hussin, A. H., & Skett, P., 1988, Lack of effect of insulin in hepatocytes isolated from streptozotocin-diabetic male rats, *Biochemical Pharmacology*, 37(9), 1683-1686.
- Itokawa, H., Kishi, E., Morita, H., & Takeya, K., 1992, Cytotoxic quassinoids and tirucallane-type triterpene from the woods of *Eurycoma longifolia*, *Chemical Pharmacology Bulletin*, 40, 1053-1055.
- Jiwajinda, S., Santisopasri, V., Murakami, A., Kawanaka, M., Kawanaka, H., Gasquet, M., Eilas, R., Balansard, G., & Ohigashi, H., 2002, *In vitro* anti-tumor promoting and anti-parasitic activities of the quassinoids from *Eurycoma longifolia*, a medicinal plant in Southeast Asia, *Journal of Ethnopharmacology*, 82, 55-58.
- Kanchanapoom, T., Kasai, R., Chumsri, P., Hiraga, Y., & Yamasaki, K., 2001, Canthin-6-one and β -carboline alkaloids from *Eurycoma harmandiana*, *Phytochemistry*, 56, 383-386.
- Kardono, L. B. S., Angerhofer, C. K., Tsauri, S., Padmawinata, K., Pezzuto, J. M., & Kinghorn, A. D., 1991, Cytotoxic and antimalarial constituents of the roots of *Eurycoma longifolia*, *Journal of Natural Products*, 54(5), 1360-1367.
- Low, B. S., Ng, B. H., Choy, W. P., Yuen, K. H., & Chan, K. L., 2005, Bioavailability and pharmacokinetic studies of eurycomanone from *Eurycoma longifolia*,

- Planta Medica*, 71, 803-807.
- Low, W. Y., & Tan, H. M., 2007, Asian traditional medicine for erectile dysfunction, *Journal of Men's Health and Gender*, 4(3), 245-250.
- Marbeger, M., Roehrborn, C. G., Marks, L. S., Wilson, T., & Rittmaster, R. S., 2006, Relationship among Serum Testosterone, Sexual Function, and Response to Treatment in Men Receiving Dutasteride for Benign Prostatic Hyperplasia, *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 91(4), 1323-1328.
- Mills, E., Cooper, C., Seely, D., & Kanfer, I., 2005, African Herbal Medicines in the Treatment of HIV: Hypoxis and Sutherlandia. An overview of evidence and pharmacology, *Nutrition Journal*, 4, 19.
- Morita, H., Kishi, E., Takeya, K., & Itokawa, H., 1992, Biphenylneolignans from wood of *Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, 31, 3993-3995.
- Nash, T., 1953, The colorimetric estimation of formaldehyde by means of the Hantzsch Reaction, *Biochemical Journal*, 55, 416 - 421.
- Noordin, N., Othman, S. N., & Che Mat, R., 2008, Technology implementation barriers in the Malaysian herbal industry: A case study [Online]. [Accessed 10th September 2012]. Available from World Wide Web: <http://www.repo.uum.edu.my/2911/1/Ruzinoor.pdf>
- Purwantiningsih, Hussin, A. H., & Chan, K. L., 2010, Phase I drug metabolism study of the standardised extract of *Eurycoma longifolia* (TAF-273) in rat hepatocytes. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 2:147-152.
- Purwantiningsih, Hussin, A. H., & Chan, K. L., 2011, Herb-Drug Interaction Study of *Eurycoma longifolia* Extract (TAF-273) on Antidiabetic Drug (Rosiglitazone) Metabolism. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*; 4(2):88-92.
- Purwantiningsih, Hussin, A. H., & Chan, K. L., 2012, Sex-Related Alterations of Aminopyrine metabolism by Standardised Extract of *Eurycoma longifolia* (TAF-273), *Acta Alimentaria Hungaria*, 41(3):316-326.
- Purwantiningsih, Hussin, A. H., Chan, K. L., & Ismail S., 2014, Inhibitory Effect of *Eurycoma longifolia* Extract and Eurycomanone on Human Cytochrome P450 Isoforms. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(6):441-444.
- Purwantiningsih, Hussin, A. H., & Chan, K. L., 2015, Effect of Standardized *Eurycoma longifolia* Extract on Rosiglitazone Metabolism in The Old Normal Male Rat Hepatocytes: A Mechanism Study. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 7(2):80-83
- Salman, S. A. B., Amrah, S., Wahab, M. S. A., Ismail, Z., Ismail, R., Yuen, K. H., & Gan, S. H., 2010, Modification of propranolol's bioavailability by *Eurycoma longifolia* water-based extract, *Journal of Clinical Pharmacy and Therapeutics*, 35(6), 691-696.
- Saxena, A., Tripathi, K. P., Roy, S., Khan, F., & Sharma, A., 2008, Pharmacovigilance: Effects of herbal components on human drugs interactions involving Cytochrome P450, *Bioinformation*, 3(5), 198-204.
- Tomar, R., Dhindsa, S., Chaudhuri, A., Mohanty, P., Garg, R., & Dandona, P., 2006, Contrasting Testosterone Concentrations in Type 1 and Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*, 29(5), 1120-1122.
- Wespes, E., 2002, The ageing penis, *World Journal of Urology*, 20, 36-39.
- Zakaria, Y., Rahmat, A., Pihie, A. H. L., Abdullah, N. R., & Houghton, P. J., 2009, Eurycomanone induce apoptosis in HepG2 cells via up-regulation of p53, *Cancer Cell International Journal*, 9(16).
- Zhang, L., Wang, Y., Zou, P., Pan, X., Zhang, H., & Chen, W., 2005, Advances in Clinical Pharmacokinetics of Herbal Medicines, *US-China Medical Sciences*, 2, 59-72.