

## The african leaf extract (*Vernonia amygdalina*): analgesic effect as cyclooxygenase enzyme inhibitor

Ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina*): efek analgesik sebagai inhibitor enzim siklooksigenase

<sup>1</sup>Lenni Indriani, <sup>2</sup>Amalia I, <sup>2</sup>Haspullah NI, <sup>2</sup>Nurwahyuni

<sup>1</sup>Department of Dental Materials

<sup>2</sup>Dental professional student

Faculty of Dentistry, Hasanuddin University

Makassar, Indonesia

Corresponding Author: Lenni Indriani, e-mail: lenniindriyani@unhas.ac.id

### ABSTRACT

Pain is an unpleasant experience that can be a sensory experience that includes time, space and emotions that can be experienced by every individual. One of the drugs used as an analgesic is paracetamol which is non-steroid anti-inflammatory drugs (NSAID) class of drugs. African leaves (*Vernonia amygdalina*) were found to have an analgesic effect or relieve pain due to the presence of flavonoids, tannins and saponins. It can be concluded that the bioactive compounds contained in african leaf extract have an analgesic effect. The analgesic effect is obtained from flavonoids which have activity similar to paracetamol, namely inhibiting the formation of inflammatory mediators through inhibition of the cyclooxygenase enzyme.

**Keywords:** african leaves, *Vernonia amygdalina*, cyclooxygenase enzyme, analgesic effect

### ABSTRAK

Nyeri merupakan suatu pengalaman yang tidak menyenangkan, dapat berupa pengalaman sensorik yang meliputi waktu, ruang dan emosi yang dapat dialami oleh setiap individu. Salah satu obat yang digunakan sebagai analgesik adalah parasetamol yang merupakan obat golongan *non-steroid anti-inflammatory drugs* (NSAID). Daun afrika (*Vernonia amygdalina*) ditemukan memiliki efek analgesik atau meredakan nyeri karena adanya kandungan flavonoid, tanin dan saponin. Disimpulkan bahwa senyawa bioaktif kandungan ekstrak daun afrika memiliki efek analgesik yang didapatkan dari flavonoid yang memiliki aktivitas mirip dengan parasetamol yaitu menghambat pembentukan mediator inflamasi melalui penghambatan enzim siklooksigenase.

**Kata kunci:** daun afrika, *Vernonia amygdalina*, enzim siklooksigenase, efek analgesik

Received: 10 March 2023

Accepted: 1 May 2023

Published: 1 August 2023

### PENDAHULUAN

Nyeri merupakan suatu pengalaman yang tidak menyenangkan dapat berupa pengalaman sensorik yang meliputi waktu, ruang dan emosi yang menyebabkan kerusakan pada jaringan dan dapat dialami oleh setiap individu.<sup>1</sup> Obat yang mengubah sensitivitas nyeri atau menghilangkan nyeri dapat berupa obat antinyeri atau analgesik.

Salah satu obat yang digunakan sebagai analgesik adalah parasetamol yang merupakan obat golongan *non-steroid anti-inflammatory drugs* (NSAID) yang bekerja dengan cara mengasamkan gugus hidroksil 5-lipoksigenase secara selektif sehingga menghambat enzim siklooksigenasi-1 atau COX-1, dan COX-2. Terhambatnya enzim siklooksigenase, juga dapat menghambat sintesis prostaglandin (PGE<sub>2</sub>, PGF<sub>2</sub>), yang menghasilkan efek analgesik, anti-inflamasi, dan antipiretik sehingga mengakibatkan penurunan ambang nyeri.<sup>2</sup>

Obat-obat analgesik yang biasanya digunakan oleh masyarakat adalah dari jenis nonopioid beberapa diantaranya seperti aspirin, asam mefenamat, serta parasetamol; obat analgesik golongan nonopioid tidak bersifat adiktif seperti obat analgesik golongan opioid. Obat-obat analgesik nonopioid memiliki efek samping diantaranya gangguan lambung dan usus, reaksi hipersen-

sitivitas, kerusakan ginjal, dan dapat menyebabkan kerusakan hati bila digunakan dalam dosis yang berlebihan.<sup>3</sup> Oleh karena itu, dicari pengobatan alternatif yang memiliki efek samping lebih ringan salah satunya menggunakan herbal. Masyarakat Indonesia banyak yang percaya dengan pengobatan tradisional lebih aman, mudah didapatkan dan dilakukan.

Obat tradisional Indonesia menjadi salah satu warisan budaya bangsa sehingga perlu dilestarikan, diteliti dan dikembangkan. Salah satu obat herbal yang digunakan masyarakat untuk mengobati nyeri adalah daun afrika (*Vernonia amygdalina*). Daun afrika dikenal dengan nama daun pahit dari Afrika Selatan, yang dibudidayakan sebagai sayuran. Daun afrika mengandung nutrisi dan senyawa kimia yang baik untuk penyembuhan luka diantaranya flavonoid, saponin, tanin, polifenol dan alkaloid. Kandungan gizi lengkap yang terdapat pada daun afrika sangat bagus digunakan pada penyembuhan luka, termasuk luka diabetes, yang dikategorikan sebagai luka kronis. Kandungan flavonoid dan tanin berfungsi sebagai antioksidan, dan saponin sebagai antimikroba pada fase inflamasi, serta alkaloid berfungsi sebagai analgesik untuk mengurangi nyeri pada luka.<sup>4</sup>

Sebuah penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol yang terdapat pada daun afrika memiliki efek analge-

sik atau meredakan nyeri pasca pencabutan gigi kelinci yang dioleskan secara topikal dengan sediaan gel spray karena kandungan flavonoid, tanin dan saponin.<sup>5</sup> Penelitian lain yang menggunakan perasan daun afrika dapat menyembuhkan luka eksisi dan memiliki manfaat diantaranya sebagai antibakteri, anti-inflamasi, analgesik, dan antioksidan karena mengandung flavonoid, alkaloid, saponin dan tannin.<sup>6</sup>

Tulisan ini membahas efek analgesik dari ekstrak daun afrika dalam menghambat enzim siklooksigenase.

## TINJAUAN PUSTAKA

### Inflamasi

Inflamasi merupakan suatu respon akibat cedera jaringan maupun infeksi di dalam sel tubuh. Inflamasi dapat menghancurkan, mengurangi, atau melokalisasi agen yang merusak maupun jaringan yang rusak. Adanya stimulus akan mengakibatkan kerusakan sel, yang akan melepaskan beberapa fosfolipid, salah satunya yaitu asam arakhidonat. Asam arakhidonat bebas akan diaktifkan oleh beberapa enzim, seperti siklooksigenase dan lipooksigenase; keduanya mengubah asam arakhidonat menjadi endoperoksida dan asam hidroperoksida. Endoperoksida kemudian diubah oleh COX-1 menjadi prostaglandin dan selanjutnya diubah menjadi leukotrien yang berfungsi dalam inflamasi. Peroksida akan melepaskan radikal bebas oksigen yang juga berperan dalam timbulnya rasa nyeri.<sup>7-9</sup>

Nyeri adalah sensasi sensorik dan emosi yang tidak menyenangkan yang berhubungan dengan kerusakan jaringan. Nyeri yang disebabkan oleh rangsangan mekanis, kimia atau fisik dapat menyebabkan kerusakan jaringan. Stimulasi ini memicu pelepasan mediator nyeri tertentu, termasuk histamin, bradikinin, leukotrien, dan prostaglandin. Semua mediator nyeri ini merangsang reseptor nyeri ujung saraf bebas di kulit, selaput lendir, dan jaringan lain sehingga menyebabkan reaksi inflamasi. Seringkali nyeri menimbulkan rasa tidak nyaman seperti perih, sensasi terbakar, seperti disengat listrik dan lainnya yang dapat mengganggu kualitas hidup.<sup>3,10</sup>

### Efek analgesik

Analgesik adalah obat yang secara selektif mengurangi nyeri dengan memengaruhi sistem saraf pusat atau mekanisme nyeri perifer tanpa mengubah kesadaran dan memengaruhi penyebabnya.<sup>3,11,12</sup> Analgesik dapat digolongkan opioid dan golongan non-opioid menurut struktur kimia dan cara kerjanya. Analgesik opioid adalah kelompok obat yang memiliki sifat-sifat seperti opium atau morfin, biasa digunakan untuk meredakan atau menghilangkan rasa nyeri seperti pada fraktur dan kanker. Obat analgesik non-opioid (analgesik perifer) adalah obat yang tidak bersifat narkotik dan tidak bekerja sentral. Penggunaan analgesik non-opioid

dapat meringankan bahkan menghilangkan rasa sakit tanpa memberikan efek pada SSP, penurunan kesadaran, dan efek adiksi pada penggunaannya. Golongan non-opioid terdiri atas golongan salisilat, asam asetat, inhibitor COX-2, fenamat, asam propionat, asetaminofen, dan pirazolon.<sup>12,13</sup>

Penggunaan analgesik dalam jangka waktu lama dapat memberikan efek samping seperti gangguan lambung, kerusakan organ hati, ginjal, dan usus, serta reaksi alergi pada kulit, sehingga diperlukan pengobatan alternatif menggunakan bahan alami.<sup>14</sup>

### Ekstrak daun afrika

Masyarakat Indonesia sudah mengenal tanaman obat yang sejak dulu telah dilaporkan memiliki efek terapeutik pada berbagai penyakit. Namun pengetahuan tentang khasiat dan keamanan obat alami ini sebagian besar bersifat empiris dan belum diverifikasi secara ilmiah.<sup>15</sup>



Gambar 1 Daun afrika Sumber: Bestari R. 2021

Sampai saat ini penanganan dengan obat tradisional lebih digemari masyarakat karena mudah diperoleh dan ekonomis, selain penggunaannya dianggap lebih aman dibandingkan obat kimia. Hal ini karena obat tradisional memiliki efek samping yang relatif lebih sedikit jika digunakan secara tepat. Salah satu tumbuhan yang biasa dipakai sebagai obat tradisional adalah daun afrika.<sup>16,17</sup>

Daun afrika merupakan spesies tanaman asli negara di Afrika yang cukup banyak digunakan dalam berbagai pengobatan tradisional. Tumbuhan ini tidak menghasilkan biji, sehingga dibudidayakan dengan cara stek batang, biasa hidup liar dan ditemukan di sebagian besar sistem drainasetropis, perkebunan komersil, dan hutan.<sup>18</sup>

Pada daun afrika terdapat berbagai senyawa yang telah berhasil diidentifikasi seperti flavonoid, alkaloid, saponin, tanin, glikosida sianogenik, dan fenol. Senyawa inilah yang menjadikannya memiliki efek antibakteri, antiinflamasi, analgesik, dan antioksidan.<sup>18,19</sup>

### Flavonoid

Flavonoid merupakan senyawa metabolit sekunder dari polifenol yang bersifat polar. Flavonoid berperan sebagai agen anti-inflamasi dengan menghambat pelepasan asam arakhidonat dan sekresi enzim lisosom dari sel netrofil dan sel endotel. Reaksi inflamasi akan dipersingkat, penyembuhan, dan kolagenisasi akan dipercepat. Selain itu, flavonoid juga berperan sebagai antioksidan dengan cara menonaktifkan radikal bebas atau memperkuat fungsi antioksidan endogen atau enzimatik.<sup>20</sup>

### Alkaloid

Alkaloid merupakan senyawa yang mengandung setidaknya satu atom nitrogen dalam struktur cincin heterosiklik. Alkaloid berperan sebagai antimikroba dan antioksidan.<sup>20</sup>

### Saponin

Saponin merupakan jenis glikosida yang mengandung mono/oligosakarida yang terikat dengan aglikon. Saponin berperan sebagai antiseptik, merangsang proliferasi sel epidermis dan mempengaruhi kecepatan migrasi keratinosit ke area luka, sehingga meningkatkan epitelisasi luka. Saponin juga dapat merangsang produksi kolagen tipe I yang berperan dalam peningkatan epitelisasi dari jaringan dan penutupan luka dengan menghambat produksi jaringan yang berlebih.<sup>20</sup>

### Tanin

Tanin merupakan golongan senyawa polifenol yang terdiri dari cincin benzena yang terikat pada gugus hidroksil. Tanin bertindak sebagai astringen yang menyebabkan pori-pori kulit mengecil, menghentikan pendarahan ringan, meningkatkan kontraksi luka dan penutupan luka. Selain itu, Tanin juga berperan sebagai agen antimikroba dan antioksidan untuk melindungi dan mencegah area luka dari kerusakan akibat radikal bebas serta menghambat pertumbuhan bakteri patogen.<sup>20</sup>

### Fenol

Fenol atau hidrosibenzena merupakan senyawa fitokimia yang memiliki gugus hidroksil yang terikat pada inti karbosiklik aromatik. Polifenol berperan sebagai antioksidan dengan cara menghambat peroksidasi lipid, sehingga mencegah, memperlambat nekrosis seluler, dan meningkatkan vaskularisasi di area luka.<sup>20</sup>

### Glikosida

Glikosida adalah senyawa yang terdiri atas satu atau lebih glukosa yang berikatan dengan glikon melalui ikatan glikosidik. Glikosida bertindak sebagai astringen, agen antibakteri dan memiliki kemampuan untuk meningkatkan proliferasi fibroblas.<sup>2</sup>

## PEMBAHASAN

Studi kasus terkait efek analgesik daun afrika menunjukkan perbedaan efek pada masing-masing dosis. Penelitian menggunakan hewan uji tikus yang telah diinduksi oleh asam asetat secara intraperitoneal untuk memberikan rasa nyeri. Penelitian menemukan bahwa dengan memberikan dosis yang berbeda, daun afrika juga menunjukkan efek analgesik yang berbeda. Dalam hal ini, uji *writhing test* dan *tail flick test* dapat digunakan untuk melihat efek analgesik perifer dan sentral daun afrika.

Penelitian oleh Kartikawati, dkk. mengungkapkan bahwa dosis 1500 mg/kgBB merupakan dosis terbaik dibandingkan dosis perlakuan lainnya antara signifikansi 0,00 untuk memberikan efek analgesik.<sup>21</sup> Tijani, dkk. mendapatkan bahwa dosis 200 mg, 400 mg, dan 600 mg menunjukkan aktivitas analgesik yang signifikan ( $p < 0,05$ ).<sup>22</sup> Penelitian oleh Delisma, dkk. dan Adedapo, dkk. menunjukkan hasil yang sama yaitu dengan memberikan dosis 100 dan 200 mg/kg BB, daun afrika memiliki aktivitas sebagai analgetika perifer yang signifikan relatif terhadap obat standar, serta dengan dosis 400 mg/kg BB memiliki aktivitas sebagai analgetika sentral.<sup>23,24</sup> Selain itu, penelitian oleh Liu, dkk. juga mendapatkan bahwa pemberian dosis sebanyak 7,5 mg nanopartikel ZnO menunjukkan pelintiran kental yang mirip dengan efek tikus yang diberi perlakuan diklofenak.<sup>25</sup>

Daun afrika mengandung senyawa bioaktif seperti flavonoid, alkaloid, saponin, dan tanin. Senyawa bioaktif tersebut larut dalam pelarut yaitu; etanol, aseton, dan air yang digunakan untuk protokol ekstraksi. Kandungan steroid, tanin, flavonoid, dan alkaloid ekstrak etanol daun afrika menunjukkan aktivitas analgesik dan antipiretik.<sup>26</sup>

Senyawa bioaktif daun afrika dilaporkan menunjukkan aktivitas antioksidan. Antioksidan mampu menghambat tindakan merusak dari *reactive oxygen and nitrogen species* (RONS). Dalam proses tersebut, antioksidan memberi efek protektif terhadap jaringan target serta komponen seluler dari kerusakan oksidatif.<sup>6</sup> Salah satu antioksidan yang terkandung dalam ekstrak daun afrika merupakan metabolit sekunder dari golongan flavonoid. Senyawa flavonoid ini memiliki aktivitas yang mirip dengan parasetamol yaitu menghambat pembentukan mediator inflamasi melalui penghambatan enzim siklooksigenase.<sup>5,27</sup> Flavonoid adalah antioksidan yang lebih kuat dibandingkan dengan vitamin C.<sup>28</sup>

Sebuah penelitian menunjukkan kemampuan daun afrika dalam mengurangi jumlah episode menggeliat hewan uji dengan penghambatan yang signifikan dari nosisepsi visceral yang diinduksi oleh asam asetat. Mekanisme yang mungkin terjadi yaitu efek pemblokiran oleh ekstrak atau pelepasan zat endogen dalam hal ini termasuk mediator inflamasi seperti prostaglandin E2 dan prostaglandin F2 yang merangsang ujung saraf nyeri.<sup>29</sup> Daun Afrika juga memiliki kandungan tanin yang bersifat analgesik dan anti-inflamasi melalui inhibitor COX-1.<sup>5</sup>

Penelitian menunjukkan efek analgesik sentral dan perifer dari ekstrak daun afrika terhadap hewan coba dengan uji formalin dan *writhing test* yang diinduksi oleh asam asetat.<sup>30</sup> Ekstrak air daun afrika (100 dan 200 mg/kg) terlihat secara signifikan menurunkan jumlah *writhes*. Ekstrak menunjukkan efek analgesik yang sig-

nifikan dibandingkan dengan obat standar yaitu indometasin.<sup>31</sup>

Disimpulkan bahwa senyawa bioaktif yang terkandung dalam ekstrak daun afrika memiliki efek anal-

gesik. Efek analgesik didapatkan dari flavonoid yang memiliki aktivitas yang mirip dengan parasetamol yaitu menghambat pembentukan mediator inflamasi melalui penghambatan enzim siklooksigenase.

#### DAFTAR PUSTAKA

1. Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Pedoman Nasional Pelayanan Kedokteran Tata Laksana Nyeri; 2018: 12.
2. Day OR, Graham GG. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Br J Sports Med 2013; 48(18):1-2.
3. Vivaldi AS, Zakiah RO. Tingkat pengetahuan masyarakat terhadap obat analgesik pada swamedikasi untuk mengatasi nyeri akut. Jurnal Ilmiah Kesehatan Sandi Husada 2019; 10(2): 156,158.
4. Frisca RD, Mobalen O. The effectiveness of modern dressing with a combination of african leaf nanoparticle hydrogel and papuan honey for grade II diabetic wound healing. Jurnal Riset Kesehatan 2022; 11(2): 97.
5. Achmad H, Yusran A, Tenri AN, Wijayanti AE, Rosa RA. Usage of asian african leaf (*Vernonia amygdalina*) as analgesic during post tooth extraction in rabbit (*Rattus norvegicus*) in vivo gel spray form. Nat Volatiles Essent Oils 2021; 8(5):2214-25.
6. Nafiu AB, Akinwale OC, Owolaye BV. Histomorphological evaluation of wound healing-comparison between use of honey and *Vernonia Amygdalina* leaf juice. Trop J Health Sci 2016; 23(3): 10-1.
7. Fitriyanti, Hikmah N, Astuti Ki. Efek antiinflamasi infusa bunga asoka (*Ixora Coccinea* L) pada tikus jantan yang diinduksi karagenan. Jurnal Sains dan Kesehatan 2020; 2(4):355
8. Ramadhani N, Sumiwi SA. Aktivitas antiinflamasi berbagai tanaman diduga berasal dari flavonoid. Farmaka Suplemen 2016; 14(2):113
9. Tjay TH, Rahardja K. Obat-obat penting: khasiat, penggunaan dan efek samping, Edisi VI. Jakarta: PT. Elex Media Komputindo. 2007
10. Bakarbesy W, Wullur AC, Astuty WI. Uji efek analgesik ekstrak etanol daun sukun (*Artocarpus altilis*) pada tikus putih galur wistar (*Rattus Norvegicus*). Jurnal Ilmiah Farmasi 2016; 5(2):221
11. Rahel BL, Erina SA, Retno RJ. Gambaran penggunaan obat analgetik secara rasional dalam swamedikasi pada masyarakat PKS Balam, Desa Balai Jaya Km. 31 Kecamatan Balam Sempurna, Kabupaten Rokan Hilir, Riau. NJM 2021; 6(2):53-4
12. Ratnawulan SM, Husni P. Pemberian pemahaman mengenai penggunaan obat analgesik secara rasional pada masyarakat di Arjasari Kabupaten Bandung. Dharmakarya: Jurnal Aplikasi Ipteks untuk Masyarakat 2017; 6(3):193-4
13. Mardhiyahn T, Cholid M, Yusuf M. Studi retrospektif: profil penggunaan obat analgesik pada pasien pascatonsilektomi di Departemen SMF THT-KL RSUD Dr. Soetomo Surabaya Tahun 2015-2016. Jurnal Anestesiologi Indonesia 2021; 13(1):4
14. Wardani IG, Putra IM, Adrianta KA, Udayani NN. Efektivitas analgesik ekstrak etil asetat daun kersen (*Muntingia calabura* L) pada mencit putih (*Mus musculus*) dengan metode rangsangan panas (hot plate method). Jurnal Ilmiah Medicamento 2021; 7(1): 8-12.
15. Auliah N, Aprianto LA, Thalib M. Uji efek analgetik ekstrak etanol daun nangka (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) terhadap mencit (*Mus Musculus*) yang diinduksi asam asetat. Jurnal Riset Kefarmasian Indonesia 2019; 1(2):104-5
16. Susianto P, Triswanto S. Uji efek analgetik ekstrak etanol daun kersen (*Muntingia calabura*) pada mencit jantan (*Mus Musculus*) dengan induksi nyeri asam asetat. Jurnal Ilmiah Manungtung 2016; 2(2):147
17. Rima YK, Widyani AK. Review artikel: potensi analgesik ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina* L). Journal Transformation of Mandalika 2023; 4(1):64
18. Bestari R. Senyawa fitokimia dan aktivitas farmakologis daun afrika (*Vernonia amygdalina* Del.) sebagai kandidat obat herbal. Jurnal Kedokteran Sains dan Teknologi Medik 2021; 4(1):63-5
19. Putriani R, Triakoso N, Nurwartanti YM, Sari YI, Sahrial HI, Faisal F. Efektivitas ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina*) secara topikal untuk reepitelisasi penyembuhan luka insisi pada tikus putih (*Rattus norvegicus*). Jurnal Medik Veteriner 2019; 2(1):31
20. Akhmadi C, Utami W, Annisa E. Narrative review: senyawa fitokimia dan aktivitas farmakologi family basellaceae sebagai obat luka. J Res Pharm 2022; 2(2):79-82
21. Kartikawati E, Deswati DA, Mahardika A. Uji efek analgetik ekstrak daun afrika (*Vernonia amygdalina* D) pada mencit jantan putih galur swiss webster. Jurnal Sabdariffarma 2021; 9(2):8-14.
22. Tijjani MA, Mohammed GT, Alkali YT, Adamu TB, Abdurahman FI. Phytochemical analysis, analgesic and antipyretic properties of ethanolic leaf extract of *Vernonia amygdalina* Del. J Herbmed Pharmacol 2017; 6(3):95-9.
23. Delisma C, Fitriyaningsih SP, Suwendar S. Uji aktivitas analgetika ekstrak n-heksana daun afrika (*Vernonia amygdalina Delile*) terhadap mencit swiss webster jantan. J Ilm Farm Farmasyifa 2017; 1(1):26-34.
24. Adedapo AA, Aremu OJ, Oyagbemi AA. Anti-oxidant, anti-inflammatory and antinociceptive properties of the acetone leaf extract of *Vernonia amygdalina* in some laboratory animals. Adv Pharm Bull 2014; 4(Suppl 2):591-8.
25. Liu H, Kang P, Liu Y, An Y, Hu Y, Jin X, et al. Zinc oxide nanoparticles synthesised from the *Vernonia amygdalina* shows the anti-inflammatory and antinociceptive activities in the mice model. Artif Cells. Nanomedicine Biotechnol 2020; 48(1):1068-78.
26. Chikezie M. Bioactive compounds and medicinal usefulness of edible leaves of *Vernonia Amygdalina*, *Ocimum Gratissimum*, *Piper Guineense* And *Gongronema Latifolium*. Saj Pharm Pharmacol Rev 2021; 7(1).
27. Rathee P, Chaudhary H, Rathee S, Rathee D, Kumar V, Kohli K. Mechanism of action of flavonoids as anti-inflammatory agents: a review. Inflammation & Allergy - Drug Targets 2009; 8(3):229-35.
28. Ruslim AK, Anitasari S, Ismail S, Oli EM, Yani S. Effect of african leaves extract (*Vernonia Amygdalina* Del) on wound healing velocity after tooth extraction in *Rattus norvegicus*. Jurnal Sains dan Kesehatan 2017; 1(8):408-14.
29. Njan AA, Adzu B, Agaba AG, Byarugaba D, Llera SD, Bangsberg DR. The analgesic and antiparasitodal activities and toxicology of *Vernonia amygdalina*. J M Food 2008; 11(3):574-81.
30. Nuryanto MK, Paramita S, Iskandar A. Aktivitas anti-inflamasi in vitro ekstrak etanol daun *Vernonia Amygdalina* Delile dengan pengujian stabilisasi membran. J Sains Dan Kesehat 2018; 1(8):402-7.
31. Khoo LW, Audrey KS, Lee MT, Tan CP, Shaari K, Tham CL, et al. A comprehensive review on phytochemistry and pharmacological activities of *Clinacanthus Nutans* (Burm. F.) Lindau. Evidence-Based Complement Altern Med 2018; (3):2629-36.