

Aktivitas *Iron Chelator* Ekstrak Etanol Dan Fraksi Daun Putri Malu (*Mimosa pudica* L) Terhadap Pasien Talasemia Menggunakan Metode Fic (*Ferrous Ion Chelating*)

M Wahyu Ariawan^{1*}, Ana Indrayati², Supriyadi²

¹Program Studi Farmasi, Sekolah Tinggi Ilmu Kesehatan Adila, Bandar Lampung, Indonesia

²Fakultas Farmasi, Universitas Setia Budi, Surakarta, Indonesia

Article info	Abstract
History Submission: 15-04-2022 Review: 02-06-2022 Accepted: 22-07-2022	<i>Thalassemia is a genetic disease caused by a deficiency of the and globin chains that make up hemoglobin. This study aims to determine the content of mimosine compounds and the optimum concentration of mimosine in Mimosa pudica L as an iron chelating agent in thalassemia patients in vitro. The research was initiated by extracting and fractionating the leaves of Putri malu. then tested ferritin levels using the Ferrous Ion Chelating (FIC) test. The test was carried out three times. Furthermore, the ferritin content was calculated using an ELISA reader. The final step is to measure mimosine levels. Mimosine with a concentration of 500 ppm has iron chelating activity with a percentage decrease in ferritin levels of 84.48%. The n-hexane fraction with a concentration of 500 ppm had iron chelating activity with a decrease in ferritin activity of 81.27%.</i>
*Email: mwahyua31@gmail.com	
DOI: 10.33096/jffi.v9i2.838	
Keywords: <i>Mimosa pudica</i> L; mimosine; ferrous ion chelating assay; blood serum; HPLC	

I. Pendahuluan

Tranfusi darah pada penderita talasemia merupakan pengobatan yang utama. Tranfusi darah diberikan seumur hidup dalam rentang waktu 2-3 bulan. Penatalaksanaan tranfusi darah secara terus-menerus menyebabkan tingginya kadar besi di dalam organ tubuh pasien. Penimbunan besi dalam tubuh ini dikenal dengan istilah *iron overload* (IO). *Iron overload* (IO) dapat menyebabkan pemberian tranfusi darah berulang dan terjadinya peningkatan absorpsi besi di usus akibat eritropoiesis yang tidak efektif. (Geneva, 2002).

Pengkelatan adalah proses beberapa zat kimia yang memiliki kemampuan untuk mengikat logam seperti logam Fe, tembaga, dan logam transisi lainnya berperan dalam reaksi fenton yang menghasilkan radikal bebas yang sangat reaktif (Valko *et al.*, 2007). Hal ini juga bisa menyebabkan terjadinya *Reactive Oxygen Species* (ROS) atau yang disebut radikal hidroksil dan radikal superoksida yang dapat menginisiasi proses peroksidasi lipid yang menyebabkan berbagai penyakit degeneratif bahkan dapat menyebabkan kanker (Suryohudoyo, 1993).

Agen kelator yang sering digunakan adalah *deferioxamine*. Akan tetapi, penggunaan *deferioxamine* menyebabkan efek samping seperti gangguan penglihatan, pendengaran, kardiovaskular, pencernaan, hematologi, hati, saraf dan muskuloskeletal (Herdata, 2008). Selain itu, *deferioxamin* memiliki harga yang mahal (Djajiman, 2007).

Tumbuhan putri malu merupakan tanaman perdu yang sering dijumpai dan tumbuh liar. Penelitian sebelumnya menyebutkan Daun tanaman putri malu

digunakan sebagai antihiperlipidemia, antiulser, antidiare, antikonfusan, sitotoksik, dan hepatoprotektor. Akar tanaman berfungsi untuk mengobati demam, penyakit kuning, lepra, disentri, gangguan vagina dan uterus, radang, sensasi terbakar, kelelahan, asma, dan penyakit darah (Suhendra, 2009).

Penelitian yang dilakukan oleh Azmi pada tahun 2011 dan Felisa pada tahun 2015 menyebutkan bahwa daun putri malu mengandung senyawa kimia mimosin yang, memiliki efek kelasi terhadap besi. Mimosin memiliki beberapa efek farmakologi yaitu antidiabetes, antihepatotoksin, antioksidan, antiepilepsi, antitumor (Azmi, Singh and Akhtar, 2011) (Felisa *et al.*, 2015).

Mimosin memiliki berbagai aktivitas farmakologi seperti antibakteri, antiinflamasi, antidepresi, antipiretik, antiulser, antimalaria, antispasmodik, analgesic, antimalaria, *wound healing activity* (George J, 2016). penelitian lain menyebutkan Mimosin mampu menghambat metabolisme folat, DNA, proliferasi sel kultur, dan pertumbuhan sel tumor *in vivo*, induksi (Chang *et al.*, 2000) (George J, 2016).

Tujuan penelitian ini adalah untuk mengetahui aktivitas *iron chelator* ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun putri malu (*Mimosa pudica* L) dengan metode *Ferrous Ion Chelating* (FIC) untuk melihat potensinya dalam mengkelat logam, terutama logam yang bervalensi 2.



II. Metode Penelitian

II.1 Bahan

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah etanol 96%, pelarut *n*-heksan, pelarut etil asetat, air, NaCl 0,9%, ferritin kit merk calbiotech, standart feritin, reagen biotin, reagen *feritin Enzyme*, substrat TMB (*Tetramethylbenzidine*), larutan pencuci, ferro sulfat, standard mimosin (Sigma-Aldrich).

Sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah daun putri malu secara acak, tidak terlalu tua dan tidak terlalu muda dan tidak rusak. Bahan yang digunakan adalah daun putri malu yang diambil dari tanaman putri malu.

II.2 Ekstraksi

Ekstraksi daun putri menggunakan metode maserasi dengan cara perendaman serbuk daun putri malu menggunakan pelarut etanol 96%. serbuk daun putri malu ditimbang 1 kg selanjutnya dilakukan maserasi menggunakan pelarut etanol 96% sebanyak 10 L perbandingan (1:10), direndam selama 6 jam pertama sesekali digojok. Kemudian didiamkan selama 18 jam. Maserat dipisahkan dengan cara filtrasi. Dilakukan pengulangan proses penyarian sekurang-kurangnya satu kali dengan jenis pelarut yang sama dan jumlah volume pelarut sebanyak setengah kali jumlah volume pelarut pada penyarian pertama. Maserat yang terkumpul, kemudian diuapkan dengan penguap vakum atau penguap tekanan rendah hingga diperoleh ekstrak kental.

II.3 Fraksinasi

Fraksinasi dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol sebanyak 20 gr. Disuspensikan dalam akuadest 100 ml. ditambahkan *n*-heksan 100 ml. Campuran ekstrak dikocok selama 5 menit, hingga terbentuk dua lapisan selanjutnya dipisahkan lapisan yang terbentuk. Proses diulang hingga fraksi *n*-heksan menjadi jernih atau warna terlihat konstan. Residu fraksi *n*-heksan ditambahkan dengan 100 ml etil asetat, dikocok selama 5 menit, diadkan hingga terbentuk dua lapisan. Kemudian dipisahkan, Fraksi dipekatkan dengan rotary evaporator pada suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$ kecepatan 70 rpm hingga pelarut menguap, dilanjutkan pengeringan menggunakan oven pada suhu $40 \pm 2^\circ\text{C}$.

II.4 Persiapan Serum Darah

II.4.1 Pengambilan Sampel Darah

Sampel darah sebanyak 6 ml disimpan dalam tabung yang bersih. Darah yang digunakan adalah darah pasca transfusi karena pada saat setelah transfusi maka kadar feritin didalam tubuh akan meningkat selanjutnya akan dipisahkan menjadi serum darah.

II.4.2 Pemisahan Serum Darah dan Pengukuran Kadar Feritin

Sampel darah sebanyak 6 ml dimasukkan ke dalam tabung yang bersih, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm selama 15 menit hingga terbentuk dua lapisan. Lapisan jernih berwarna kuning dibagian atas adalah serum. Bagian yang diambil yaitu serum karena serum dalam darah mengandung protein, *feritin antibody*. Serum diambil menggunakan pipet kemudian dipindahkan ke dalam tabung lain yang bersih dan kering. Serum akan diukur kadar feritinnya dengan metode ELISA (*Enzyme Linked Immunosorbent Assay*).

III. Hasil dan Pembahasan

Tanaman daun putri malu *Mimosa pudica* L yang digunakan sebagai bahan penelitian dideterminasi terlebih dahulu. Tanaman daun putri malu *Mimosa pudica* L yang digunakan sebagai bahan penelitian dideterminasi terlebih dahulu. Daun putri malu yang diambil untuk penelitian ini adalah daun yang masih segar, berwarna hijau tidak terlalu muda, tidak terlalu tua dan tidak rusak. Daun putri malu yang digunakan sebanyak 15 kg. Daun putri malu kemudian diolah melalui proses pencucian, sortasi basah, pengeringan, sortasi kering, dan penyerbukan serta pengayakan serbuk daun putri malu sebanyak 1,2 kg, sehingga diperoleh persentase berat kering terhadap berat basah adalah 20,83%. Daun putri malu selanjutnya diserbuk untuk memperkecil ukuran partikel sehingga memperluas permukaan partikel akibatnya proses ekstraksi dapat berlangsung efektif. Pada perbandingan berat serbuk terhadap berat daun kering didapatkan rendemen sebesar 52%. Semakin tinggi nilai rendemen maka hasilnya akan semakin lebih bagus. Serbuk daun putri malu sebanyak 20 g, diukur kadar airnya dengan alat *Sterling Bidwell* menggunakan pelarut toluene.

Persyaratan kadar air serbuk simplisia yaitu kurang dari 10%. Penetapan kadar air serbuk daun putri malu dimaksudkan agar kualitas dan khasiat daun dapat terjaga, persyaratan kadar air suatu serbuk daun putri malu adalah tidak boleh lebih dari 10% (Depkes RI, 2013). Hasil penetapan kadar air serbuk daun putri malu dapat dilihat pada Tabel 1.

Tabel 1. Hasil Penetapan Kadar Air Serbuk Daun Putri Malu

No	Bobot serbuk (gram)	Volume terukur (mL)	Kadar air (%)
1	20	1,20	6,0
2	20	1,50	7,50
3	20	1,30	6,50
Rata-rata			6,67

Hasil perhitungan penetapan kadar air serbuk daun putri malu rata-rata sebesar 6,67%. Hal ini menunjukkan bahwa serbuk daun putri malu memenuhi persyaratan kadar air karena kurang dari 10%. Kadar air serbuk daun putri malu tidak lebih dari 10% artinya kadar air yang diperbolehkan dalam simplisia untuk

menghambat pertumbuhan jamur dan aktivitas enzim adalah kurang dari 10%.

Penelitian ini menggunakan daun putri malu yang diekstraksi dengan cara maserasi dingin menggunakan pelarut etanol 96%. Ekstrak yang diperoleh dipekatkan dan dihitung rendemennya, hal ini untuk mengetahui besarnya ekstrak kental yang diperoleh dan untuk memperkirakan jumlah ekstrak yang akan digunakan dalam uji selanjutnya. Bobot ekstrak kental sebesar 69,98 g, sehingga hasil rendemen yang diperoleh 13,99%. Rendemen yang diperoleh 13,99% artinya perbandingan jumlah ekstrak yang dihasilkan dari ekstraksi tanaman, semakin besar nilai rendemen yang dihasilkan nilai ekstrak yang dihasilkan semakin banyak. Metode maserasi merupakan salah satu teknik penyaringan yang dilakukan dengan cara merendam serbuk simplisia di dalam cairan penyari. Cairan penyari akan menembus dinding sel dan masuk ke dalam rongga sel yang mengandung zat aktif. Zat aktif akan melarut karena adanya perbedaan konsentrasi antara larutan zat aktif di dalam sel dan di luar sel, maka larutan yang paling pekat akan terdesak keluar. Pelarut yang digunakan yaitu pelarut etanol 96%. Etanol digunakan karena termasuk pelarut universal yang

Tabel 2. Persentase rendemen Fraksi

Fraksi	Berat fraksi (g)	Berat ekstrak (g)	Rendemen (%)
Fraksi <i>n</i> -Heksan	3	20	15,3%
Fraksi Etil Asetat	3	20	10,2%
Fraksi Air	1	20	5,4%

Penentuan kadar senyawa terlarut dalam pelarut air dan etanol. Hasil penelitian menunjukkan kadar senyawa yang terlarut air rata-rata sebesar 69,471% dan kadar senyawa terlarut dalam etanol sebesar 73,740%. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa yang terlarut dalam pelarut etanol tidak hanya senyawa polar saja beberapa senyawa bersifat semipolar. Susut pengeringan ekstrak daun putri malu adalah 7,17 %. Menurut (Depkes RI, 1979) proses reaksi enzimatik di dalam sel ini terjadi pada tumbuhan dengan susut pengeringan lebih dari 10% sehingga dapat dikatakan ekstrak daun putri malu memenuhi persyaratan susut pengeringan.

Hasil identifikasi senyawa kimia menunjukkan bahwa serbuk dan ekstrak etanol daun putri malu mengandung saponin, tanin flavonoid dan alkaloid. Hasil uji fitokimia ekstrak dan fraksi-fraksi daun putri malu (*Mimosa pudica* L) menggunakan reagen dapat diketahui bahwa ekstrak tanaman putri malu positif mengandung senyawa flavonoid, alkaloid, terpenoid, saponin dan tanin.

Analisa profil KLT menunjukkan fraksi etil asetat diduga mengandung alkaloid mimosin karena menunjukkan warna noda yang sama dan mempunyai nilai R_f sama (hamper sama) dengan standar mimosin. Plat KLT terlihat kurang jelas dibawah sinar tampak sedangkan dibawah UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366 nm terlihat jelas setelah disemprot pereaksi Dragendorff. Pada fraksi air tidak menunjukkan adanya noda yang sama dengan standar mimosin jika dilihat

mampu menarik sebagian besar senyawa dalam simplisia, bersifat tidak toksik bila dibandingkan dengan metanol sehingga dapat digunakan baik untuk uji *in vitro* maupun *in vivo*. Penggunaan etanol 96% sering dapat menghasilkan suatu bahan aktif yang optimal, dimana bahan pengotor hanya dalam skala kecil turut dalam penyarian (Voight, 1995).

Proses pembuatan fraksi terlebih dahulu dilakukan dengan cara menimbang ekstrak etanol daun putri malu sebanyak 20 gram. Pelarut yang digunakan yaitu pada proses fraksinasi ini adalah *n*-heksan, etil asetat, dan air. Pelarut air digunakan karena air memiliki sifat polar dimana air dapat melarutkan senyawa-senyawa yang bersifat polar pada ekstrak etanol daun putri malu ini. Pada hasil rendemen yang didapatkan (Tabel 2) berat fraksi *n*-heksan adalah sebanyak 15% b/b. Rendemen fraksi etil asetat didapatkan sebanyak 10% b/b. Untuk hasil rendemen fraksi air didapatkan hasil rendemen sebesar 5% b/b. Semakin besar persentase berat rendemen maka semakin baik hasilnya.

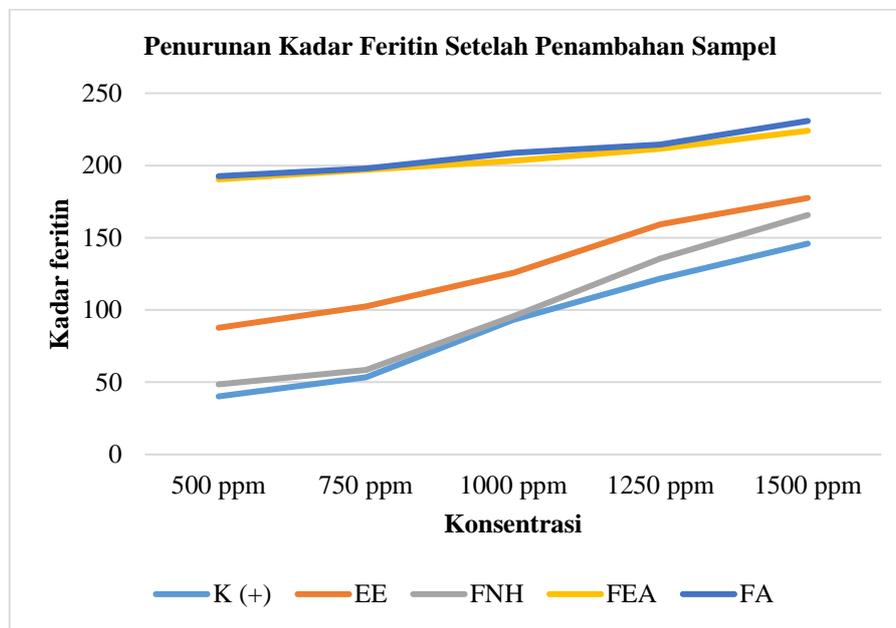
pada sinar UV dengan panjang gelombang 254 nm dan 366nm. Hal ini dapat disimpulkan bahwa fraksi etil asetat dan fraksi *n*-heksan dicurigai mengandung mimosin karena memiliki nilai R_f mendekati R_f senyawa murninya yaitu mimosin.

Pengambilan sampel darah berupa serum darah pasien thalasemia β mayor diambil dari seorang penderita thalasemia. Hasil pemeriksaan feritin serum darah pasien thalasemia β mayor adalah sebesar 2031 ng/ml nilai tersebut melebihi nilai normal feritin untuk perempuan dewasa. Rentang kadar feritin untuk anak usia 6 bulan sampai 15 tahun adalah 14 - 124 ng/ml, laki-laki umur 20–60 tahun adalah 30–400 ng/ml, wanita umur 17–60 tahun adalah 15–150 ng/ml dan laki-laki atau perempuan umur 60–90 tahun adalah 15–650 ng/ml (Ashley, 2012). Feritin menggambarkan cadangan besi di dalam tubuh yang disimpan didalam limpa, hati dan sumsum tulang (Andrews, 2004). Kadar feritin yang tinggi disebut juga *iron overload* pada pasien thalasemia β mayor disebabkan karena tranfusi darah rutin yang menyebabkan akumulasi besi di dalam jaringan dan organ. Penimbunan besi yang berlebih di dalam organ dapat menyebabkan kerusakan jaringan dan disfungsi organ (Priyatningsih, 2010).

Aktivitas ekstrak etanol dan fraksi-fraksi daun putri malu kelompok uji terhadap penurunan feritin akan dibandingkan dengan kontrol negatif yaitu serum darah tanpa penambahan fraksi atau ekstrak etanol dan kontrol positif yaitu serum darah ditambah larutan standar

mimosin pada beberapa seri konsentrasi. Pemilihan konsentrasi kelompok uji berdasarkan penelitian Andreu *et al* (2020) pada konsentrasi 0,5 mg/ml (500 ppm) mimosin dapat mengikat kadar besi serta mengurangi kadar besi di dalam darah secara *in vitro* dan tidak lebih dari 5 mg/ml (5000 ppm) standar mimosin dapat

melindungi kerusakan DNA karena pengikatan oleh 10 μM besi secara *in vitro*. Menurut (Jaya, 2010) melaporkan konsentrasi ekstrak air 500 ppm mimosin dapat menurunkan kadar feritin serum darah pasien thalasemia yang diukur menggunakan metode spektrofotometri UV Vis.



Gambar 1. Kadar Feritin Dalam Serum Darah

Keterangan: K (+) kontrol positif standar mimosin, (EE) ekstrak etanol daun putri malu, (FEA) fraksi etil asetat, (FNH) fraksi *n*-heksan, (FA) fraksi air

Berdasarkan hasil pengukuran kadar feritin pada kelompok uji pada Gambar 1 menunjukkan bahwa kelompok uji *n*-heksan dengan konsentrasi 500 ppm dengan hasil setelah perlakuan sebesar 48,51 ng/ml menunjukkan adanya penurunan kadar feritin tertinggi dibandingkan dengan konsentrasi 1500 ppm setelah perlakuan sebesar 224,03 ng/ml. Semakin tinggi konsentrasi maka kemampuan aktivitas pengkhelat besi semakin rendah. Semakin tinggi konsentrasi menyebabkan semakin rendahnya aktivitas karena kandungan mimosin dalam sample semakin sedikit. Mimosin sendiri merupakan suatu analog tirosin yang mengandung domain pengikat logam, sehingga mimosin mampu mengkelat logam transisi seperti Fe^{3+} . Mekanisme *Iron overload* berdasarkan pada tingginya kadar feritin dalam darah karena Fe^{3+} berlebih di dalam tubuh mengikat porfirin menjadi protein feritin sebagai cadangan besi dalam tubuh. Kondisi ini adalah kondisi dimana kadar feritin di dalam darah di atas 1000 ng/ml (Fajri, 2018). Besarnya aktivitas kelompok uji terhadap penurunan kadar feritin dinyatakan dengan persentase penurunan feritin yang menggambarkan besarnya persentase kelompok uji yang dapat menurunkan kadar feritin dalam serum darah pasien thalasemia β mayor (Bulan, 2012). Besarnya nilai penurunan feritin diketahui bahwa dari ke 5 kelompok uji tersebut, fraksi *n*-heksan dan kontrol positif yaitu mimosin memiliki

nilai persentase penurunan feritin tertinggi terhadap penurunan kadar feritin pada semua seri konsentrasi dibandingkan dengan ekstrak etanol dan fraksi etil asetat, dan fraksin air. Fraksi *n*-heksan dengan konsentrasi 500 ppm memiliki aktivitas tertinggi yang hampir sama dengan kontrol positif, akan tetapi memiliki nilai persentase penurunan kadar feritin yang lebih rendah dibandingkan dengan standar mimosin sebagai kontrol positif pada semua seri konsentrasi. Kandungan mimosin yang dimiliki paling banyak karena berdasarkan polaritas pelarutnya yaitu alkaloid mimosin larut dalam senyawa nonpolar dibandingkan senyawa polar seperti ekstrak etanol, fraksi etil asetat, dan fraksi air.

Penurunan aktivitas kadar feritin fraksi-fraksi menggambarkan bahwa pada konsentrasi kelompok uji terkecil mampu dalam menurunkan kadar feritin secara signifikan tetapi semakin tinggi konsentrasi aktivitas penurunan kadar feritin semakin berkurang. Semakin tinggi konsentrasi pada alkaloid mimosin menjadi semakin toksik sehingga semakin tinggi konsentrasi maka aktivitas penurunan kadar feritin akan berkurang (Kyriakou, *et al* 2020). Pemberian agen pengkhelat besi (*iron chelator*) efektif dalam menurunkan kadar feritin jika diberikan dalam kondisi kelebihan besi berlebih di dalam tubuh. Kelebihan besi dalam tubuh terjadi ketika kadar feritin tinggi di atas 1000 ng/ml. (Petrina, 2011).

Pada metode ELISA ini diduga kelebihan Fe^{3+} karena kelebihan kadar besi akan membentuk ikatan kompleks dengan mimosin. Sampel ekstrak etanol dan fraksi-fraksi dari daun *Mimosa pudica* L setelah proses inkubasi kemudian ikatan kompleks ini akan terbuang bersama dengan enzim maupun protein yang tidak spesifik pada ELISA feritin. Sedangkan feritin yang jenuh dengan ikatan antara Fe^{3+} dan protein porfirin menyebabkan tingginya kadar feritin yang disebut sebagai kondisi *iron overload*. (Thummajitsakul and Silprasit, 2017). Mimosin menghambat replikasi DNA yang akan mempengaruhi siklus sel dan akhirnya mengarahkan pada pembelahan sel. Mimosin merupakan suatu agen pengkhelat besi dimana ketika suatu sel kehabisan ion besi maka akan memicu putusannya ikatan DNA *double helix* pada target yang mengakibatkan fosforilasi pada protein histon. Hal ini mengakibatkan terjadinya penghambatan replikasi DNA pada saat elongasi (Wishart, 2012).

Berdasarkan hasil uji statistik aktivitas ekstrak etanol dan fraksi-fraksi menggunakan uji normalitas kolmogorov-smirnov pada kelima kelompok uji terhadap kadar feritin tiap konsentrasi memiliki nilai yaitu sig yaitu lebih besar dari $> 0,05$ dimana memiliki makna bahwa nilai kadar feritin semua kelompok uji terdistribusi normal, sedangkan secara deskriptif dapat disimpulkan bahwa kelompok uji fraksi *n*-heksan memiliki nilai kadar feritin paling rendah yaitu pada konsentrasi 500 ppm dengan kadar feritin rata-rata sebesar $48,51 \text{ ng/ml} \pm 0,46$. Berdasarkan test homogeneity of variance diperoleh nilai signifikansi (Sig) $> 0,05$ memiliki makna yaitu varian kelima kelompok uji adalah sama atau homogen. Pada uji annova diperoleh nilai signifikansi $< 0,05$ yang memiliki makna bahwa rata-rata nilai kadar feritin kelompok uji kontrol (+), ekstrak etanol, fraksi *n*-heksan, fraksi etil asetat dan fraksi air adalah berbeda signifikan. Hal ini memiliki makna bahwa kelima kelompok uji memiliki aktivitas terhadap penurunan kadar feritin yang berbeda secara signifikan.

IV. Kesimpulan

Hasil penelitian dapat disimpulkan bahwa kandungan mimosin daun putri malu pada konsentrasi 500 ppm mempunyai aktivitas sebagai agen pengkhelat besi pada serum darah pasien thalasemia β mayor dengan cara menurunkan kadar feritin secara in vitro.

Daftar Pustaka

Andrews, N. (2004) *Iron deficiency and related disorder*. 11th ed, *Wintrobe's Clinical Hematology*. 11th ed. Philadelphia: Lea & Febiger.

Ashley, E. (2012) 'Feritin (serum, plasma). Association for Clinical Biochemistry'.

Azmi, L., Singh, M. K. and Akhtar, A. K. (2011) 'Pharmacological and biological overview on *Mimosa pudica* Linn', *International Journal of Pharmacy & Life Sciences*, 2(11), pp. 1226–1234.

Bulan, S. (2012) *Faktor-faktor yang berhubungan*

dengan kualitas hidup anak thalassemia beta mayor. Universitas Diponegoro, Semarang.

- Chang, H. *et al.* (2000) 'Modulation of cell cycle regulatory protein expression and suppression of tumor growth by mimosine in nude mice', *Int J Oncol* 2000, 17, pp. 659–65.
- Depkes RI (1979) *Cara Pembuatan Simplisia*. Jakarta: Departemen Kesehatan Republik Indonesia.
- Depkes RI (2013) *Sediaan Galenik*. Jakarta: Departemen Kesehatan RI.
- Djajiman, G. (2007) *Pendekatan Mutakhir Kelasi Besi pada Thalassemia*. Jakarta: Sari Pediatri.
- Fajri, P. (2018) *The preventive effect of *Mangifera foetida* L. leaf extract administered simultaneously to excess iron on markers of iron overload in Sprague-Dawley rats*, *Medical Journal of Indonesia*.
- Felisa, P. *et al.* (2015) 'In vitro antioxidant and anticancer activity of *Mimosa pudica* Linn extract and L-mimosine on lymphoma Daudi cells', *Int J Pharm Pharm Sci*, 7(12), pp. 100–104.
- Herdata, N. H. (2008) 'Thalassemia Mayor. Welcome & joining pediatric hematology oncology in Indonesia'.
- Jaya, A. (2010) *Isolasi dan uji efektivitas antibakteri senyawa saponin dari akar putri malu (*Mimosa pudica*)*. Universitas Islam Negeri (UIN) Malang.
- Petrina, V. (2011) *Hubungan Antara Kadar Feritin Serum Dengan Kadar Hepsidin Pada Carrier Talasemia β* . Universitas Diponegoro. Semarang.
- Priyatningsih, D. (2010) *Pengaruh Deferasirox terhadap Kadar T4 dan TSH pada Pasien β -Thalassemia Mayor dengan Ferritin yang Tinggi*. Universitas Diponegoro. Semarang.
- Suhendra, G. (2009) *Efek Hepatoprotektif Ekstrak Etanol Herba Putri Malu (*Mimosa pudica*, L.) pada Tikus yang Diinduksi Parasetamol dengan Melihat Kadar SGPT serum*. Univ. Ahmad Dahlan.
- Suryohudoyo, P. (1993) 'Oksidan, Antioksidan, dan Radikal Bebas'.
- Thummajitsakul, S. and Silprasit, K. (2017) 'Genetic differentiation and antioxidant activities of *Bouea macrophylla* Griffith in Nakhon Nayo province', *J. Appl Biol Chem*, 60(1), pp. 41–47.
- Valko, M. *et al.* (2007) 'Review: Free radical and antioxidant functions in normal physiological functions and human disease', *Inter J Biochem Cell Biol*, 39, pp. 44–84.
- Voight, R. (1995) *Buku Pelajaran Teknologi Farmasi edisi 5*. Yogyakarta: Gadjah Mada

University Press.
Wishart, D. (2012) *Mimosine*.