

Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Tanpa Badak (*Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum) Pada Mencit Putih (*Mus musculus*) Jantan

Analgesic activity of Ethanolic Extract of Voacanga foetida (Bl.) K. Schum) on Male Mice (Mus musculus)

Adriani Susanty, Armon Fernando, Ivona Adelin

Keywords:
analgesic,
voacanga foetida,
writhing test.

Kata kunci:
analgesia,
tampa badak,
Voacanga foetida,
writhing test.

ABSTRACT: A study on the analgesic activity ethanolic extract of *Voacanga foetida* leaves has been conducted on male mice by using Writhing test. The mice were induced with 0.1 mL of glacial acetic acid 1%. The extract was administered orally in the doses of 250, 500, and 1000 mg/kg, suspended with NaCMC 1%, while 65 mg/kg acetosal was used as positive control. The data was analyzed with two way ANOVA. The study revealed that the extract exhibited analgesic effect insignificantly different with acetosal at the doses of 250, 500, and 1000 mg/kg. This effect was different with negative control ($p < 0.05$).

ABSTRAK: Telah dilakukan penelitian tentang uji efek analgetik ekstrak etanol daun tanpa badak (*Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum) pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan, menggunakan Metoda *Writhing Test*. Sebagai kontrol positif digunakan asetosal 65 mg/kgBB yang diinduksi dengan asam asetat glasial 1% sebanyak 0,1 mL. Rute pemberian ekstrak etanol daun tanpa badak secara oral dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kgBB, yang disuspensi dengan NaCMC 1%. Data yang diperoleh diolah dengan menggunakan *Analysis Of Varian* (ANOVA) dua arah. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etanol daun tanpa badak mempunyai efek sebagai analgetik yang sama dengan asetosal (kontrol positif) pada dosis 250, 500 dan 1000 mg/kgBB dan berbeda secara nyata dengan kontrol negatif ($p < 0,05$).

Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau

Korespondensi:
Adriani Susanty
(adrianisusanty@gmail.com)

PENDAHULUAN

Tumbuhan tampa badak (*Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum) merupakan salah satu tumbuhan yang telah dimanfaatkan oleh masyarakat Indonesia sebagai obat. Air rebusan daun tumbuhan ini telah digunakan masyarakat Lombok sebagai obat luka, nyeri, gatal-gatal dan bengkak (inflamasi). Efek farmakologi dari tumbuhan tampa badak diantaranya adalah sebagai antifungi, antiamuba dan antibakteri (1). Sedangkan menurut penelitian Valkenburg and Bunyaprapatsara (2), tumbuhan ini digunakan sebagai obat penyakit kulit, pegal-pegal, sakit kepala dan sakit perut.

Uji efek antiinflamasi terhadap ekstrak etanol daun tampa badak sudah pernah dilakukan pada tikus putih (*Rattus norvegicus*) jantan pada dosis 250, 500 dan 1000 mg/kgBB dengan persen inhibisi 48,20% pada dosis 1000 mg/kgBB (3). Penelitian dilanjutkan menggunakan fraksi heksan dan etil asetat dengan dosis sama menunjukkan daya antiinflamasi yang sangat efektif dengan persen inhibisi 86% pada jam ke-5 pada dosis 250 mg/kgBB dan persen inhibisi 93,3% pada jam ke-6 pada dosis 500 dan 1000 mg/kgBB (4, 5). Oleh karena tumbuhan tampa badak mempunyai efek antiinflamasi baik ekstrak, frak heksan dan etil asetat, maka perlu dilakukan uji analgetika dari tumbuhan ini karena adanya korelasi antara efek antiinflamasi dengan efek analgetik.

Tumbuhan dari keluarga *Apocynaceae* menghasilkan alkaloid voakangin, voakamin dan vobtusin pada kulit akar; voakangin, voakamin, vobtusin dan 18-oksovobtusin pada kulit batang; akuamidin, vobtusin, dan tabersonin pada buah; vobtusin, amatain, dan 2-deoksivobtusin, dan 18-oksovobtusin

pada daun (6). Berdasarkan penelitian yang dilakukan Kunesch (7), telah di isolasi alkaloid daun tumbuhan tampa badak yaitu vobtusin, vobtusina lakton, desoksi vobtusin lakton, voafolin, voafolidin, isovoafolin dan isovoafolidina. Adapun khasiatnya sebagai obat luka, gatal-gatal, bengkak (inflamasi), antifungi, antiamuba, antibakteri, obat penyakit kulit, pegal-pegal, sakit kepala dan sakit perut (1, 2). Di Madura, daun tampa badak dipanaskan di atas api dan diletakkan pada kaki pegal-pegal yang kronis. Ekstrak tanaman ini digunakan oleh orang Afrika untuk pengobatan untuk kusta, diare, kejang dan kegilaan serta menyembuhkan kencing nanah (8).

METODE PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah timbangan hewan, timbangan digital, jaringan kawat, *stopwatch*, meja pengamatan, kandang metabolit, pipet tetes, gelas ukur, corong, botol maserasi, kertas saring, pinset, mortir, stanfer, sonde oral, alat suntik, beker glass, spatel, destilasi vakum dan *rotary evaporator*.

Bahan-bahan yang digunakan adalah daun tampa badak, NaCMC 1%, aquades, asetosal, asam asetat glasial 1%, etanol 96%.

Hewan Percobaan

Mencit putih (*Mus musculus*) jantan yang sehat, sebanyak 25 ekor, umur 2-3 bulan dengan berat 20-25 g. Selama pengamatan tidak menunjukkan deviasi berat badan (>10%) dan secara visual tidak menunjukkan gejala yang tidak sehat.

Cara Kerja

Pembuatan Ekstrak Etanol Daun Tampa Badak

Sampel daun tampa badak dicuci bersih sehingga kotoran yang melekat pada daun tampa badak tidak ada lagi. Kemudian dipotong kecil-kecil lebih kurang 5 cm. Daun tampa badak yang sudah bersih dikeringanginkan di udara terbuka tanpa terkena sinar matahari langsung. Setelah dikeringanginkan didapat daun tampa badak sebanyak 1 kg dari 2 kg daun tampa badak segar. Sampel kering dimaserasi dengan etanol 96% sampai sampel terendam seluruhnya dalam wadah kaca berwarna gelap selama 5 hari dengan sesekali diaduk. Setelah 5 hari sari etanol 96% kemudian dikumpulkan dan ditambahkan etanol 96% dalam jumlah tertentu pada ampas kemudian ekstraksi dilanjutkan selama 5 hari. Ekstrak etanol 96% dikumpulkan kembali dan proses ekstraksi dilanjutkan satu kali dengan cara yang sama. Sari etanol 96% yang jernih dipisahkan dengan destilasi vakum dan dilanjutkan dengan *rotary evaporator* sampai didapatkan ekstrak kental.

Penyiapan Hewan Percobaan

Hewan percobaan tersebut diaklimatisasi selama 7 hari sebelum dilakukan perlakuan. Hewan dinyatakan sehat apabila selama pengamatan tidak menunjukkan deviasi berat badan (>10%) dan secara visual tidak menunjukkan gejala yang tidak sehat. Hewan dikelompokkan menjadi 5 kelompok yang masing-masing terdiri dari 5 ekor mencit (9).

Pembuatan Suspensi Ekstrak Daun Tampa Badak

Berat ekstrak yang akan disuspensikan

ditimbang terlebih dahulu berdasarkan dosis dan konsentrasi yang dipakai. Kemudian ekstrak di suspensikan dengan NaCMC 1% dalam aquadest, mula-mula NaCMC ditaburkan diatas air panas di dalam lumpang, air yang digunakan 20 kalinya. Biarkan 15 menit hingga NaCMC mengembang lalu digerus, kemudian dimasukkan ekstrak sedikit demi sedikit ke dalam lumpang sambil digerus homogen dan dicukupkan dengan aquadest sampai 10 mL di dalam vial.

Volume pemberian zat uji 1% dari berat hewan dengan menggunakan rumus (10):

$$\text{VAO (mL)} = \frac{\text{Berat badan (kg)} \times \text{Dosis (mg/kgBB)}}{\text{Konsentrasi (mg/mL)}}$$

Keterangan :

VAO: Volume Administrasi Obat (mL)

Pengujian Efek Analgetik Ekstrak Etanol Daun Tampa Badak

Hewan percobaan diaklimatisasi selama 7 hari sebelum dilakukan perlakuan. Hewan percobaan dipuasakan sehari sebelum percobaan tetapi tetap diberi minum. Mencit dipisahkan menjadi 5 kelompok masing-masing kelompok terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan. Pembuatan suspensi sediaan uji ekstrak etanol daun tampa badak dan asetosal serta larutan NaCMC.

Hewan dikelompokkan menjadi 5 kelompok Pemberian sediaan uji terhadap masing-masing kelompok hewan uji: kontrol negatif larutan NaCMC 1% dari berat badan secara oral; kontrol positif yang diberikan suspensi asetosal dengan dosis 65 mg/kgBB; kemudian kelompok yang menerima ekstrak etanol daun tampa badak dengan dosis 250; 500; dan 1000 mg/kgBB secara oral. Zat uji diberikan secara oral dengan

volume 1% dari berat badan mencit.

Setelah 30 menit, setiap kelompok diberikan asam asetat glasial 1% sebanyak 0,1 mL secara Ip. Diamati dan dicatat jumlah geliatan yang ditunjukkan oleh tiap mencit tiap 10 menit selama 180 menit. Nilai persen proteksi nyeri pada masing-masing kelompok dosis dihitung dengan menggunakan rumus (11):

$$\% \text{ Proteksi} = \left\{ 100 - \frac{(\text{eksperimen} \times 100)}{\text{Kontrol Negatif}} \right\} \%$$

Keterangan:

Eksperimen: jumlah geliat kumulatif kelompok percobaan tiap individu

Kontrol: jumlah geliat kumulatif kelompok kontrol negatif rata-rata

Analisa Data

Data yang diperoleh dari hasil pengamatan diolah menggunakan metode statistik Analisa Varian (ANOVA) dua arah dilanjutkan dengan uji lanjut Tukey.

HASIL DAN DISKUSI

Hasil

Setelah dilakukan uji efek analgetik dari ekstrak etanol daun tanpa badak pada mencit putih jantan didapat hasil sebagai berikut:

1. Berat ekstrak daun tanpa badak dari 2 kg sampel sebanyak 62,9207 gram.
2. Data jumlah geliatan seperti tercantum dalam Tabel 1.

Diskusi

Sampel dimaserasi dengan pelarut etanol 96% selama 5 hari sampai sampel terendam seluruhnya dalam wadah kaca

berwarna gelap dengan sesekali diaduk sebanyak 3 kali pengulangan dengan tujuan hasil ekstrak didapat maksimal. Ekstraksi sampel dilakukan dengan proses maserasi. Maserasi merupakan metoda ekstraksi yang dipilih karena pengerjaannya yang mudah, tidak memerlukan peralatan khusus dan untuk menghindari kemungkinan adanya penguraian zat aktif yang terkandung didalam sampel oleh pengaruh suhu karena tidak ada proses pemanasan.

Maserat yang telah dihasilkan kemudian dipekatkan dengan menggunakan alat destilasi vacum bertujuan untuk memisahkan pelarut dengan ekstrak sehingga ketika di *rotary evaporator* pelarut menjadi lebih sedikit. Setelah itu di *rotary evaporator* hingga diperoleh ekstrak yang sangat kental. Sehingga didapatkan berat ekstrak kental sebanyak 62,9207 gram, dengan % rendemen (3,14%).

Metode ini digunakan dengan tujuan agar ekstrak yang akan dipekatkan tidak rusak karena pemanasan pada suhu tinggi. Disamping itu penggunaan alat ini dapat mengantisipasi kerusakan ekstrak karena suhu tinggi dengan cara melengkapi tabung vakum dan disertai dengan labu yang berputar, dengan labu putar pemanasan dapat tersebar secara merata. Proses penguapan dipercepat dengan kondisi tekanan udara tinggi yang diciptakan oleh tabung vakum yang dilengkapi dengan kondensor untuk mencairkan pelarut yang telah menguap, sehingga diperoleh ekstrak daun tanpa badak yang siap diuji pada hewan percobaan.

Hewan percobaan yang dipilih adalah mencit putih jantan. Hal ini berdasarkan pertimbangan susunan anatomi fisiologi mencit memiliki kemiripan dengan manusia,

mudah ditangani, mudah didapat, mudah dalam pemeliharaan, dapat beradaptasi dengan baik dengan laboratorium dan harganya pun relatif lebih murah. Untuk menghindari terjadinya variasi pada hasil pengamatan digunakan hewan dengan jenis kelamin sama yaitu mencit putih jantan. Metoda uji analgetik yang digunakan adalah *Writhing Test* karena metoda ini cukup sensitif, sederhana dan baik untuk golongan analgetik lemah atau analgetik non-narkotik (11).

Sebelum perlakuan hewan uji terlebih dahulu diaklimatisasi selama 7 hari, selama aklimatisasi hewan uji diberi makanan dan minuman seperti biasanya. Hewan uji dinyatakan sehat apabila selama pengamatan tidak menunjukkan deviasi berat badan (>10%) dan secara visual tidak menunjukkan gejala yang tidak sehat (9). Mempunyai berat badan yang kurang lebih sama dan dibagi dalam lima kelompok. Dengan cara ini diharapkan pembagiannya akan merata dan data yang dihasilkan akan mendekati sama (lebih homogen). Sehari sebelum pengujian hewan uji dipuaskan selama 24 jam, tetapi tetap diberi minum hal ini dilakukan untuk menghindari kemungkinan adanya efek analgetik dari makanan yang diberikan pada hewan uji.

Pada penelitian ini dilakukan uji efek analgetik terhadap hewan uji, hewan uji yang digunakan adalah mencit putih jantan, yang terbagi menjadi 5 kelompok. Kelompok pertama adalah kelompok kontrol negatif yang tidak diberi obat berfungsi untuk mengetahui apakah pensuspensi yang digunakan mempunyai efek terhadap hewan uji yang terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan. Kelompok ke dua adalah kelompok kontrol positif berfungsi sebagai pembandingan

apakah zat uji bisa berefek sama dengan obat analgetik yang digunakan sebagai kontrol positif yang terdiri dari 5 ekor mencit putih jantan, kelompok ke tiga, ke empat dan ke lima adalah kelompok zat uji yang diberi ekstrak etanol daun tampa badak dengan dosis 250, 500 dan 1000 mg/kgBB yang terdiri dari 5 ekor mencit.

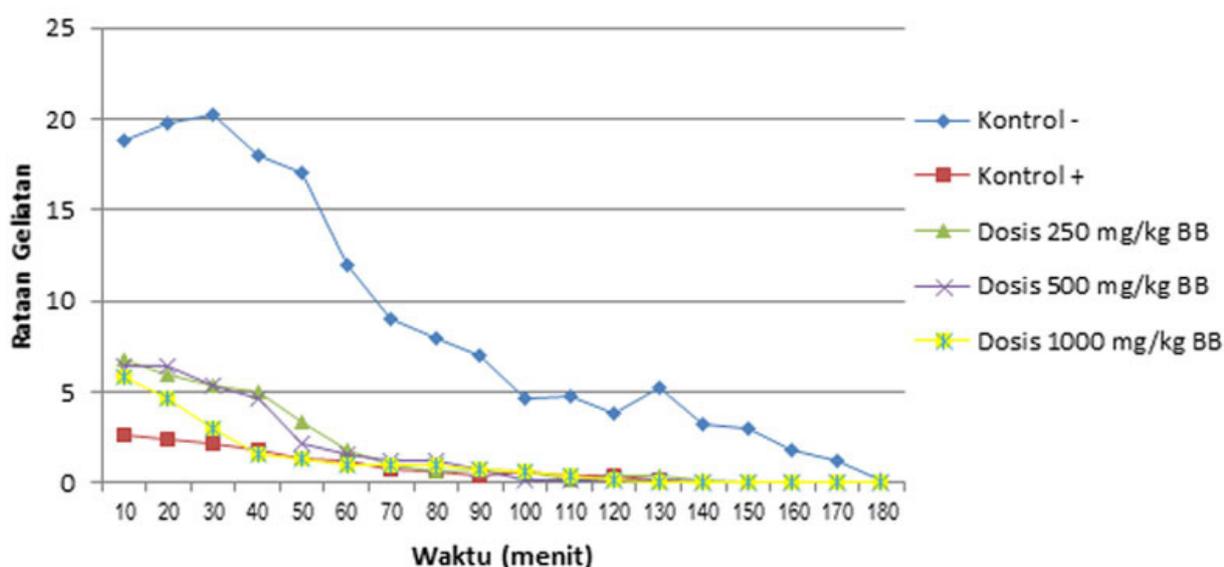
Ekstrak daun tampa badak sebelum diuji pada hewan percobaan terlebih dahulu ekstrak disuspensikan dalam NaCMC 1%. Sediaan dibuat dalam bentuk suspensi karena ekstrak tidak larut sempurna dalam air. Penggunaan NaCMC ini adalah karena dapat menghasilkan suspensi yang stabil, kejernihannya tinggi dan bersifat inert sehingga tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

Suspensi ekstrak daun tampa badak diberikan secara oral agar dapat langsung sampai di saluran cerna dan segera diabsorpsi. Jalur pemakaian obat secara oral merupakan jalur pemakaian obat yang umum digunakan, mudah diberikan dan aman. Pada uji analgetik penginduksinya yaitu asam asetat glasial, karena mempunyai nilai bobot molekul yang sama dengan asam asetat. Asam asetat glasial mempunyai BM 60,05 dengan rumus molekul $C_2H_4O_2$ mempunyai waktu paruh 2-3 jam (9,12).

Asetosal merupakan golongan salisilat yang mempunyai aktifitas analgetik-antipiretik dan antiinflamasi yang sangat luas digunakan dan mempunyai efek yang sangat kuat dibandingkan analgetik perifer lainnya, digolongkan dalam obat bebas serta menjadi standar untuk pembandingan dan evaluasi obat. Mekanisme kerja dengan menghambat enzim siklooksigenase sehingga prostaglandin (PGE_2 , PGF_2 , PGL_2), tromboksan A_2 terhambat. Penghambatan produksi prostaglandin yang

Tabel 1. Data Jumlah Geliatan Hewan Percobaan Selang Waktu 10 Menit Selama 180 Menit Pengamatan

	Jumlah Geliatan dalam Waktu (Menit)																	
	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Kontrol (-)	18,8	19,8	20	18	17	12	9	8	7	4,6	4,3	3,8	5,2	3,2	3	1,8	1,2	0,2
Kontrol (+)	2,6	2,4	2,2	1,8	1,4	1,2	0,8	0,6	0,4	0,6	0,4	0,4	0,2	0	0	0	0	0
Dosis250	6,8	6	5,4	5	3,4	1,8	1	0,6	0,8	0,6	0,2	0,4	0,4	0,2	0	0	0	0
Dosis 500	6,4	6,4	5,4	4,6	2,2	1,6	1,2	1,2	0,8	0,2	0,2	0,2	0,2	0	0	0	0	0
Dosis 1000	5,8	4,6	3	1,6	1,4	1	1	1	0,8	0,6	0,4	0,2	0	0	0	0	0	0



Gambar 2. Grafik persen proteksi nyeri yang diberikan tiap-tiap perlakuan selama 180 menit pengamatan

merupakan salah satu senyawa yang dapat meningkatkan kesensitifan nosireseptor, dapat menurunkan jumlah impuls nyeri yang diterima oleh sistem saraf pusat (13,14).

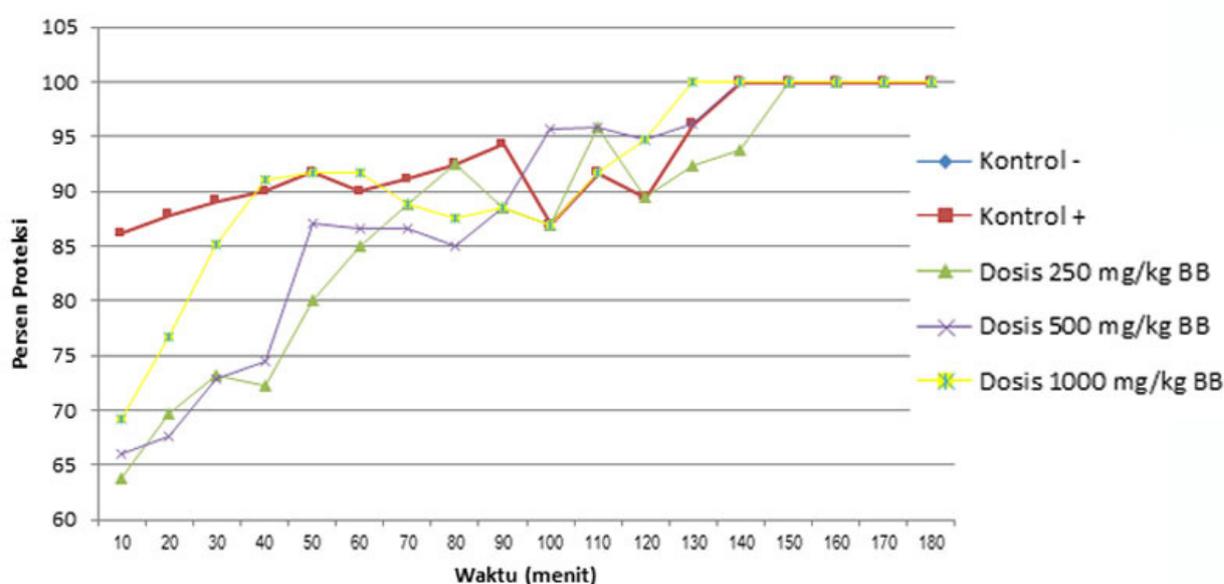
Penentuan aktivitas analgetik dilakukan berdasarkan pengamatan jumlah geliatan yang terjadi pada hewan percobaan. Pemberian asam asetat glasial pada hewan percobaan bertujuan untuk merangsang nyeri pada hewan tersebut sehingga akan menyebabkan terjadinya geliatan yang merupakan pertanda hewan tersebut

mengalami nyeri.

Pada kontrol positif persen proteksi rata-rata maksimal terjadi pada menit ke-140 sebesar 100%, pada dosis 250 persen proteksi rata-rata maksimal terjadi pada menit ke-150 sebesar 100%, dosis 500 persen proteksi rata-rata maksimal terjadi pada menit ke-140 sebesar 100% dan dosis 1000 mg/kgBB persen proteksi maksimal terjadi pada menit ke-130 sebesar 100%. Hal ini disebabkan asam asetat glasial mulai berkurang dari waktu ke waktu pengamatan,

Tabel 2. Persentase proteksi per waktu

		Jumlah Geliatan dalam Waktu (Menit)																	
		10	20	30	40	50	60	70	80	90	100	110	120	130	140	150	160	170	180
Kontrol (-)		0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Kontrol (+)		86,2	87,8	89,1	90	91,7	90,0	91,1	92,5	94,3	87,0	91,7	89,5	96,2	100	100	100	100	100
Dosis250		63,8	69,7	73,3	72,2	80,0	85,0	88,9	92,5	88,6	87,0	95,8	89,5	92,3	93,8	100	100	100	100
Dosis 500		66,0	67,7	72,9	4,5	87,1	86,7	86,7	85,0	88,6	95,7	95,8	94,7	96,2	100	100	100	100	100
Dosis 1000		69,2	76,8	85,2	91,1	91,8	91,7	88,9	87,6	88,6	87,0	91,7	94,7	100	100	100	100	100	100



Gambar 2. Grafik persen proteksi nyeri yang diberikan tiap-tiap perlakuan selama 180 menit pengamatan

seperti terlihat pada grafik persen proteksi nyeri yang diberikan tiap-tiap perlakuan selama-180 menit pengamatan.

Hal ini disebabkan semakin besar jumlah ekstrak etanol dan tampa badak yang digunakan maka semakin besar jumlah zat aktif yang terkandung di dalamnya, sehingga kemampuan persentase proteksi terhadap nyeri yang dihasilkan tiap-tiap perlakuan semakin besar. Semakin kecil jumlah geliatan semakin besar pula persen proteksi yang dihasilkan. Pada hewan atau pada pasien, respons terhadap dosis suatu obat yang

rendah biasanya meningkat dan berbanding langsung dengan meningkatnya dosis, jadi ada hubungan antaradosis dan efek yaitu berbanding lurus (15). Data persentase inhibisi dapat dilihat pada Tabel 2.

Dari uji statistika menggunakan analisa varian dua arah yang dilanjutkan dengan Uji Lanjut Tukey terhadap data yang diperoleh menunjukkan kontrol negatif berbeda nyata dengan zat uji dan asetosal $p < 0,05$. Pada dosis 250 memberikan efek analgetik terlihat dari statistik berbeda nyata dengan kontrol negatif $p < 0,05$, pada dosis 500 memberikan

Tabel 3. Hasil uji lanjutan Tukey terhadap efek analgetik ekstrak etanol daun tanpa badak terhadap homogenitas variabel dosis

		Kelompok		
		Subset		
Perlakuan	N	1	2	3
Tukey HSD ^{a,b}	Kontrol (-)	.0000		
	250.00		86.4633	
	500.00		88.7914	
	1000.00			89.4644
	Kontrol (+)			92.2158
	Sig.	1.000	.095	.151

efek analgetik terlihat dari statistik berbeda nyata dengan kontrol negatif $p < 0,05$ dan pada dosis 1000 mg/kgBB terlihat dari data statistik berbeda nyata dengan kontrol negatif $p < 0,05$. Tetapi, dosis 1000 mg/kgBB mempunyai efek analgetik yang paling kuat dibandingkan dengan dosis 250 dan 500 mg/kgBB, perlakuan dengan dosis 1000 mg/kgBB tidak berbeda nyata dengan asetosal $p > 0,05$.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa ekstrak etanol daun tanpa badak (*Voacanga foetida* (Bl.) K. Schum) yang diujikan pada mencit putih (*Mus musculus*) jantan pada dosis 250, 500 dan 1000 mg/kgBB memiliki efek sebagai analgetik. Hal ini terlihat bahwa ekstrak etanol daun tanpa badak pada dosis 250, 500 dan 1000 mg/kgBB berbeda nyata dengan kontrol negatif $p < 0,05$ seperti terlihat pada tabel di atas ini.

DAFTAR PUSTAKA

1. Le Grand, A. (1989). [Anti-infective phytotherapies of the tree-savannah, Senegal (occidental Africa). III: A review of phytochemical substances and the antimicrobial activity of 43 species]. *Journal of ethnopharmacology*, 25(3), 315-338.
2. Valkenburg Van J. L. & Bunyaprapatsara. (2008). *Medicinal and poisonous plants*. Academic Press.
3. Pratama, M. (2009). *Efek antiinflamasi ekstrak etanol daun tanpa badak (Voacanga foetida (Bl.) K. Schum) pada tikus putih jantan (Rattus norvegicus)* (Karya tulis ilmiah), Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
4. Suryati. (2010). *Uji efek antiinflamasi fraksi heksan daun tanpa badak*

- (*Voacanga foetida*) pada tikus putih jantan (*Rattus norvegicus*) (Karya tulis ilmiah). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
5. Lovena, T. N. (2010). *Uji efek antiinflamasi fraksi etil asetat daun tampa badak (Voacanga foetida (Bl.) K. Schum) pada tikus putih jantan (Rattus norvegicus)* (Karya tulis ilmiah). Sekolah Tinggi Ilmu Farmasi Riau.
 6. Bingtao Li, Antony J. M., Leeuwenberg & David J. Middleton. *Apocynaceae, in Flora of China* Vol. 16 Page 143. Published by Science Press (Beijing) and Missouri Botanical Garden Press
 7. Kunesch, N., Das, B. C., & Poisson, J. (1970). Alkaloides des *Voacanga*. XI. Structure des bases bis-indoliques des feuilles du *Voacanga africana* Stapf. *Soc Chim France Bull*.
 8. Macabeo, A. P. G., Alejandro, G. J. D., Hallare, A. V., Vidar, W. S., & Villaflores, O. B. (2009). Phytochemical survey and pharmacological activities of the indole alkaloids in the genus *Voacanga* Thouars (Apocynaceae)-an update. *Pharmacognosy Reviews*, 3(5), 132-142.
 9. Anonim, (1979). *Farmakope Indonesia*, Edisi III, Departemen Kesehatan Republik Indonesia, Direktorat Jenderal Pengawasan Obat dan Makanan, Jakarta.
 10. Thompson, E. B. (1985). *Drugs bioscreening fundamental of drug, evaluation technique in pharmacology*. New York: Granceway P u b l i s i n g Company.
 11. Turner, R. A. (1965). *Screening methods in pharmacology*. New York and London: Academic Press,
 12. Martindale. (2002). *The complete drug reference*, (thirty third edition). London: The Pharmaceutical Press.
 13. Ganiswarna, S. G. (2007). *Farmakologi dan terapi* (edisi V). Jakarta: Gaya Baru.
 14. Wilmana, P. F. (2005). *Analgesik-Antipiretik Analgetik Antiinflamasi Non Steroid dan Obat Pirai*, *Farmakologi dan Terapi* (edisi IV). Jakarta: Universitas Indonesia.
 15. Harmita & Radji. M. (2008). *Buku ajar analisis hayati* (edisi 3). Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.