

## Uji Aktivitas Antistres dan Sedatif Minyak Biji Pala (*Myristica fragrans* Houtt.) pada Mencit Jantan Galur Swiss Webster

\*I Ketut Adnyana, Retta Nugrahani, Suwendar, Zulfan Zazuli

Kelompok Keilmuan Farmakologi-Farmasi Klinik, Sekolah Farmasi, Institut Teknologi Bandung,  
Jalan Ganesha 10 Bandung 40132

### Abstrak

Telah diteliti efek antistres minyak biji pala (*Myristica fragrans* Houtt.) yang diberikan secara oral dan aromaterapi secara inhalasi pada mencit jantan Swiss Webster yang diinduksi stres dengan cara imobilisasi. Efek antistres ditentukan berdasarkan jumlah perpindahan mencit dalam kotak transisi terang-gelap dan lama tidur yang diinduksi dengan tiopental. Mencit yang stres ditandai dengan penurunan bobot badan yang bermakna ( $p<0,05$ ). Minyak biji pala yang diberikan secara oral dengan dosis 16,90  $\mu\text{L/kg}$  bobot badan dan secara aromaterapi dengan konsentrasi 0,4 g/mL dalam minyak kelapa dengan lama inhalasi dua jam memperpanjang waktu tidur (berturut-turut sebesar 208,29 $\pm$ 159,63 menit dan 531,00 $\pm$ 265,22 menit) secara bermakna ( $p<0,05$ ) dibandingkan terhadap kontrol (38,00 $\pm$ 7,70 menit). Efek antistres minyak biji pala ditandai dengan peningkatan jumlah perpindahan mencit dalam kotak transisi terang-gelap yang berbeda bermakna dibandingkan terhadap kontrol (9,71 $\pm$ 2,98 kali dan 6,71 $\pm$ 3,03 kali secara berurutan,  $p<0,05$ ).

**Kata kunci:** minyak biji pala, *Myristica fragrans* Houtt, antistres, sedatif.

### Abstract

The antistress effect of nutmeg seed oil (*Myristica fragrans* Houtt.) given orally and as an aromatherapy through inhalation had been evaluated in stressed-male Swiss Webster mice induced by immobilization. The antistress effect was determined based on total number of crossings of mice in light-dark transition box and sleep duration induced by thiopental. Stressed mice were indicated by significant decreased of mice body weight ( $p<0.05$ ). Nutmeg oil given orally at 16.90  $\mu\text{L/kg}$  body weight and as aromatherapy at concentration of 0.4 g/mL in virgin coconut oil through inhalation for two hours prolonged sleep duration (208.29 $\pm$ 159.63 minutes and 531.00 $\pm$ 265.22 minutes respectively) significantly ( $p<0.05$ ) compared to that of control (38.00 $\pm$ 7.70 minutes). The nutmeg oil given as aromatherapy by inhalation for two hours significantly increased total number of crossing of mice in light-dark transition box compared to that of control (9.71 $\pm$ 2.98 times and 6.71 $\pm$ 3.03 times respectively,  $p<0.05$ ) indicated the antistress effect.

**Keywords:** nutmeg seed oil, *Myristica fragrans* Houtt, antistress, sedative.

### Pendahuluan

Stres adalah suatu gangguan alami yang dialami oleh tubuh yang disebabkan oleh stimulus yang berasal baik dari luar maupun dari dalam tubuh (Kelompok Kerja Ilmiah Yayasan Pengembangan OBA Phytomedika 1993) atau reaksi fisiologis yang disebabkan sebagai persepsi menentang terhadap suatu keadaan atau terhadap situasi yang menekan (Carlson 1999) atau hasil yang umumnya non spesifik sebagai akibat dari permintaan kepada tubuh, dapat berupa efek mental atau somatik (Bretnitz dan Goldberg 1982). Penyebab stres (stresor) akan menstimulasi hipotalamus untuk memulai sindrom melalui: a) stimulasi saraf simpatik dari sistem saraf otonom dan medula adrenal yang akan menghasilkan respon mediasi yang dikenal sebagai reaksi alarm (respon *fight-or-flight*), b) reaksi resistensi yang melibatkan bagian anterior kelenjar pituitari dan korteks adrenal (Tortora dan Anagnostakos 1990). Sebagian besar efek stres yang berbahaya bagi tubuh disebabkan sekresi glukokortikoid yang berkepanjangan

(Carlson 1999; Bretnitz dan Goldberg 1982) yang berujung pada peningkatan tekanan darah, kerusakan jaringan otot, diabetes steroid, infertilitas, inhibisi pertumbuhan, inhibisi respon inflamasi dan sistem imun (Carlson 1999).

Masyarakat Indonesia telah lama menggunakan biji pala secara empiris untuk mengatasi stres, depresi, dan sulit tidur (Winarto dan Tim Karya Sari 2004). Namun penggunaan empiris biji pala masih perlu diperkuat dengan bukti ilmiah melalui uji preklinis dan klinis. Penelitian ini bertujuan untuk meneliti efek minyak biji pala dalam mengurangi stres dan mengurangi gangguan tidur pada mencit.

### Percobaan

#### Hewan

Hewan uji yang digunakan dalam penelitian adalah mencit jantan Swiss Webster dengan bobot berkisar

\* Penulis korespondensi. E-mail: ketut@fa.itb.ac.id

antara 25-38 g yang diperoleh dari laboratorium perhewan, Departemen Biologi, Institut Teknologi Bandung. Sebelum percobaan mencit diadaptasikan selama satu minggu, ditimbang bobotnya, serta diamati tingkah lakunya. Hewan yang digunakan untuk percobaan adalah hewan yang sehat, yaitu bebas dari gejala-gejala sakit dan bobot tubuh tidak kurang dari 10% bobot awal.

### Alat dan Bahan

Alat yang digunakan yaitu timbangan hewan, kandang hewan, jaum suntik oral untuk mencit, jarum dan alat suntik 1 mL, *stopwatch*, lampu, bejana pengamatan, timbangan, gunting, lampu duduk, *video recorder*, monitor, sebuah kotak kayu dengan ukuran 48 x 24 x 27 cm dan dua buah kotak dengan ukuran 130 x 22 x 20 cm, alat pengukur kadar glukosa, strip pengukur kadar glukosa, dan *burner*.

Bahan yang digunakan yaitu NaCl fisiologis, minyak biji pala (PT Citra Giga Agrotama), minyak kelapa murni, natrium tiopental, diazepam suspensi, air suling, air hasil dua kali penyulingan.

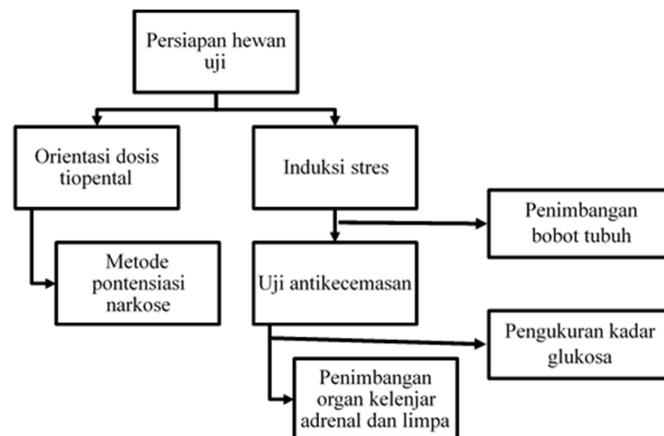
### Metode

Hewan yang akan diujicobakan terlebih dahulu diberiinduksi stres dengan cara imobilisasi yaitu pengikatan kaki depan dan kaki belakang dengan benang pada paku dan pemberian isolasi ekor pada suatu alas kayu selama 150 menit/hari selama tujuh hari (Brotto 2003).

Metode pertama yaitu metode depresan (potensiasi narkose) yang bertujuan untuk mengetahui efek sedatif minyak biji pala dengan cara mengukur durasi tidur yang diinduksi tiopental (dosis 60 mg/kg berat badan, rute intraperitoneal, volume 0,10 mL/10 g berat badan) dengan pemberian secara intraperitoneal. Hewan percobaan dibagi ke dalam enam kelompok yaitu: 1) kelompok kontrol yang diberi air, 2) kelompok

pembandingan yang diberi diazepam 0,65 mg/kg berat badan, 3) kelompok yang diberi minyak biji pala 7,80  $\mu$ L/kg berat badan (konsentrasi 0,03% dengan pembawa minyak kelapa, 4) kelompok yang diberi minyak biji pala 16,90  $\mu$ L/kg berat badan, 5) kelompok yang diberi minyak biji pala 2 g dalam 5 mL minyak kelapa (0,4 g/mL) dengan cara inhalasi aromaterapi (dipanaskan di atas *burner* dalam kandang khusus) pagi dan sore masing-masing selama dua jam, dan 6) kelompok yang diberi minyak biji pala dalam minyak kelapa dengan cara inhalasi aromaterapi pagi dan sore masing-masing selama tiga jam.

Metode kedua yaitu uji antikecemasan pada mencit (metode transisi terang-gelap) untuk mengetahui senyawa yang memiliki efek ansiolitik dengan memanfaatkan kecenderungan mencit untuk mencari tahu lingkungan baru yang ditempatinya. Di dalam kotak yang bagian pertama dicat hitam dan bagian kedua diterangi lampu. Makin kuat efek ansiolitik senyawa yang diujikan, makin sering mencit berpindah di antara kedua bagian tersebut, makin nyaman mencit dengan kondisi berlawanan tersebut. Pada hari ke tujuh dalam waktu 30 menit sebelum dimasukkan ke dalam kotak transisi gelap-terang, hewan diberikan bahan uji, pembandingan, serta vehikulum secara oral pada kelompok pembandingan dan kontrol. Pengamatan dilakukan selama 5 dan 10 menit menggunakan monitor. Hewan percobaan dibagi ke dalam enam kelompok yaitu: 1) kelompok normal yang tidak diinduksi stres namun diberikan minyak kelapa, 2) kelompok kontrol yang diinduksi stres dan diberikan minyak kelapa, 3) kelompok yang diberi pembandingan diazepam 0,65 mg/kg berat badan, 4) kelompok yang diberi minyak biji pala 7,80  $\mu$ L/kg berat badan, 5) kelompok yang diberi minyak biji pala 16,90  $\mu$ L/kg berat badan, dan 6) kelompok yang diberi minyak biji pala dalam minyak kelapa (0,40 g/mL) dengan cara inhalasi aromaterapi pagi dan sore masing-masing selama dua jam.



Gambar 1. Diagram alur penelitian.

**Tabel 1.** Hasil Analisis Minyak Biji Pala

Parameter	Unit	Hasil Uji
Warna	-	Kuning muda bening
Berat jenis	-	0,8787
Indeks refraktif (n 20 D)	-	14,7650
Rotasi optik	Derajat	1396
Kelarutan dalam etanol 90%	-	Bening
Residu evaporasi	%	0,3900
Bahan asing:		
Lemak	-	Negatif
Alkohol lain	-	Negatif
Minyak mineral	-	Negatif
Minyak terpen	-	Negatif

Ketidakseimbangan fisiologis yang disebabkan stres diamati dari pengukuran bobot tubuh, kadar glukosa, serta bobot kelenjar adrenal dan limpa terhadap kelompok pada uji antikecemasan. Penimbangan bobot tubuh dilakukan pada hari pertama dan tiga hari terakhir induksi stres pada semua kelompok perlakuan. Pengukuran kadar glukosa pada hari ke tujuh dan sembilan menggunakan metode enzimatis dengan alat ukur kadar glukosa (Smart Scan®). Diagram alur penelitian secara keseluruhan dapat dilihat pada Gambar 1.

#### Analisis statistik

Uji statistik Mann-Whitney U digunakan untuk menganalisis data pengukuran durasi tidur dan kadar glukosa darah. Uji ANOVA digunakan untuk menganalisis data pengukuran uji kecemasan. Uji student-t digunakan untuk analisis data pengukuran bobot tubuh. Nilai  $p < 0,05$  adalah kriteria kebermaknaan perbedaan.

## Hasil dan Pembahasan

### Waktu Induksi Tidur

Hasil percobaan mengenai waktu tidur dipaparkan secara lengkap pada Tabel 2 dan Tabel 3. Metode pemberian diazepam sebelum tiopental valid karena terbukti mampu memperpendek waktu induksi tidur dan memperpanjang durasi tidur tiopental dibandingkan kontrol secara bermakna ( $1,50 \pm 0,55$  menit vs  $4,20 \pm 4,32$  menit dan  $144,60 \pm 69,14$  menit vs  $38,00 \pm 7,70$  menit secara berurutan,  $p < 0,05$ ).

Tidak ada satu pun kelompok perlakuan yang memperlihatkan pemendekan waktu induksi tidur tiopental secara berbeda bermakna dibandingkan kelompok kontrol. Onset tidur kelompok minyak biji pala dosis 7,80 dan 16,90  $\mu\text{L}/\text{kg}$  bobot badan adalah  $1,83 \pm 0,41$  menit dan  $2,14 \pm 1,07$  menit, kelompok aroma terapi inhalasi konsentrasi 0,40 g/mL dalam minyak kelapa selama dua dan tiga jam adalah  $2,80 \pm 1,92$  menit dan  $2,33 \pm 0,58$  menit.

**Tabel 2.** Waktu Induksi dan Durasi Tidur Mencit Pada Orientasi Dosis Tiopental

Kelompok Dosis Tiopental (mg/kg BB)	Waktu Induksi Tidur (menit)	Durasi tidur (menit)
40	Menit tidak tidur	Mencit tidak tidur
50	4,5	76
60	2,78	100,67±
	±1,33	29,57

### Durasi Tidur

Dengan uji statistik Mann Whitney U diketahui bahwa kelompok minyak biji pala dosis 16,90  $\mu\text{L}/\text{kg}$  bobot badan dan kelompok aroma terapi inhalasi selama dua dan tiga jam konsentrasi 0,40 g/mL dalam minyak kelapa mampu memperpanjang durasi tidur tiopental secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dibandingkan kontrol. Durasi tidur yang dihasilkan kelompok minyak pala 7,80  $\mu\text{L}/\text{kg}$  dan 16,90  $\mu\text{L}/\text{kg}$  sebanding dengan kelompok yang diberi diazepam. Hanya kelompok yang diberi aromaterapi inhalasi 0,40 g/mL selama dua jam mempunyai durasi tidur 3,67 kali kelompok diazepam dan berbeda secara bermakna dibandingkan kelompok minyak pala 0,03% 7,80  $\mu\text{L}/\text{kg}$  ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan aromaterapi inhalasi selama 2 jam lebih efektif memperpanjang durasi tidur dibandingkan kelompok lain.

### Uji Antikecemasan

Pada hewan uji yang diinduksi stres selama tujuh hari, frekuensi hewan uji untuk masuk ke bagian terang akan lebih kecil dibandingkan dengan hewan uji yang tidak diinduksi stres. Dengan uji ANOVA diketahui bahwa kedua kelompok ini berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ). Hewan uji yang tidak diinduksi stres lebih tenang menghadapi bagian terang yang terbuka sedangkan pada kelompok hewan uji yang mengalami perlakuan induksi stres mempunyai frekuensi lebih sedikit masuk ke bagian terang.

Kelompok yang diberi aromaterapi inhalasi berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) dengan kelompok kontrol pada pengamatan selang lima menit. Hal ini menunjukkan bahwa pemberian aromaterapi minyak pala secara inhalasi dapat mengurangi kecemasan pada mencit saat masuk ke bagian terang. Namun, pada pengamatan selama sepuluh menit tidak terdapat perbedaan yang bermakna pada kedua kelompok tersebut.

Berdasarkan parameter durasi mencit masuk ke dalam bagian terang maka model hewan uji tidak terbentuk karena tidak terdapat perbedaan bermakna antara kelompok normal dengan kelompok kontrol pada pengamatan selama lima dan sepuluh menit.

**Tabel 3.** Waktu Induksi Tidur dan Durasi Tidur Hasil Metode Potensiasi Narkose

Kelompok	n	Waktu induksi tidur (menit)		Durasi Tidur (menit)
Kontrol	6		4,2±4,38	
Minyak pala 0,03%	7,80 µL/kg	5	1,83±0,41	155,20±113,52
	16,90 µL/kg	6	2,14±1,07	208,29±159,63 <sup>a</sup>
Aroma terapi inhalasi 0,40 g/mL	Dua jam	5	2,8±1,92	531,00±265,22 <sup>a,b,c</sup>
	Tiga jam	4	2,33±0,57	266±285,32
Pembanding (diazepam)	0,65 mg/kg	5	1,33±1,17 <sup>a</sup>	144,6±69,14 <sup>a</sup>

<sup>a</sup>berbeda bermakna terhadap kontrol ( $p < 0,05$ )

<sup>b</sup>berbeda bermakna terhadap pembanding diazepam ( $p < 0,05$ )

<sup>c</sup>berbeda bermakna terhadap kelompok minyak pala 0,03% 7,80 µL/kg ( $p < 0,05$ )

**Tabel 4.** Lama dan Frekuensi Masuk Ke Bagian Terang Kotak Transisi Terang-Gelap

Kelompok	n	Lama masuk (detik)		Frekuensi masuk (kali)		
		5 menit	10 menit	5 menit	10 menit	
Normal	3	141,33±41,31	281,33±42,85	6,67±2,52	11,67±4,04	
Kontrol	7	127,17±21,03	236,86±88,97	2,83±1,72	6,71±3,03	
Minyak pala 0,03%	7,80 µL/kg	7	87,14±47,17	148,86±104,62	2,5±1,76	4,28±2,87
	16,90 µL/kg	8	102±46,7	220,75±86,04	4,75±2,19	8,12±2,79
Aroma terapi inhalasi 0,40 g/mL	Dua jam	8	124,28±45,08	226±46,75	5,43±2,50*	9,71±2,98*
Pembanding (diazepam)	0,65 mg/kg	7	97,57±40,90 <sup>a</sup>	182,57±88,77	4,43±2,51	6,86±3,67

\*berbeda bermakna terhadap kelompok normal ( $p < 0,05$ )

**Tabel 5.** Perbandingan Bobot Tubuh Hari Pertama dengan Tiga Hari Terakhir Induksi Stres

Kelompok	n	Bobot tubuh (gram)		Kadar glukosa (mg/dL)		
		Hari pertama	Tiga hari terakhir	Hari ke-7	Hari ke-9	
Normal	3	29,35±1,35	29,79±1,09	48,33±15,28	80±31,43	
Kontrol	7	35,42±4,55	30,73±3,26 <sup>a</sup>	73,14±10,27 <sup>b</sup>	75,86±25,07	
Minyak pala 0,03%	7,80 µL/kg	7	32,33±2,76	28,66±2,48 <sup>a</sup>	70,57±32,21	65,14±26,48
	16,90 µL/kg	8	34,28±3,61	30,29±3,34 <sup>a</sup>	68,88±28,07	95,25±30,06
Aroma terapi inhalasi 0,40 g/mL	Dua jam	8	32,91±3,73	29,70±2,73 <sup>a</sup>	85,33±26,59 <sup>b</sup>	89±24,07
Pembanding (diazepam)	0,65 mg/kg	7	29,70±2,73	26,65±3,40 <sup>a</sup>	62,00±14,35	97±21

<sup>a</sup> bobot tiga hari terakhir berbeda bermakna terhadap bobot hari pertama ( $p < 0,05$ )

<sup>b</sup> berbeda bermakna terhadap kelompok normal ( $p < 0,05$ )

**Tabel 6.** Indeks Organ Kelenjar Adrenal dan Limpa yang Diambil 48 Jam Setelah Mencit Diberi Induksi Stres Terakhir

Kelompok	n	Indeks organ (dalam persentase terhadap bobot tubuh)		
		Limpa	Kelenjar adrenal	
Normal	3	3,97±0,64	1,59±0,12	
Kontrol	7	3,49±0,78	1,80±0,28	
Minyak pala 0,03%	7,80 µL/kg	7	3,15±0,54	2,35±0,92
	16,90 µL/kg	8	3,21±0,85	2,12±0,94
Aroma terapi inhalasi 0,40 g/mL	Dua jam	8	3,08±0,96	1,80±0,28
Pembanding (diazepam)	0,65 mg/kg	7	3,69±0,74	2,52±0,63

<sup>a</sup>bobot tiga hari terakhir berbeda bermakna terhadap bobot hari pertama ( $p<0,05$ )

<sup>b</sup>berbeda bermakna terhadap kelompok normal ( $p<0,05$ )

### Pengukuran Bobot Tubuh, Kadar Glukosa, Bobot Kelenjar Adrenal dan Limpa

Dengan menggunakan uji student-t pada kelompok perlakuan yang diberi induksi stres, pengukuran bobot badan pada hari pertama dengan tiga hari terakhir induksi stres berbeda secara bermakna ( $p<0,05$ ). Namun, pada kelompok normal yang tidak diinduksi stres tidak ditemukan perbedaan yang bermakna. Hal ini menunjukkan bahwa stres menyebabkan terjadinya penurunan bobot badan pada hewan uji. Keadaan stres menyebabkan reaksi katabolisme meningkat sehingga akan menyediakan energi tambahan sebagai antisipasi tubuh meng-hadapi keadaan stres. Hasil lengkap pengukuran tertera pada Tabel 5 dan Tabel 6.

Dengan menggunakan uji statistik Mann Whitney U, pada hari ke tujuh terdapat perbedaan bermakna kadar glukosa darah antara kelompok normal dengan kelompok kontrol ( $48,33\pm 15,28$  vs  $73,14\pm 10,27$  mg/dL secara berurutan,  $p<0,05$ ) yang menandakan telah terbentuk hewan stres. Ini menandakan bahwa kondisi stres dapat menyebabkan kadar glukosa darah meningkat. Saat stres, impuls simpatik akan menuju medula adrenal dan memperbanyak respon simpatik sehingga terjadi glukoneogenesis sehingga kadar glukosa meningkat. Pada hari kesembilan tidak terdapat perbedaan yang bermakna antara kelompok normal dengan kelompok kontrol ( $75,86\pm 25,07$  vs  $80\pm 31,43$  mg/dL secara berurutan). Kadar glukosa naik pada hari ke delapan dan sembilan saat hewan tidak diberikan minyak kelapa sehingga ada kemungkinan minyak kelapa dapat menurunkan kadar glukosa darah.

Kelompok yang diberi minyak pala 7,80 µL/kg berbeda bermakna ( $p<0,05$ ) dengan kelompok yang diberi minyak pala 0,03% dosis 16,90 µL/kg, kelompok aroma terapi inhalasi 0,40 g/mL, dan kelompok pembanding diazepam 0,65 mg/kg. Di antara ke tiga kelompok tersebut kadar glukosa pada kelompok yang diberi minyak pala 7,80 µL/kg mempunyai nilai terkecil. Kadar glukosa pada hari ke sembilan meningkat secara bermakna ( $p<0,05$ ) dibandingkan dengan kadar glukosa pada hari ke tujuh.

Hal ini disebabkan karena penghentian pemberian perlakuan kepada kelompok hewan. Hal ini memperkuat dugaan adanya pengaruh sediaan yang diberikan terhadap kadar glukosa.

Pada penelitian ini juga diamati bobot organ kelenjar adrenal dan limpa. Bobot kelenjar adrenal pada kelompok hewan yang diinduksi stres membesar dan bobot limpa mengecil dibandingkan kelompok normal (non stres). Namun, bobot kelenjar adrenal dan limpa ini tidaklah berbeda bermakna. Kelenjar adrenal membesar karena kondisi stres akan meningkatkan respon simpatik terhadap tubuh sehingga kelenjar adrenal menjadi hiperaktif. Stres akan menyebabkan limpa berkontraksi dan mengeluarkan darah yang tersimpan di dalamnya. Hal ini bertujuan untuk mengantisipasi terjadinya perdarahan pada tubuh.

Sebagai rekomendasi diperlukan penelitian lanjutan berupa pengujian toksisitas subkronis dan kronis untuk mengetahui tingkat keamanan penggunaan minyak biji pala.

### Kesimpulan

Minyak pala (konsentrasi 0,03% dengan pembawa minyak kelapa) pada dosis 16,90 µL/kg bobot badan dan kelompok aromaterapi secara inhalasi selama dua jam dengan konsentrasi 0,40 g/mL dalam minyak kelapa mampu memperpanjang durasi tidur tiopental secara bermakna ( $p<0,05$ ). Pemberian aromaterapi secara inhalasi dengan konsentrasi 0,40 g/mL dalam minyak kelapa dapat memberikan ketenangan kepada hewan uji dibandingkan dengan kelompok kontrol secara bermakna ( $p<0,05$ ). Pemberian minyak pala dan aromaterapi secara inhalasi dapat menjaga stabilitas kadar gula darah.

### Daftar Pustaka

Bretnitz S, Goldberg L, 1982, Handbook of Stress Theoretical and Clinical Aspects, The Free Press, New York, 7-38, 107-112, 739-740.

Brotto MAP, 2003, Temporal Effect of Stress by Immobilization and Sensitivity of the Isolated Rat Pacemaker to Isoproterenol: Roles of Corticosterone, Neuronal Uptake, and  $\beta$ -Adrenergic Homogeneity, JPET, 306(3), 1152-1158.

Carlson NR, 1999, Foundations of Physiological Psychology, 4th ed., Allyn and Bacon, Boston, 473.

Kelompok Kerja Ilmiah Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedika, 1993, Pedoman Pengujian dan Pengembangan Fitofarmaka Penapisan Farmakologi, Pengujian Fitokimia dan Pengujian Klinik, Kelompok Kerja Ilmiah Yayasan Pengembangan Obat Bahan Alam Phytomedika, Jakarta, 57-60.

Tortora GJ, Anagnostakos NP, 1990, Principles of Anatomy and Physiology, 6th ed., Harper and Row Publ., New York, 533-537.

Winarto WP, Tim Karya Sari, 2004, Memanfaatkan Bumbu Dapur Untuk Mengatasi Aneka Penyakit, Agromedia Pustaka, Tangerang, 49.